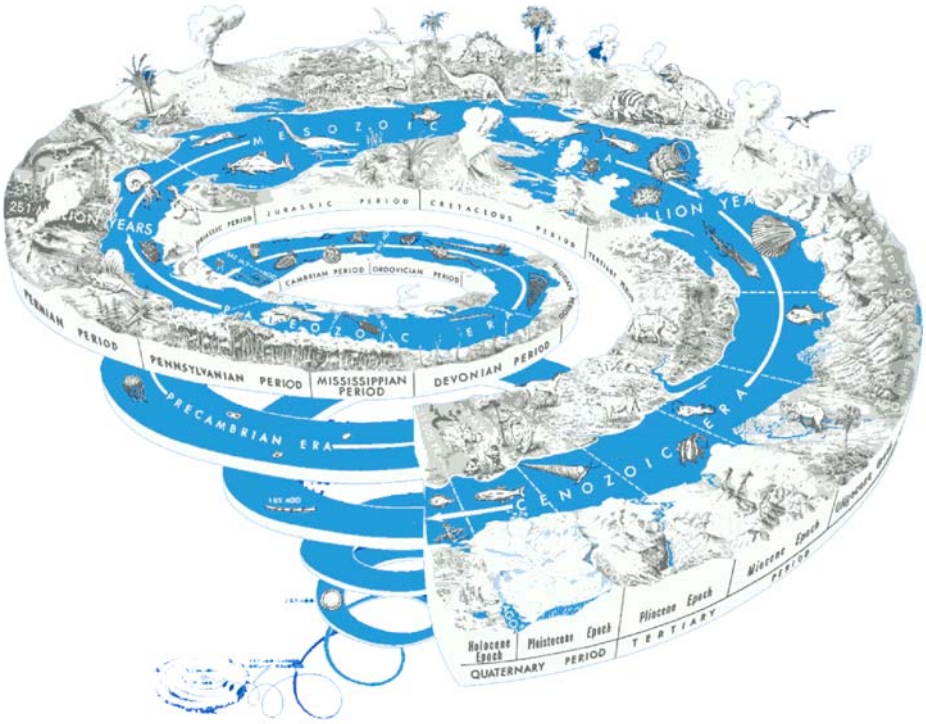
ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

ВІСНИК

Дніпропетровського університету. Біологія, екологія

Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology



2016. 24(2)

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія

Журнал публікує рецензовані наукові статті та огляди з різноманітних питань біології та екології від організмового до екосистемного рівня, у тому числі з динаміки популяцій і розповсюдження видів, еволюційної екології, екологічної генетики, моделювання, біології, охорони природи та збереження біорізноманіття, дослідження агроекосистем і управління біоресурсами. Ми також публікуємо статті щодо інших галузей біології, таких як молекулярна екологія та еволюція, науки про довкілля, філогенетика та інші.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Голова редакційної колегії:

Проф. О.Є. Пахомов, кафедра зоології та екології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна.

Заступники голови редакційної колегії:

Проф. С.П. Вассер, Університет Хайфи, Інститут еволюції, Міжнародний центр біотехнології та біорізноманіття грибів, Ізраїль;

Проф. Дж. Федак, Східний центр досліджень зернових і олійних культур, Аграрне та аграрно-харчове управління Канади (AAFC), Канада;

Проф. П.Б. Чауньу, Джексонський державний університет, Коледж науки, інженерії та технології, Центр санітарного стану навколишнього середовища, США.

Члени редакційної колегії:

Проф. Ш. Балажи, Коледж ім. Дьордья Бешенеї, Угорщина;

Проф. В. Барабаш, кафедра мікробіології, Аграрний університет Кракова, Польща;

Д-р З. Бедьо, Науково-дослідний інститут сільського господарства Угорської академії наук, Угорщина;

Доц. В.В. Бригадиренко (секретар редакційної колегії), кафедра зоології та екології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. А.І. Вінніков, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. І. Волоцук, факультет екології та наук про довкілля, Технічний університет у Зволені, Словацька Республіка;

Доц. В.Я. Гассо, кафедра зоології та екології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. Ш. Демберел, *академік Монгольської академії наук*, Інститут ветеринарних наук, Монгольський державний університет сільського господарства, Монголія;

Проф. В.М. Зверковський, кафедра геоботаніки, ґрунтознавства та екології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Д-р С. Козицька, Інститут молекулярної інфектології, Вюрцбурзький університет Юліуса Максиміліана, Німеччина;

Проф. О.А. Лихолат, кафедра товарознавства та митної експертизи, Університет митної справи та фінансів, Україна;

Проф. Ю.В. Лихолат, кафедра фізіології та інтродукції рослин, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. Л.П. Мицик, кафедра геоботаніки, ґрунтознавства та екології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. В.С. Недзвецький, кафедра біофізики та біохімії, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. С.Г. Піржиновський, кафедра біології, Університет Лунда, Швеція;

Проф. Т.М. Сатарова, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. О.В. Севериновська, кафедра фізіології людини та тварин, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. В.П. Семенченко, член-кор. НАН Білорусі, лабораторія гідробіології, ГНПО «НПЦ НАН Білорусі з біоресурсів», Республіка Білорусь;

Проф. А.П. Травлєєв, *член-кор. НАН України,* кафедра геоботаніки, ґрунтознавства та екології, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. Г.О. Ушакова, кафедра біофізики та біохімії, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. О.В. Федоненко, кафедра загальної біології та водних біоресурсів, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

Проф. Т.М. Шевченко, кафедра клінічної та лабораторної діагностики, Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна.

Інформація про публікацію: *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія* (ISSN 2310-0842 (print), ISSN 2312-301X (online)). Ви можете дізнатися вартість передплати на журнал, звернувшись до секретаря редакційної колегії *В.В. Бригадиренка* за адресою brigad@ua.fm та ознайомитись з інформацією на сайті www.ecology.dp.ua. Запрошуємо до співробітництва.

Друкується за рішенням вченої ради Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара згідно з планом видань на 2016 рік

Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology

Aims and scope. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology* publishes refereed original research articles and reviews on various aspects of biology and ecology, from the individual to the ecosystem level, including population dynamics and distribution, evolutionary ecology, ecological genetics, theoretical models, conservation biology and biodiversity, agroecosystem studies, and bioresources management. We also publish in other areas of biology, such as molecular ecology and evolution, environmental science, phylogenetics, etc.

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

Prof. O.Y. Pakhomov, *DSc,* Department of Zoology and Ecology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine.

Deputy Editors:

Prof., Dr. G. Fedak, Eastern Cereal and Oilseed Research Centre (ECORC), Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), Canada;

Prof. P.B. Tchounwou, *Sc.D.,* NIH-RCMI Center for Environmental Health, College of Science, Engineering and Technology, Jackson State University, Jackson, USA;

Prof. S.P. Wasser, *Dr.*, International Centre for Biotechnology and Biodiversity of Fungi, Institute of Evolution, University of Haifa, Haifa, Israel.

Editorial Board:

Prof. S. Balázsy, Bessenyei György College, Hungary;

Prof. Dr hab., W. Barabasz, Department of Microbiology, Agricultural University of Krakow, Poland;

Z. Bedő, *D.Sc.,* Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Hungary;

As.Prof. V.V. Brygadyrenko, Ph.D. (Secretary), Department of Zoology and Ecology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. S. Demberel, *DSc, Academician of the Mongolian Academy of Science,* Institute of Veterinary Science, Mongolian State University of Agriculture, Mongolia;

Prof. O.V. Fedonenko, DSc, Department of General Biology and Aquatic Bioresources, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

As.Prof. V.Y. Gasso, Ph.D., Department of Zoology and Ecology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Dr. S. Kozytska, Institute for Molecular Infection Biology, Julius Maximilian University of Würzburg, Germany;

Prof. O.A. Lykholat, DSc, Department of Commodity Research and Customs Expertise, University of Customs and Finance, Ukraine;

Prof. Y.V. Lykholat, DSc, Department of Physiology and Introduction of Plants, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. L.P. Mytsyk, DSc, Department of Geobotany, Soil Science and Ecology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. V.S. Nedzvetsky, DSc, Department of Biophysics and Biochemistry, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof., Dr. S.G. Pierzynowski, Department of Biology, Lund University, Lund, Sweden;

Prof. T.M. Satarova, *DSc,* Department of Microbiology, Virology and Biotechnology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. V.P. Semenchenko, DSc, Laboratory of Hydrobiology, SSIU "SIC NAS Belarus on Bioresources", Republic of Belarus;

Prof. O.V. Severynovska, *DSc,* Department of Human and Animals Physiology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. T.M. Shevchenko, *DSc,* Department of Clinical and Laboratory Diagnostics, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. A.P. Travleev, *DSc,* Academician of the NAS of Ukraine, Department of Geobotany, Soil Science and Ecology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. G.O. Ushakova, DSc, Department of Biophysics and Biochemistry, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof., A.I. Vinnikov, *DSc,* Department of Microbiology, Virology and Biotechnology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;

Prof. I. Vološčuk, *DSc,* Faculty of Ecology and Environmental Sciences, Technical University in Zvolen, Slovak Republic;

Prof. V.M. Zverkovsky, *DSc,* Department of Geobotany, Soil Science and Ecology, Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine.

Publication information: *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology* (ISSN 2310-0842 (print), ISSN 2312-301X (online)). Subscription prices are available upon request from the Publisher or from the journal's website (www.ecology.dp.ua). Subscriptions are accepted on a prepaid basis only and are entered on a calendar year basis. Issues are sent by standard mail (surface within Europe, air delivery outside Europe). Priority rates are available upon request. Claims for missing issues should be made within six months of the date of dispatch.

Approved by the Scientific Council of Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 253–257.

doi:10.15421/011631

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 581.143.6:633.15

Регуляція морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи групи Ланкастер

К.В. Деркач, О.Є. Абраїмова, Т.М. Сатарова

Інститут зернових культур НААН України, Дніпропетровськ, Україна

Охарактеризовано морфогенез *in vitro* на середовищі для регенерації у ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер порівняно з іншими гетерозисними групами – PLS61, A188 та Chi31 на базі 30-добової калусної тканини, отриманої з незрілих зародків, на фоні 30 г/л сахарози середовища для калусогенезу. Морфогенез *in vitro* у кукурудзи, який зумовлює отримання повноцінних фертильних рослин, відбувається двома шляхами: органогенезом і соматичним ембріогенезом (ембріоїдогенезом). Установлено генотиптипічний контроль за типом морфогенезу *in vitro*. Оцінено вплив фізіологічно активних речовин (6-бензиламінопурину, індолілмасляної кислоти та цефотаксиму) на співвідношення типів морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи групи Ланкастер і неланкастерівських гетерозисних груп. Переважаючий тип морфогенезу *in vitro* – органогенез для всіх досліджених гетерозисних груп. Індолілмасляна кислота сприяє інтенсифікації процесу ембріоїдогенезу у разі застосування її як компонента регенераційного середовища як у ланкастерівських, так і неланкастерівських ліній. Відмічено значне переважання частоти регенерації у ліній PLS61, A188 та Chi31 над аналогічним показником для ліній групи Ланкастер.

Ключові слова: *Zea mays*; 6-бензиламінопурин; індолілмасляна кислота; цефотаксим; калусогенез; регенерація

Regulation of *in vitro* morphogenesis in maize inbreds of the Lancaster group

K.V. Derkach, O.E. Abraimova, T.M. Satarova

Institute of Grain Crops of National Academy of Agrarian Science of Ukraine, Dnipropetrovsk, Ukraine

The aim of this work is the comparative evaluation of the influence of physiologically active substances (PAS) on the ratio of morphogenesis types *in vitro* and plant regeneration in callus tissues of maize inbreds of the Lancaster heterotic group. Lancaster inbreds of Ukrainian selection DK267, DK6080 and DK298 and lines PLS61, A188 and Chi31 of foreign selection which represented eponymous heterotic groups were selected for into the research. For callusogenesis induction immature embryos of 1.0–1.5 mm in length were planted on a modified N6 medium with 30 g/l sucrose. For regeneration the 30-day callus tissue was transplanted to a modified MS medium containing 20 g/l sucrose and various PAS: 6-benzylaminopurine (BAP) (0.1 mg/l) or indolylbutyric acid (IBA) (1.0 mg/l), or cefotaxime (CT) (150 mg/l). Morphogenesis and plant regeneration were obtained in callus tissue by organogenesis through the formation of leaf-like structures or shoots only without roots (hemmogenesis) and by embryogenesis through the development of embryos with the cooperative laying of the apexes of the shoot and the root. The predominant type of *in vitro* morphogenesis in both groups of genotypes was organogenesis. A tendency to increasing the embryogenesis level among Lancaster inbreds in comparison with the other investigated groups was observed. A certain tendency to increase the level of embryogenesis on a medium for regeneration with IBA, compared to other PAS, was marked. So, for the Lancaster group the embryogenesis level on the medium with IBA was 33.3%, while for the other investigated genotypes it was about 10.3%. Regeneration frequency was 45.8 plantlets/100 calli for Lancaster inbred DK298, 42.2 plantlets/100 calli for DK267 and 5.6 plantlets/100 calli for DK6080. Regeneration frequency of inbred PLS61 was 204.0 plantlets/100 calli, 100.0 plantlets/100 calli for Chi31 and 11.1 plantlets/100 calli for A188. Observed reductions in capacity for plant regeneration of Lancaster inbreds may have been due to their pedigree. These inbreds belong to the commercial heterotic group that was not specially selected for increased regenerative ability, unlike the model inbreds of other heterotic groups. Overall, the level of regeneration frequency in the Lancaster group was 44.8 plantlets/100 calli on the medium under BAP, 41.4 plantlets/100 calli under IBA, and 20.7 plantlets/100 calli with CT. In general, the level of regeneration frequency for non-Lancaster heterotic groups reached 89.7 plantlets/100 calli on the medium with BAP,

Інститут зернових культур НААН України, вул. В. Вернадського, 14, Дніпропетровськ, 49067, Україна
Institute of Grain Crops of NAAS of Ukraine, V.Vernadskogo Str., 14, Dnipropetrovsk, 49067, Ukraine
Tel.: +38-0562-36-26-18. E-mail: satarova2008@yandex.ua, katerina-d-d@yandex.ua

96.7 plantlets/100 calli under IBA, and 93.1 plantlets/100 calli under CT. To enhance embryogenesis and frequency of regeneration for maize inbreds of the Lancaster group 30 g/l sucrose in the callusogenesis medium and physiologically active substance indolylbutyric acid (1.0 mg/l) in the medium for regeneration can be recommended.

Keywords: *Zea mays*; 6-benzilaminopurine; indolylbutyric acid; cefotaxim; callusogenesis; regeneration

Вступ

Кукурудза – поширений об'єкт у біотехнологічних дослідженнях, включаючи роботи з клітинної селекції та генетичної інженерії *in vitro*, які ведуться на базі калусної тканини. Проте використання калусної тканини для цих актуальних робіт повинно закінчуватися отриманням фертильних рослин-регенерантів, здатних рости та розвиватися *in vivo*. Разом із тим, розвиток рослин-регенерантів залежить від типу морфогенезу, за яким відбувається їх формування в культурі калусної тканини. Морфогенез із подальшою регенерацією рослин *in vitro*, за класифікацією Т.Б. Батигіної (Batygina et al., 2010), може здійснюватися як шляхом органогенезу, тобто несполученого розвитку стеблової меристеми (гемогенезу) та кореневої системи (ризогенезу), так і шляхом соматичного ембріогенезу (ембріоїдогенезу), тобто розвитку асексуальної біполярної структури, яка за будовою відповідає зиготичному зародку та має точки росту стебла та кореня, а також сім'ядолі. Відомі різні стадії соматичного ембріогенезу, зокрема стадії кулясто-подібного зародка, грушоподібного зародка, щиткоподібного ембріона та зрілого ембріона (Liu et al., 2015).

Саме соматичний ембріогенез здатен забезпечити розвиток рослин-регенерантів одночасно з пагоном і кореневою системою (González et al., 2012), що є актуальним у біотехнологічних дослідженнях з отримання сомаклональних варіантів (Qamar et al., 2015) і в генетичній трансформації кукурудзи (Assem, 2015). Для активізації процесу ембріоїдогенезу потребують оптимізації умови культивування як за ініціації калусогенезу, так і на етапі регенерації рослин. Регенераційна здатність залежить від генотипу (Bedada et al., 2012; Ali et al., 2014). Разом із тим, у праці (Akoyi et al., 2013) для тропічних інбредних ліній кукурудзи показана незалежність від генотипу при формуванні соматичних зародків на середовищі MS (Murashige and Skoog, 1962) з дикамбою. Певний вплив фітогормонів (6-бензиламінопурину (БАП) у поєднанні з індолілоцтовою кислотою (ІМК)) на регенераційну здатність калусів кукурудзи з незрілих зародків відмічено Shohael et al. (2003). Використання цитокінінів, зокрема БАП у поєднанні з кінетином, забезпечувало успішну регенерацію пагонів шляхом органогенезу з калусів, отриманих як із незрілих, так і зрілих зародків кукурудзи (Ali et al., 2014; Guruprasad et al., 2015; Guruprasad et al., 2016), хоча і БАП окремо також підвищував регенераційну здатність (Guruprasad, 2015). Додавання БАП у різних концентраціях до регенераційного середовища мало незначний вплив на формування рослинок шляхом соматичного ембріогенезу у кенійських генотипів кукурудзи (Oduor et al., 2006). Безгормональне регенераційне середовище провокувало розвиток рослинок шляхом ембріоїдогенезу у тропічних ліній кукурудзи (Bedada et al., 2012). Високий вміст БАП (1,5 мг/л) у поєднанні з низьким рівнем нафтилоцтової кислоти (0,2 мг/л) у середовищі з мінеральною основою MS і 1,0 мг/л кінетину, сприяв високому рівню регенерації з ембріоїдів у індійських генотипів кукурудзи (Malini et al., 2015). Ці відомості свідчать про актуальність установлення необхідного рівня фітогормонального впливу для отримання регенерантів за рахунок певного типу морфогенезу для конкретних груп перспективних господарськоцінних генотипів кукурудзи.

У сучасній селекційній практиці кукурудзи задіяні такі гетерозисні групи як Ланкастер, Айодент, Рейд, BSSS тощо (Bennetzen and Hake, 2009), біотехнологічні властивості яких мало досліджені. Зокрема, група Ланкастер через ранньостиглість, високу комбінаційну здатність, посухостійкість і значну врожайність – одна з найперспективніших для вирощування в Україні (Satarova et al., 2013), хоча її здатність морфогенезу та регенерації *in vitro* недостатньо вивчені.

Мета цієї статті – оцінити вплив фізіологічно активних речовин середовища для регенерації на співвідношення типів морфогенезу *in vitro* та регенерацію рослин у культурі калусної тканини ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер порівняно з лініями-представниками інших гетерозисних груп.

Матеріал і методи досліджень

Гетерозисна група Ланкастер кукурудзи (*Zea mays* L.) представлена в нашому дослідженні лініями української селекції ДК267, ДК6080 та ДК298. Для порівняння досліджували модельні лінії кукурудзи зарубіжної селекції PLS61, A188 та Chi31, які представляють однойменні гетерозисні групи. Для індукції калусогенезу використовували 10–12-добові незрілі зародки довжиною 1,0–1,5 мм, ізольовані з 3–5 польових донорних рослин відповідного генотипу. Як середовище для індукції калусогенезу застосовували модифіковане середовище N6 (Derkach et al., 2011), яке містило макро-, мікроелементи та вітаміни за N6 (Chu et al., 1975), 690 мг/л L-проліну, 100 мг/л гідролізату казеїну, 100 мг/л мезоінозиту, 10 мг/л нітрату срібла, 30 г/л сахарози та 8 г/л агар-агару. Отриману 30-добову калусну тканину висаджували на середовище для регенерації. Для індукції регенерації використовували модифіковане середовище з макро-, мікроелементами та вітамінами MS (Murashige and Skoog, 1962) з додаванням 690 мг/л L-проліну, 100 мг/л гідролізату казеїну, 100 мг/л мезоінозиту, 20 г/л сахарози, 7 г/л агар-агару, а також фізіологічно активних речовин: 6-бензиламінопурину у концентрації 0,1 мг/л або індолілмасляної кислоти у концентрації 1,0 мг/л, або цефотаксиму в концентрації 150 мг/л. Для останнього компонента відомий стимулювальний вплив на ініціацію ембріоїдогенезу для деяких генотипів кукурудзи (Danilova and Dolgikh, 2004). Культивували за +26 °C, для зародків і калусів у темряві, а для рослин-регенерантів – за 16-годинного фотоперіоду.

Частоту органогенезу (%) та частоту ембріоїдогенезу (%) визначали як процентне відношення кількості рос-

лин-регенерантів, отриманих із калусної тканини за тим чи іншим типом морфогенезу, до загальної кількості отриманих рослин-регенерантів. Частоту регенерації рослин (рослин/100 калусів) визначали як кількість отриманих рослин-регенерантів на 100 культивованих калусів. Визначення частоти певного типу морфогенезу та частоти регенерації проводили у період від трансплантації калусної тканини на середовище для регенерації до 180-ї доби культивування. Статистичну обробку проводили згідно з Welham et al. (2015). Статистично оброблені дані в таблицях представлені у вигляді $x \pm 1{,}96 \cdot SD$.

Результати та їх обговорення

В усіх досліджених ліній із частотою 98–99% на середовищі для індукції калусогенезу на щитках незрілих зародків отримано морфогенну калусну тканину типу I за класифікацією (Green and Phillips, 1975), яка культивувалася 30 діб. Морфогенез і регенерація рослин в отриманій калусній тканині відбувалися як шляхом органогенезу з утворенням листкоподібних структур або рослинок у вигляді лише пагонів (гемогенез) і не сполучених із ними коренів (ризогенез), так і шляхом розвитку ембріоїдів зі сполученим закладанням апексів пагона та корінця.

Морфогенез і регенерація в калусній тканині у більшості досліджених ліній кукурудзи групи Ланкастер починалися вже в перші 30 діб культивування на регенераційних середовищах, а максимальна кількість регенерантів утворювалася переважно з 31-ї по 60-ту добу. Регенерація калусної тканини високочутливих до культури *in vitro* ліній PLS61, A188 та Chi31 починалася пізніше, після 30 діб культивування на регенераційних середовищах.

У лінії ДК267 найбільша частота ембріоїдогенезу спостерігалася на середовищі із ЦТ, а у лінії ДК298 – на середовищі з БАП, хоча в цілому у цих ліній переважав органогенез (84,2% та 72,7%, відповідно) (табл. 1). Лінія ДК6080 сформувала лише одну рослину-регенерант шляхом ембріоїдогенезу на середовищі з ІМК. У цілому по групі Ланкастер спостерігалася тенденція зростання рівня ембріоїдогенезу на середовищі для регенерації з ІМК – 33,3% проти 15,4% та 16,7% на середовищах із БАП та ЦТ, відповідно. Найбільшою частотою регенерації серед ліній цієї групи володіла ДК298 (45,8 рослин/100 калусів), найменшою – ДК6080 (5,6 рослин/100 калусів). Лінія ДК267 мала значення цього показника на рівні 42,2 рослин/100 калусів. У цілому по групі Ланкастер рівень частоти регенерації склав на середовищі для регенерації з БАП – 44,8 рослин/100 калусів, на середовищі з ІМК – 41,4, а на середовищі з ЦТ – 20,7 рослин/100 калусів.

Таблиця 1

Співвідношення типів морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер

Лінія	Фітогормони середовища для регенерації	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Кількість отриманих рослин-регенерантів, шт.	Тип морфогенезу, %		Частота регенерації, рослин/100 калусів
				органогенез	ембріоїдогенез	
ДК267	БАП*	15	8	100,0	0	53,3
	ІМК**	15	8	75,5	25,0	53,3
	ЦТ***	15	3	66,7	33,3	20,0
	Середнє			84,2	15,8	42,2
ДК6080	БАП*	6	0	0	0	0
	ІМК**	6	1	0	100,0	16,7
	ЦТ***	6	0	0	0	0
	Середнє			0	100,0	5,6
ДК298	БАП*	8	5	60,0	40,0	62,5
	ІМК**	8	3	66,7	33,3	37,5
	ЦТ***	8	3	100,0	0	37,5
	Середнє			72,7	27,3	45,8
За трьома лініями						
БАП*		29	13	84,6	15,4	44,8
ІМК**		29	12	66,7	33,3	41,4
ЦТ***		29	6	83,3	16,7	20,7
Середнє		87	31	77,4 ± 15,7	26,6 ± 15,7	35,6 ± 10,3

Примітки: * – БАП – 6-бензиламінопурин, 0,1 мг/л; ** – ІМК – індолілмасляна кислота, 1 мг/л; *** – ЦТ – цефотаксим, 150 мг/л.

У ліній PLS61 та A188 морфогенез шляхом ембріоїдогенезу спостерігався лише за використання БАП у середовищі для регенерації та становив 11,8% та 33,3%, відповідно (табл. 2). У лінії Chi31 найвищий рівень ембріоїдогенезу відмічено на середовищі для регенерації з ЦТ. У цілому по групі наявна тенденція до зростання рівня ембріоїдогенезу на середовищі для регенерації з ІМК – 10,3% проти 5,4% та 7,4% на середовищах із БАП та ЦТ, відповідно. Найбільшою частотою регенерації володіла лінія PLS61 (204,0 рослин/100 калусів), найменшою – A188 (11,1 рослин/100 калусів). Лінія Chi31 мала значення цього показника на рівні 100,0 рослин/100 калусів. У цілому в неланкастеровських гетерозисних груп рівень частоти регенерації на середовищі для регенерації з БАП склав 89,7 рослин/100 калусів, на середовищі з ІМК – 96,7, а на середовищі з ЦТ – 93,1 рослин/100 калусів.

Порівняння даних таблиць 1 та 2 вказує на те, що як у ліній групи Ланкастер, так і у ліній неланкастерівських груп переважаючим типом морфогенезу *in vitro* за застосування 30 г/л сахарози у середовищі для калусогенезу та БАП, ІМК та ЦТ у середовищі для регенерації є орга-

ногенез. Рівень ембріоїдогенезу для ліній гетерозисної групи Ланкастер залежно від ФАР середовища для регенерації складає 15,4–33,3%, а для неланкастерівських гетерозисних груп – 5,4–10,3%, тобто спостерігається тенденція до певного зростання рівня ембріоїдогенезу у ліній групи Ланкастер. Натомість частота регенерації для неланкастерівських гетерозисних груп переважає аналогічний показник ліній групи Ланкастер – 89,7–96,7 рослин/100 калусів залежно від ФАР середовища для регенерації проти 20,7–44,8 рослин/100 калусів у ліній групи Ланкастер.

Знижена здатність до утворення рослинок-регенерантів калусною тканиною ліній групи Ланкастер пояснюється тим, що ці лінії належать до комерційної гетерозисної групи, яка не проходила спеціальний відбір на підвищену регенераційну здатність, як то використані модельні лінії інших гетерозисних груп. У праці Guruprasad et al. (2016) у генотипу кукурудзи MU2092 відмічено 4,2 пагона/калус, тобто 420 рослин/100 калусів як максимальну кількість утворення пагонів за використання 0,5 мг/л БАП у поєднанні з 0,5 мг/л кінетину, що набагато вище, ніж у нашому дослідженні з лініями кукурудзи. У праці Muoma et al. (2011) отримано 55 рослин/100 калусів та 76 рослин/100 калусів для тропічних ліній кукурудзи та 58–99 рослин/100 калусів для їх гібридних комбінацій, що відповідає отриманим нами даним. Для танзанійських вільнозапилюваних сортів кукурудзи відмічена частоту регенерації на рівні 5,4–30,8 рослин/100 калусів залежно від компонентів середовища для регенерації (Seth et al., 2012), що менше, ніж у нашому дослідженні.

Таблиця 2

Співвідношення типів морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи гетерозисних груп PLS61, A188 та Chi31

Лінія	Фітогормони середовища для регенерації	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Кількість отриманих рослин-регенерантів, шт.	Тип морфогенезу, %		Частота регенерації, рослин/100 калусів
				органогенез	ембріоїдогенез	
PLS61	БАП	8	17	88,2	11,8	212,5
	ІМК	9	15	100,0	0	166,7
	ЦТ	8	19	100,0	0	237,5
	середнє			96,1	3,9	204,0
A188	БАП	12	3	66,7	33,3	25,0
	ІМК	12	0	0	0	0
	ЦТ	12	1	100,0	0	8,3
	середнє			75,0	25,0	11,1
Chi31	БАП	9	6	83,3	16,7	66,7
	ІМК	9	14	78,6	21,4	155,6
	ЦТ	9	7	71,4	28,6	77,8
	середнє			77,8	22,2	100,0
за трьома лініями						
БАП		29	26	84,6	5,4	89,7
ІМК		30	29	89,7	10,3	96,7
ЦТ		29	27	92,6	7,4	93,1
Середнє		88	82	89,0 ± 6,9	11,0 ± 6,9	93,2 ± 5,4

Примітка: див. табл. 1.

Відомий стимулювальний вплив ЦТ на регенерацію *in vitro*, що пов'язано або з його дією як антибіотика, або з розкладанням його у живильному середовищі до сполук, які володіють фітогормональною активністю (Danilova and Dolgykh, 2004). Для ліній A188 та R91 та їх гібриду відмічено зростання частоти регенерації до 240, 540 та 340 рослин/100 калусів, відповідно, порівняно з контролем, де отримано відповідно для тих самих ліній 120, 30 та 130 рослин/100 калусів. У нашому дослідженні стимулювального ефекту ЦТ як на частоту регенерації, так і для зростання рівня ембріоїдогенезу не виявлено. Відомо (Jia et al., 2008), що БАП саме у концентрації 0,1 мг/л на регенераційному середовищі з 0,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти забезпечував значно вищий, ніж без БАП рівень утворення як окремих пагонів (органогенез), так і рослинок (ембріоїдогенез). У нашому ж дослідженні дія БАП у концентрації 0,1 мг/л перебувала у межах довірчого інтервалу, порівняно з іншими ФАР. ІМК часто використовується для укорінення рослинок (Ombori, 2008; Guruprasad, 2016), проте у нашому дослідженні саме за використання цієї ФАР відмічено тенденцію до зростання рівня соматичного ембріогенезу. Таким чином, різні генотипи кукурудзи по-різному реагують на присутність у живильному середовищі для регенерації тієї чи іншої ФАР, зокрема проявом різної частоти регенерації та переважаючим типом морфогенезу *in vitro*.

Висновки

Установлено генотипічний контроль за типом морфогенезу *in vitro*. Морфогенез ліній кукурудзи групи Ланкастер та інших гетерозисних груп має певні відмінності, хоча в обох порівнюваних групах переважає органогенез. У ліній групи Ланкастер спостерігається тенденція до зростання рівня ембріоїдогенезу порівняно з лініями неланкастерівських гетерозисних груп. В обох порівнюваних групах ліній відмічено тенденцію до зростання рівня ембріоїдогенезу на середовищі для регенерації з індолілмасляною кислотою (1 мг/л).

Для посилення процесів ембріоїдогенезу у ліній кукурудзи групи Ланкастер на фоні 30 г/л сахарози у середовищі для калусогенезу як фізіологічно-активну речовину в середовищі для регенерації рекомендовано використовувати індолілмасляну кислоту в концентрації 1 мг/л.

Бібліографічні посилання

Akoyi, J., Mgutu, A.J., Machuka, J., van Lijsebettens, M., Taracha, C., Anami, S.E., 2013. Dicamba growth regulator promotes genotype independent somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of tropical maize inbred lines. J. Life Sci. 7(7), 677–689.

Ali, F., Ahsan, M., Saeed, N.A., Ahmed, M., Ali, Q., Kanwal, N., Tehseen, M.M., Ijaz, U., Bibi, I., Niazi, N.K., 2014. Establishment and optimization of callus-to-plant regeneration system using mature and immature embryos of maize (*Zea mays*). Int. J. Agric. Biol. 16, 111–117.

Assem, S.K., 2015. Maize, tropical (*Zea mays* L.). Methods Mol. Biol. 1223, 119–134.

Batygina, T.B., Kruglova, N.N., Gorbunova, V.Y.,Titova, G.Y., Seldimirova, O.A., 2010. Ot mikroskopa k raznoobraziju [From microspore to variety]. Nauka, Moskow (in Russian).

Bedada, L.T., Seth, M., Runo, S.M., Tefera, W., Jesse, M., 2012. Regenerability of elite tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines using immature zygotic embryo explants. Afr. J. Biotechnol. 11(8), 598–605.

Bennetzen, J.L., Hake, E.S.A., 2009. Handbook of maize. Genetics and Genomics. Springer Science, New York.

Chu, C.C., Wang, J.J., Sun, J.S., 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments of the nitrogen sources. Sci. Sinica 18(5), 659–668.

Danilova, S.A., Dolgikh, Y.I., 2004. The stimulatory effect of the antibiotic cefotaxime on plant regeneration in maize tissue culture. Russ. J. Plant Physl. 51(4), 559–562.

Derkach, K.V., Abraimova, O.E., Satarova, T.M., 2011. Kalusogennyj potencial linij kukurudzy grupy Lankaster v umovah in vitro [Callusogenic potential of maize lines of Lancaster group *in vitro*]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 19(1), 16–21 (in Ukrainian).

González, G.A., Pacheco, M.G., Oneto, C.D., Etchart, V.J., Kandus, M.V., Salerno, J.C., Eyherabide, G., Presello, D., Lewi, D.M., 2012. Somatic embryogenesis and plant regeneration capacity in Argentinean maize (*Zea mays* L.) inbred lines. Electron J. biotechn. 15(1), 1–7.

Green, C.E., Phillips, H.L., 1975. Plant regeneration from tissue cultures of maize. Crop Sci. 15(5), 417–421.

Guruprasad, M., Sridevi, T.V., Udaya Sri, A.P.P., Kumar, M.S., 2015. Plant regeneration through callus initiation from mature and immature embryos of maize (*Zea mays* L.). Journal of Multidisciplinary Advanced Research Trends 2(1), 195–202.

Guruprasad, M., Sridevi, T., Vijayakumar, G., Kumar, M.S., 2016. Plant regeneration through callus initiation from mature and immature embryos of maize (*Zea mays* L.). Indian J. Agr. Res. 50(2), 135–138.

Jia, X.X., Zhang, J.W., Wang, H.N., Kong, W.P., 2008. Efficient maize (*Zea mays* L.) regeneration derived from mature embryos *in vitro*. Maydica 53, 239–248.

Liu, B., Su, S., Wu, Y., Li, Y., Shan, X., Li, S., Liu, H., Dong, H., Ding, M., Han, J., Yuan, Y., 2015. Histological and transcript analyses of intact somatic embryos in an elite maize (*Zea mays* L.) inbred line Y423. Plant Physiol. Biochem. 92, 81–91.

Malini, N., Anandakumar, C.R., Hari Ramakrishnan, S., 2015. Regeneration of Indian maize genotypes (*Zea mays* L.) from immature embryo culture through callus induction. Journal of Applied and Natural Science 7(1), 131–137.

Muoma, J., Ombori, O., Machuka, J., 2011. Improvement in inheritance of somatic embryogenesis and plantlet regeneration in tropical maize lines from friable callus. Maize Genet. Coop. News Lett. 85, 1–2.

Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15, 473–497.

Oduor, R.O., Njagi, E.N.M., Machuka, J.S., 2006. *In vitro* regeneration of dryland Kenyan maize genotypes through somatic embryogenesis. Int. J. Bot. 2(2), 146–151.

Ombori, O., Gitonga, N.M., Machuka, J., 2008. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines. Biotechnology 7, 224–232.

Qamar, Z., Aaliyah, K., Nasir, I.A., Farooq, A.M., Tabassum, B., Ali, Q., Ali, A., Awan, M.F., Tariq, M., Hasnain, T., 2015. An overview of genetic transformation of glyphosate resistant gene in *Zea mays*. Nature and Science 13(3), 80–90.

Satarova, T.M., Cherchel, V.Y., Cherenkov, A.V., 2013. Kukuruza: Biotehnologicheskie i selekcionnye aspekty gaploidii [Maize: Biotechnological and breeding aspects of haploidy]. New ideology, Dniepropetrovsk (in Russian).

Seth, M.S., Bedada, L.T., Mneney, E.E., Oduor, R.O., Machuka, J.S., 2012. *In vitro* regeneration of selected commercial Tanzanian open pollinated maize varieties. Afr. J. Biotechnol. 11(22), 6043–6049.

Shohael, A.M., Akanda, M.A.L., Parvez, S., Mahfuja, S., 2003. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryoderived callus of inbred mays (*Zea mays* L.). Biotechnology 2(2), 154–161.

Welham, S.J., Gezan, S.A., Clark, S.J., Mead, A., 2015. Statistical methods in biology: Design and analysis of experiments and regression. CRC Press, Boca Raton.

Надійшла до редколегії 12.06.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 258–263.

doi:10.15421/011632

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 575.21+575.224

Characteristics of action of nitrosoalkylureas on cell level in winter wheat

M.M. Nazarenko

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine

Here we report the cytogenetic characteristics of variability of mutation induction in new wheat varieties and some relationships between the means of the cytogenetic characteristics and different doses and types of mutagens. Analysis of chromosomal aberrations caused by mutagenic action of any kind of mutagen by the meto-anaphase method is one of the best known and most precise methods which we can use for determining the fact of mutagenic action on plants, and identifying the nature of the mutagenic factor. The strategy of investigation combined the identification of genotypes with a specific low-sensitivity to mutagenic factors using cytological analysis screening of mutagen treated wheat populations with the approach of comparing different varieties by breeding methods to reveal their connections and differences, specific sensitivity to mutagenic effects on the cell level. Dry seeds of 8 varieties of winter wheat were treated by nitrosomethilurea at concentrations 0.0125%, 0.0250%, and nitrosoethilurea 0.010%, 0.025%, which are normal levels for mutagenic selection of winter wheat mutation. The frequency and spectra of chromosomal aberrations were investigated. The overall correlations between the frequency of chromosomal aberrations and the value of a concentration were at the level 0.7–0.8. It was established that the fragments-bridges ratio is a reliable parameter for identifying the nature of mutagen. We identified genotypes and groups of genotypes which have a resistance to different types of mutagenic action. The resistance of a group is dependant on the breeding method of the variety initially obtained. It expressed as a decrease in the frequency of aberrations. Varieties obtained through chemical mutagenesis were less sensitive to the same chemical mutagens. Higher rates of chromosomal aberrations were typical for varieties obtained through field hybridization without any mutagen treatment or when the initial material was changed by low temperatures.

Keywords: chromosomal aberrations; mutagen; wheat; genotype

Особенности воздействия нитрозоалкилмочевин на клеточном уровне у озимой пшеницы

Н.Н. Назаренко

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, Днепропетровск, Украина

Представлены результаты исследования по цитогенетическим характеристикам индуцированной мутационной изменчивости новых сортов пшеницы и некоторых связей между значением цитогенетических параметров и различными дозами и типами мутагенов. Анализ хромосомных аберраций, возникших в результате мутагенного воздействия любой природы, с помощью мето-анафазного метода является одним из наиболее известных и точных методов, которые мы можем использовать для установления факта мутагенного воздействия на растение, идентификации мутагенного фактора. Комбинирование определения низкой чувствительности к мутагенному воздействию при использовании цитологического анализа для выявления мутагенного воздействия на обработанные сорта пшеницы со сравнением различных методов селекции сортов позволяет выявить их взаимосвязь и различия, специфику восприятия мутагенного действия на клеточном уровне. Сухие семена восьми сортов пшеницы озимой были обработаны нитрозометилмочевиной в концентрциях 0,0125%, 0,0250%, нитрозоэтилмочевиной – 0,010%, 0,025%. Данные концентрации являются обычными для мутационной селекции. Исследованы спектр и частота хромосомных аберраций. Общая корреляция между частотой хромосомных аберраций и концентрацией мутагена составляла 0,7–0,8. Соотношение между мостами и фрагментами является надежным параметром идентификации природы мутагена. Мы классифицировали различные генотипы и группы генотипов по устойчивости к различным типам мутагенного воздействия. Устойчивость непосредственно зависела от метода получения исходного сорта. Она проявлялась в снижении частоты аберраций. Сорта, полученные с помощью химического мутагенеза, были

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, ул. Ворошилова, 25, Днепропетровск, 49600, Украина
Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Voroshilov Str., 25, Dnipropetrovsk, 49600, Ukraine
Tel.: +7095-848-53-86. E-mail: nik_nazarenko@ukr.net

менее чувствительны к таким же мутагенам. Более высокие частоты хромосомных аберраций типичны для сортов, полученных методом полевой гибридизации без какого-либо мутагенного воздействия, или сортов, полученных при изменении исходного материала с помощью воздействия низких температур.

Ключевые слова: хромосомные аберрации; мутаген; пшеница; генотип

Introduction

Experimental mutagenesis studies the effects of any mutagen on living organisms. This includes radiation across the electromagnetic spectrum including X-rays, ultra-violet radiation, visible light, microwaves, radio waves, emissions due to radioactive decay, low-frequency radiation such as ultrasound, heat waves and related modalities, chemical and biological agents (Waugha, 2006). In radiobiology, most of the biological systems such as mammalian cells and bacteria generally are exposed to X-rays, γ-rays and electron beams for the investigation of the effects of radiation. High energy ion beams are utilized in some research (Lifang et al., 2001). In traditional radiobiology, most of the irradiated biological samples, such as cells or tissues, are in the atmosphere or even in the soil (Adlera et al., 2004).

Mutation has been described as a sudden change in the genetic material of living cells. However, at the beginning of mutation research, over 100 years ago, these sudden changes were observed and detected by the phenotypes they affected. The "sudden phenotypic changes" were heritable and therefore had a genetic base .Thus mutation detection and monitoring in research and plant breeding were based entirely on phenotyping. Later, from the mid-1950s onward, light microscopy provided a means of observing aberrations at the ploidy, karyotype and chromosome levels (Rank et al., 2002). Besides gene mutations, chromosomal aberrations in the form of deletions, inversions and translocations were produced (Shu et al., 2011). Translocations are most important for mutation breeding types of chromosome aberration, which may result from the rejoining of broken chromosomes. Irradiation tends to induce chromosome breaks, which can rejoin at random, resulting in translocations. These are likely to be deleterious. Ionizing radiation produces cytological aberrations and defects in chromosome segregation. Cytological aberrations observed in mitosis include the production of micro-nuclei and chromosomal abnormalities (Ukai, 2006; Shu et al., 2011).

Mutagenic effects of chemicals or ionizing radiation have been assessed by analysis of chromosomal aberrations (Rakhmatullina, 2007). Chromosomal abnormalities in irradiated mitotic cells range from breaks, through exchanges, laggards and anaphase bridges, dicentric and centric ring formations, terminal fragments with telomeric signal at only one end and interstitial fragments that appear as double minutes without any telomeric signals (Natarajan, 2005).

Mutated plants typically show reduced fertility, mainly caused by chromosomal rearrangements and genomic mutations during meiosis. For crops like wheat, individual tillers (side branches) originate from different cells of the embryo of the treated seeds. If an aberration occurs in one of these cells, it will be carried in the tiller developed from that cell (Hossain and Alam, 2001; Huaili et al., 2005; Shu et al., 2011).

Analysis of chromosomal aberrations after mutagenic action of any kind of mutagen by the meto-anaphase method is one of the most widespread and most precise methods which can be used for determining the fact of mutagenic action on plants, and identifying the nature of the mutagenic factor (Lifang et al., 2001; Adlera et al., 2004; Ukai, 2006). Usually, analysis is widely used for establishing the fact, level and danger of environmental pollution by radionuclides (Korogodina et al., 1998), (Geraskin et al., 2002) and for determining optimal doses of radiation and chemical agents in work on plant breeding (Ahloowalia et al., 2004; Nazarenko, 2015). In the past 80 years, physical mutagens, mostly ionizing radiations, have been used widely for inducing hereditary aberrations and more than 70% of mutant varieties were developed using physical mutagenesis. However, this compound exhibits high mutagenic, clastogenic and recombinational activity in plants, frequently stronger than that of the most powerful alkylating agents (Grant and Owens, 2001). A correlation between "clastogenic adaptation" expressed as a reduction of chromatid type aberrations, micro-nuclei and aneuploid cells, and "clastogenic adaptation" has been shown (Bignold, 2005). Thus, we have the following reasons for the study of changes in chromosomes after mutagenic treatment: the determination of the suitability of a mutagen-polluted area for agriculture, correlation between aberrations and visible mutations in successive generations (for mutation breeding purposes) and for identifying the fact of mutagenic action and its nature.

The advantages of the method are promptness, objectivity of the results, the reliability and the ability to assess the impact of an integrated wide variety of mutagens by nature (van Harten, 1998; Karthika and Subba, 2006; Albokari, 2014).

Here we report on cytogenetic characteristics of variability of mutation induction in new wheat varieties and some relationships between the means of the cytogenetic characteristics and different doses and types of mutagens.

Material and methods

The following winter wheat varieties were treated by mutagens (in brackets are the method of obtaining varieties or the mutagens used) Favoritka, Lasunya, Hurtovina (irradiation of initial material by gamma rays), line 418, Kolos Mironovschiny (field hybridization), Sonechko (chemical mutagenesis, nitrosodimethilurea (NDMU) 0.005%) and Kalinova (chemical mutagenesis, DAB 0.1%), Voloshkova (thermomutagenesis – low plus temperature under vernalizaion was used as mutagen factor) in dry seeds-form. We used chemical mutagens: nitrosomethilurea (NMU) 0.0125% and 0.0250%, nitrosoethilurea (NEU) – 0.010% and 0.025%. Exposure to chemical mutagens lasted 18 hours. These concentrations and exposure are optimal for the breeding process, as has been repeatedly established earlier (Shu et al., 2011).

Cytological analysis was carried out by the standard method at temporary press-time preparations of root tips stained with acetocarmine. Tissue maceration was carried out at 45% solution of acetic acid (Natarajan, 2005; Rank et al., 2002). The seeds used in this study were of the M_0 generation.

Mathematical processing of the results was performed by the method of analysis of variance, the variability of the mean

difference was evaluated by Student's t-test, the grouping by the nature of mutagens was performed by cluster analysis (Euclidian distance) (Klekka, 1989). We used the standard tools of the program Statistica 8.0 for cluster analysis (Multivariate Exploratory Techniques, cluster analysis, single linkage, Euclidian distance), factor analysis (Statistics, ANOVA module).

Results and discussion

The results of our investigation are represented in Table 1 (total number of observations of mitosis, number of division cells with chromosomal aberrations, general frequency of aberrations). Frequencies were changed from 4.44% (Sonechko, NEU 0.01%) to 22.69% (Voloshkova, NMU 0.025%) of the total number of mitosis. All the variables are statistically significantly different from each other and from the control.

For unifying the scheme of statistical analysis, variables were grouped by type of mutagen and the significant difference calculated firstly from the control variant (soaking in water, without mutagen treatment) with the lowest dose of mutagen, and then the differences inside the group of variables. Frequency was statistically lower when we used chemical mutagens for the variety Sonechko obtained by NDMU. The same situation was observed in case of the variety Kalinova, when NMU and NEU were both used, but with a less significant decrease. Therefore, these two varieties are less sensitive to nitrosoalkylureas.

As we can see from Table 1, the highest frequency aberration in any cases was characteristic for varieties obtained by breeding without using any mutagens (line 418, Kolos Mironovschiny, Voloshkova). A higher frequency of aberrations was obtained by using NMS, then NEU. It is well known that NEU in comparable (by induction of visible mutations) concentrations induces chromosomal aberrations only at a low rate compared to other alkylureas (Shu et al., 2011). A high concentration of either mutagens was more effective for induction of chromosome aberrations. A high aberration rate was observed in Voloshkova. This variety was unstable in the control too.

Table 1

Frequency (x ± SE) of chromosomal aberrations in M_1 generation of winter wheat varieties

Variant	Mitosis, number	Chromosomal aberrations		Mitosis, number	Chromosomal aberrations	
		number	%		number	%
	Favoritka			Line 418		
Control	984	19	1.93 ± 0.31	962	11	1.14 ± 0.11
NMU, 0.0125%	1048	139	13.26 ± 1.29*	906	106	11.70 ± 1.12*
NMU, 0.025%	934	179	19.17 ± 1.48*	983	188	19.12 ± 1.57*
NEU, 0.010%	1020	91	8.92 ± 0.89*	1021	93	9.11 ± 0.84*
NEU, 0.025%	940	141	15.00 ± 1.39*	900	156	17.33 ± 1.22*
	Lasunya			Hurtovina		
Control	1056	15	1.42 ± 0.19	1034	12	1.16 ± 0.11
NMU, 0.0125%	1019	121	11.89 ± 1.28*	1005	143	14.22 ± 1.37*
NMU, 0.025%	844	161	19.09 ± 1.43*	1022	223	21.83 ± 1.59*
NEU, 0.010%	1003	97	9.67 ± 0.92*	1018	103	10.12 ± 0.99*
NEU, 0.025%	1015	159	15.67 ± 1.33*	1024	184	17.97 ± 1.42*
	Sonechko			Voloshkova		
Control	1026	8	0.78 ± 0.04	1003	31	3.09 ± 0.34
NMU, 0.0125%	1027	56	5.45 ± 0.34*	1002	142	14.17 ± 1.17*
NMU, 0.025%	981	108	11.01 ± 0.99*	912	207	22.69 ± 1.64*
NEU, 0.010%	1013	45	4.44 ± 0.44*	1005	116	11.54 ± 1.02*
NEU, 0.025%	972	97	9.98 ± 0.98*	976	169	17.32 ± 1.44*
	Kalinova			Kolos Mironivschini		
Control	1047	9	0.86 ± 0.11	909	10	1.10 ± 0.13
NMU, 0.0125%	1009	106	10.51 ± 1.07*	1016	129	12.70 ± 1.22*
NMU, 0.025%	851	133	15.63 ± 1.27*	917	190	20.72 ± 1.61*
NEU, 0.010%	984	78	7.93 ± 0.64*	1014	89	8.78 ± 0.82*
NEU, 0.025%	846	135	12.96 ± 1.33*	951	155	16.30 ± 1.34*

Note: * – difference statistically significant at $t_{0.01}$.

According to the results of cluster analysis (generated by number of chromosomal aberrations) (Fig. 1) a clear determining relationship was found between the method of obtaining the variety and the nature of the mutagenic factor. Four different groups of varieties were distinguished – by using gamma rays (Favoritka, Lasunya, Hurtovyna), by the action of chemical mutagens (Kalinova, Sonechko) and varieties obtained using recombinant breeding (Kolos Mironovschiny, line 418), and an entirely separate variety (Voloshkova) obtained through thermomutagenesis. Thus, this method of grouping finally confirmed the conclusion that the effect of a mutagenic factor is largely determined sensitivity to mutagenic action if these factors were used for obtaining the initial material. In general, when the concentration of mutagen increased, the frequency also increased. The proportion of complex aberrations also increased (Table 2). On the other hand, complex aberration (or double and more aberrations in one cell) occurs more frequently after NMU than NEU and in the latter case it is sometimes not manifested.

Analyzing the results of three-factor analysis ("genotype", "concentration" and "nature of mutagen") has shown that, the frequency of chromosome aberrations is affected primarily by the factor "dose", then "genotype", then the "nature of the mutagenic" factor. But the second and third

factors characterized a larger part of the dispersion than the first. The identified effect of frequency decrease is due to genotype-mutagen nature interaction. Thus it is seen that re-exposure to the same nature of the mutagen (for example, gamma-rays on the variety obtained by the action of this same mutagenic factor) leads to a significant decrease in the frequency of aberrations. The overall correlations between the frequency of chromosomal aberrations and the value of a concentration were at the level 0.7–0.8.

Table 2

Spectra of chromosomal aberrations

Variant	Fragments (single + double)		Bridges (chromosome + chromatide)		Fragments / bridges	Micronucleus, lagging chromosome		Double and more aberrations per cell division	
	number	%	number	%		number	%	number	%
Variety Favoritka									
Check	6	54.55	5	45.45	1.20	0	0.00	2	18.18
NMU, 0.0125%	81	58.27	50	35.97	1.62	8	5.76	6	4.32
NMU, 0.025%	123	68.72	51	28.49	2.41	5	2.79	17	9.50
NEU, 0.010%	51	56.04	40	43.96	1.28	0	0.00	4	4.40
NEU, 0.025%	92	65.25	49	34.75	1.88	0	0.00	8	5.67
Variety Lasunya									
Check	4	26.67	11	73.33	0.36	0	0.00	0	0.00
NMU, 0.0125%	76	62.81	40	33.06	1.90	5	4.13	11	9.09
NMU, 0.025%	103	63.98	58	36.02	1.78	0	0.00	18	11.18
NEU, 0.010%	56	57.73	39	40.21	1.44	2	2.06	6	6.19
NEU, 0.025%	84	52.83	69	43.40	1.22	6	3.77	13	8.18
Variety Hurtovina									
Check	7	58.33	5	41.67	1.40	0	0.00	0	0.00
NMU, 0.0125%	94	65.73	40	27.97	2.35	9	6.29	9	6.29
NMU, 0.025%	171	76.68	39	17.49	4.38	13	5.83	25	11.21
NEU, 0.010%	70	67.96	32	31.07	2.19	1	0.97	14	13.59
NEU, 0.025%	106	57.61	71	38.59	1.49	7	3.80	18	9.78
Line 418									
Check	6	54.55	5	45.45	1.20	0	0.00	2	18.18
NMU, 0.0125%	71	66.98	32	30.19	2.22	3	2.83	8	7.55
NMU, 0.025%	122	64.89	56	29.79	2.18	10	5.32	24	12.77
NEU, 0.010%	53	56.99	40	43.01	1.33	0	0.00	4	4.30
NEU, 0.025%	87	55.77	54	34.62	1.61	15	9.62	26	16.67
Variety Kolos Mironovschiny									
Check	5	50.00	5	50.00	1.00	0	0.00	0	0.00
NMU, 0.0125%	81	62.79	40	31.01	2.03	8	6.20	6	4.65
NMU, 0.025%	116	61.05	70	36.84	1.66	4	2.11	18	9.47
NEU, 0.010%	43	48.31	35	39.33	1.23	11	12.36	9	10.11
NEU, 0.025%	82	52.90	59	38.06	1.39	14	9.03	17	10.97
Variety Sonechko									
Check	6	75.00	2	25.00	3.00	0	0.00	0	0.00
NMU, 0.0125%	32	57.14	24	42.86	1.33	0	0.00	4	7.14
NMU, 0.025%	51	47.22	46	42.59	1.11	11	10.19	4	3.70
NEU, 0.010%	23	51.11	21	46.67	1.10	1	2.22	2	4.44
NEU, 0.025%	51	52.58	34	35.05	1.50	12	12.37	21	21.65
Variety Kalinova									
Check	2	22.22	7	77.78	0.29	0	0.00	0	0.00
NMU, 0.0125%	56	52.83	43	40.57	1.30	7	6.60	14	13.21
NMU, 0.025%	64	48.12	59	44.36	1.08	10	7.52	22	16.54
NEU, 0.010%	39	50.00	35	44.87	1.11	4	5.13	17	21.79
NEU, 0.025%	63	46.67	61	45.19	1.03	11	8.15	23	17.04
Variety Voloshkova									
Check	16	51.61	13	41.94	1.23	2	6.45	5	16.13
NMU, 0.0125%	101	71.63	39	27.66	2.59	1	0.71	11	7.80
NMU, 0.025%	142	68.60	54	26.09	2.63	11	5.31	28	13.53
NEU, 0.010%	78	67.24	38	32.76	2.05	0	0.00	16	13.79
NEU, 0.025%	91	53.85	72	42.60	1.26	6	3.55	28	16.57

After the spectra of chromosomal aberrations had been investigated, the following types were identified: chromosomal bridges and double-bridges, fragments of chromosomes and double-fragments, micronucleus, lagging chromosomes. Cases with two or more types of aberrations in one cell and fragments-bridges ratio were calculated separately (Table 2). After these data had been analyzed ,we identified some correlations between mutagen concentrations and parameters of spectra. The quantity of any type of chromosomal aberrations increased with increase in the dose (correlation coeffi-

cients 0.8–0.9). In our past investigations gamma-rays induced more bridges than fragments (fragments-bridges ratio lower than 1) (Nazarenko, 2015). After chemical mutagens more fragments were observed (fragments-bridges ratio more than 1). As we can see, we will be able to use this parameter to identify the nature of unknown mutagens if it is correct for other kinds of chemical mutagens. Both mutagens induced similar types of aberrations at a similar rate. The amount of any type of chromosome's changes increased with growth in the concentrations.

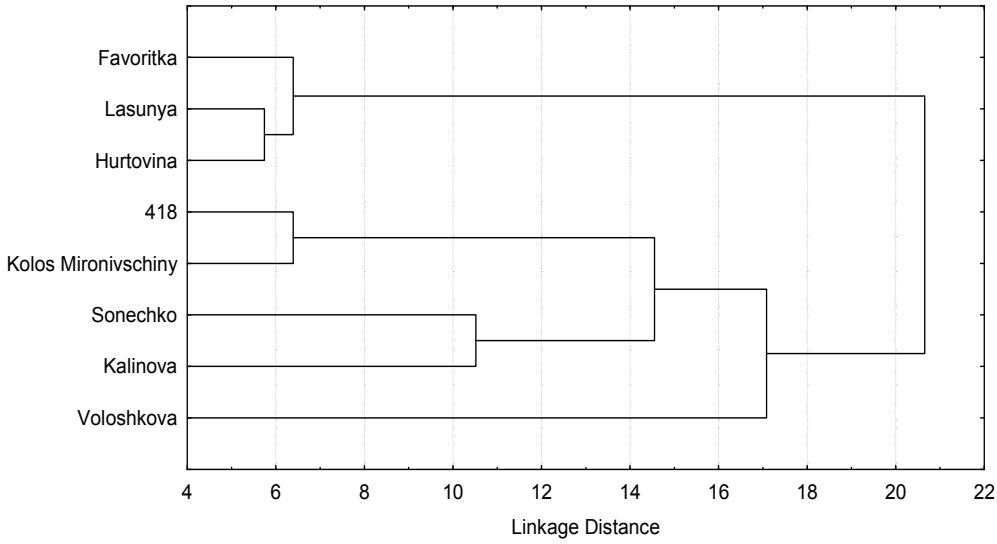


Fig. 1. The dendrogram was generated using the Euclidean distances, which shows the genetic diversity among 8 varieties

Conclusions

Chemically mutated varieties were less sensitive to the same chemical mutagens. As we can see, the varieties Sonecko and Kalinova are preferable for growth under this action. We can predict a smaller number of mutations when these varieties are used for mutation breeding purposes.

Higher rates of chromosomal aberrations are typical for varieties obtained by field hybridization without any mutagen treatment or when the initial material for breeding has been changed by low temperature action (variety Voloshkova).

Comparison of bridges and fragments is a reliable means of identification of the nature of a mutagen (chemical or gamma-rays). In the first case more fragments were induction, in the second – bridges.

In general, the frequency of any type of chromosomal aberration shows a linear increase with increase in concentrations of the mutagen.

References

Adlera, I., Carereb, A., Eichenlaub-Ritterc, U., 2004. Gender differences in the induction of chromosomal aberrations and gene mutations in rodent germ cells. Environmental Research 17, 53–59.

Ahloowalia, B.S., Maluszynski, M., Nicoterlein, K., 2004. Global impact of mutation-derived varieties. Euphytica 135, 187–204.

Albokari, M., 2014. Induction of mutants in durum wheat using gamma irradiation. Pak. J. Bot. 46, 317–324.

Bignold, L.P., 2009. Mechanisms of clastogen-induced chromosomal aberrations: A critical review and description of a model based on failures of tethering of DNA strand ends to strand-breaking enzymes. Mutat. Res. 681, 271–298.

Geraskin, A.S., Dikareva, V.G., Dikareva, N.S., 2002. Vliyanie razdelnogo radioaktivnogo i himicheskogo zagryazneniya na vyihod tsitogeneticheskih narusheniy v interkalyarnoy meristeme yarovogo yachmenya [Effect of separation of radioactive and chemical pollution output cytogenetic damage in intercalary meristem spring barley]. Radiation Biology Radioecology 42, 364–368 (in Russian).

Grant, W.F., Owens, E.T., 2001. Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. Mutat. Res. 488, 93–118.

Hossain, M.F., Alam, M.S., 2001. Effect of gamma irradiation on the callus, developed from indica rise. Pak. J. Biol. Sci. 6, 670–671.

Huaili, Q., Lanming, X., Fei, H., 2005. Biological effect of the seeds of *Arabidopsis thaliana* irradiated by MeV protons. Radiat. Eff. Defect. S. 160, 131–136.

Karthika, I.R., Subba, B., 2006. Effect of gama rays and EMS on two varieties of soybean. Asian Journal of Biological Sciences 5, 721–724.

Klekka, W.R., 1989. Diskriminantnyiy analiz. Faktornyiy, diskriminantnyiy, klasternyiy analiz [Discriminant analysis. Factorial, discriminant, cluster analysis]. Finansy, Moscow (in Russian).

Korogodina, V.L., Panteleeva, A., Ganicheva, I., 1998. Vliyanie moschnosti dozyi gamma-oblucheniya na mitoz i adaptivnyiy otvet kletok pervichnyih korney prorostkov goroha [Effect of gamma irradiation on mitosis and adaptive response of cells of the primary roots of pea seedlings]. Radiation Biology Radioecology 38, 643–649 (in Russian).

Lifang, W., Zengliang, Y., 2001. Radiobiological effects of a low-energy ion beam on wheat. Radiat. Environ. Biophys. 40, 53–57.

Natarajan, A.T., 2005. Chromosome aberrations: Plants to human and feulgen to FISH. Curr. Sci. 89, 335–340.

Nazarenko, M., 2015. Negativnyie posledstviya mutagennogo vozdeystviya [Peculiarities of negative consequences of mutagen action]. Ecological Genetics 4, 25–26 (in Russian).

Nazarenko, M., 2015. Osobennosti vozdeystviya gamma-luchey na hromosomnyiy apparat kletki na primere pshenitsyi myagkoy ozimoy [The frequency and spectrum of chromosomal aberrations in root meristem cells of wheat under the action of mutagens]. Tambow State Unuversity Reports Natural and Technical Sciences 2, 449–452 (in Russian).

Rakhmatullina, E.M., Sanamyan, M.F., 2007. Estimation of efficiency of seed irradiation by thermal neutrons for induc-

ing chromosomal aberration in M2 of cotton *Gossypium hirsutum* L. Russ. J. Genet. 43(5), 518–524.
Rank, J., Lopez, L.C., Nielsen, M.H., 2002. Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. Hereditas 136, 13–18.
Shu, Q.Y., Forster, B.P., Nakagawa, H. (ed.), 2011. Plant mutation breeding and biotechnology. FAO, Tokio.
Ukai, Y., 2006. Effectiveness and efficiency of mutagenic treatments: Gamma Field Symposia, 45, 1-4.
Van Harten, A.M., 1998. Mutation breeding. Theory and practical applications. Cambridge University Press, Cambridge.
Waugha, R., 2006. Harvesting the potential of induced biological diversity. Trends Plant Sci. 11, 71–79.

Надійшла до редколегії 31.05.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 264–269.

doi:10.15421/011633

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 504.53.054:665.7+504.064.3:581

Методика екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів

О.І. Романюк[1], Л.З. Шевчик[1], І.В. Ощаповський[2], Т.В. Жак[1]

[1]Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л. М. Литвиненка НАН України, Львів, Україна
[2]Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

Розроблено методику встановлення екологічного стану нафтозабруднених ґрунтів, придатну для використання у широкому діапазоні концентрації забруднювача, 0–20% нафти у ґрунті, що забезпечує цифрову оцінку фітотоксичності. Методика передбачає пророщування на досліджуваному ґрунті в закритих чашках Петрі, у темноті, за +24 ºС, насіння тест-об'єктів (*Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St.), яке висівається на гомогенізований ґрунт, доведений до стану 33,3% вологості. Для біотестування використовують початкові ростові параметри тест-об'єктів на п'яту добу росту, коли вже достатньо проявляється токсична дія нафти, але ще не встигають проявитись інші, генеровані нею пошкоджувальні фактори. Встановлено інтервали нафтового забруднення, для яких оптимальне використання того чи іншого тест-об'єкта. Доведено, що оптимально оцінити токсичність можна за величиною ефективної токсичності. Встановлено лінійний зв'язок між вмістом нафти у ґрунті та величиною ефективної токсичності. Ефективна токсичність обчислюється за будь-яким із запропонованих тест-об'єктів, а сумісне використання підвищує точність досліджень. Ефективна токсичність характеризує ефект сумарного впливу токсиканта на ростові параметри тест-об'єктів і є сумою коефіцієнтів пригнічення схожості, росту кореня та пагона, зменшену на кількість урахованих параметрів. Зведену оцінку токсичності отримують за величиною фітотоксичності, яка дорівнює ефективній токсичності по льону, соняшнику та вдвічі менша за ефективну токсичність по гречці. Запропоновано шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів, у якій відображено зв'язок між фітотоксичністю, вмістом нафти у ґрунті, рівнем забруднення. Методику випробувано на промисловому майданчику – відвалах озокеритової шахти Бориславського рудоуправління та доведено її правомірність.

Ключові слова: нафтозабрудненні ґрунти; біотестування; фітотоксичність; екологічний моніторинг

Method of ecological assessment of oil-contaminated soils

O.I. Romaniuk[1], L.Z. Shevchyk[1], I.V. Oshchapovskyy[2], T.V. Zhak[1]

[1]Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels InPOCC NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine
[2]Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

A method for determination of the ecological condition of oil-contaminated soils was developed. This method is suitable for use in a wide range of oil concentrations in soil, ranging from 0–20% and provides a quantitative assessment of phytotoxicity – effective toxicity. The method involves the germination on the investigated soil (moisture 33.3%) in closed Petri dishes in the dark at +24 ºC of seeds of test objects: *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St. We used for biotesting initial growth parameters of test objects during 5 days of growth, when the toxic effect of oil is quite evident, but other damaging factors do not become apparent. For each test object, an optimal oil concentration range is suggested. At low concentrations of oil in the soil <1% it is appropriate to use *F. vulgare*, at higher concentrations 1.0–2.5% – *L. usitatissimum*, *H. annuus*; 10.0–15.0% – *L. usitatissimum*, *F. vulgare*; for intervals 2.5–10.0% 15.0–17.0% application of each of three plant species is possible: *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*. We proved that the best estimate of toxicity is possible on the basis of the value of effective toxicity (T_{ef}). The linear relationship between concentration of oil in the soil and T_{ef} is established. Effective toxicity was calculated for any of the proposed test objects and joint use of them will increase the accuracy of

Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л.М. Литвиненка НАН України, вул. Наукова, 3а, Львів, 79053, Україна
Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels InPOCC NAS of Ukraine, Naukova Str., 3a, Lviv, 79053, Ukraine
Tel.: +38-096-226-60-40. E-mail: romaniuk@ua.fm

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Кирила і Мефодія, 6, Львів, 79005, Україна
Ivan Franko National University of Lviv, Kyrylo and Mefodiy Str., 6, Lviv, 79005, Ukraine

research. Effective toxicity characterizes the total impact of toxicants on the growth parameters of plant test-objects and is calculated as the sum of factors inhibiting germination, growth of root and shoot minus the number of recorded parameters. The total assessment of toxicity is based on phytotoxicity which is equal to effective toxicity on *L. usitatissimum*, *H. annuus*, and a half of effective toxicity on *F. vulgare*. A scale of toxicity of oil-contaminated soils is suggested, which shows the relationship between phytotoxicity, content of oil in soil and pollution level. It is established that for the soils polluted by oil with concentration <0.4%, phytotoxicity is <0.6, and the level of pollution is characterized as admissible. If the concentration of oil in the soil is 0.4–2.5%, phytotoxicity is 0.6–1.5; the level of pollution – threatening. If the oil concentration in the soil is 2.5–10.0%, phytotoxicity is 1.5–3.0; pollution level – pre-crisis. For soils polluted by oil at the level 10.0–15.0% phytotoxicity – 3.0–4.0; pollution level – crisis, and for soils with oil concentration >15.0% phytotoxicity is >4.0; the level of pollution – catastrophic. The method was tested on an industrial area – dumps of the Borislav Ozokerite Mine. Environmental maps of toxicity drawn up using different test objects*: L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* were similar, which additionally confirms the correctness of the method. We recommend the application of the proposed method for identification of sites in a threatening, pre-crisis or crisis state, on which other physical-chemical studies can be further conducted.

Keywords: oil-contaminated soil; biological testing; phytotoxicity; ecological monitoring

Вступ

Забруднення навколишнього природного середовища різноманітними полютантами зумовлює необхідність розроблення та впровадження системи екологічного моніторингу. Сучасна тенденція в екологічному контролі – проведення біомоніторингу методами біоіндикації та біотестування, які дають інтегральну оцінку якості середовища проживання будь-якої біологічної популяції, включаючи людину.

Для біоіндикації та біотестування використовується широке коло організмів, що охоплює всі групи біологічного співтовариства, але жоден із тест-об'єктів не може служити універсальним, рівною мірою чутливим до всіх екологічних чинників, через видову вибірковість дії потенційних токсикантів. З уведенням кожного додаткового об'єкта надійність схеми випробувань підвищується, проте безмежне розширення асортименту обов'язкових об'єктів неможливе. У зв'язку з цим для кожного пропонованого методу біотестування має бути визначене цільове призначення, означена сфера застосування та очевидні переваги над рекомендованими раніше.

Вибір тест-організму здійснюється залежно від його середовища проживання. У системі екологічного моніторингу природних вод провідне положення займають методи біотестування на гіллястовусих ракоподібних, зокрема на дафніях *Daphnia magna* (Berglind and Dave, 1984; Knops et al., 2001). Біотестування ґрунтів із використанням гідробіотнів можливо проводити лише на водних витяжках для гідрофільних речовин, а для оцінювання токсичності гідрофобних забруднювачів, наприклад, нафтопродуктів, цей метод не ефективний. Крім того, постановка фітотесту на водних витяжках може давати занижені результати токсичності. Для біомоніторингу ґрунтових екосистем часто використовують великих безхребетних (Dorn and Salanitro, 2000; Domene et al., 2007, 2011; Cermak et al., 2010; Tang et al., 2011; Hentati et al., 2013; Malara and Oleszczuk, 2013). Інколи для оцінки токсичності забруднень як тест-об'єкти використовують мікроорганізми (Alkorta et al., 2006; Rathnayakea et al., 2013; Malara and Oleszczuk, 2013). Високі швидкості росту та розмноження мікроорганізмів дають можливість за порівняно короткий термін простежити за впливом несприятливого чинника. До недоліків мікробіологічних тестів слід віднести досить високу здатність мікроорганізмів до утворення стійких мутантних штамів, що може в деяких випадках давати недостовірні результати.

Рослини – найзручніші та найдешевші об'єкти в плані проведення досліджень. Вони достатньо інформативні для біомоніторингу ґрунтів, оскільки слугують первинними ланками трофічних ланцюгів, виконують основну роль у поглинанні різноманітних забруднювачів, постійно зазнають їх впливу завдяки закріпленню на субстраті. Але опубліковані методики біотестування та біоіндикації ґрунтів із допомогою рослин розроблені переважно для забруднення важкими металами (Berestec'kij, 1971; Shunel'ko and Fedorova, 2000; Franchuk et al., 2006; Di Salvatore et al., 2008; Gorova and Kulyna, 2008; Valerko, 2013; Bobyliov et al., 2014). Питання екологічного оцінювання ґрунтів, забруднених нафтою, залишається не вирішеним. Нечисленні публікації (Ekundayo et al., 2001; Maila and Cloete, 2002; Nazarov and Ylaryonov, 2005; Banks and Schultz, 2005; Grynchyshyn et al., 2014; Issayeva et al., 2015) із цього питання важко співставити через різну техніку виконання досліджень і відмінні параметри, що використовуються для екотоксикологічної оцінки. У праці Gorsuch et al. (1995) оцінюється довжина коренів і довжина проростків молодих рослин; деякі дослідники аналізують схожість і довжину коренів проростків (Wang et al., 2000). У низці праць оцінюється тільки довжина коренів проростків (Michaud et al., 2008) або тільки схожість насіння (Cruz et al., 2013).

Не з'ясованим залишається питання рослинних тест-об'єктів, селективно чутливих до нафтового забруднення, не встановлено, на якій стадії проростання рослин доцільно вимірювати ростові параметри, яка чутливість тест-об'єктів за різних рівнів забруднення, а головне, як провести цифрове оцінювання токсичності.

Таким чином, мета дослідження – розроблення методики екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів за допомогою рослинних тест-об'єктів.

Матеріал і методи дослідження

Для досліджень використовували ґрунт, штучно забруднений сирою нафтою (густиною 0,86 г/мл) так, що її вміст у ньому становив: 0,4, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0, 10,0, 15,0, 17,0 та 20,0%. Контролем слугував ґрунт без нафти. Для досліджень використовували насіння льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.), гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.), однорідних за масою для кожного виду. Серії дослідів проводили не менше ніж у триразовій повторності, за кількості об'єктів вимірювання не менше

ніж 60 для кожної концентрації. Визначали кількість пророслого насіння, вимірювали довжину коренів, висоту пагонів. Величина інструментальної похибки ± 0,5 мм. Визначали середнє арифметичне, довірчий інтервал і середньоквадратичну похибку середнього арифметичного (Shevchyk and Romaniuk, 2014). Для порівняння вибірок застосовували *t*-критерій Стьюдента з попередньою перевіркою розподілу на нормальність і однофакторний дисперсійний аналіз. Розбіжності між значеннями вважали достовірними за P < 0,05. Отримані дані використовували для обрахунку ефективної токсичності за формулою (Romaniuk, 2016):

$$T_J^{еф} = \sum_{i=1}^{n} K_i - n = (K_N + K_l + K_h) - n, \quad (1)$$

де $T_J^{еф.}$ – ефективна токсичність відповідно по льону, соняшнику чи гречці; K_N – коефіцієнт пригнічення схожості; K_l – коефіцієнт пригнічення росту кореня; K_h – коефіцієнт пригнічення росту пагона.

На рисунку 1 наведено значення ефективної токсичності для кожної концентрації нафти та квадратичне відхилення. Прогнозування залежності між показниками ефективної токсичності та концентраціями нафти у ґрунті здійснювали за допомогою регресійного аналізу.

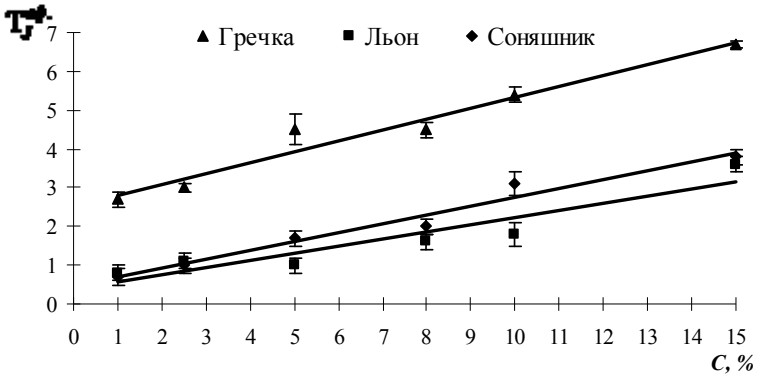


Рис. 1. Залежність ефективної токсичності ($T_J^{еф.}$) від концентрації нафти у ґрунті (C) для гречки, льону, соняшника

Методику випробовували на промисловому майданчику – відвалах озокеритової шахти Бориславського рудоуправління. У ході моніторингових досліджень відібрано 50 проб ґрунту. Середня щільність контрольних точок відбору 25 × 25 м. Для кожної точки визначено точні координати системою GPS. Проби відбирали за ГОСТом 17.4.4.02.84 методом квадрата, на глибині 0–10 см. Екологічні карти будували, застосовуючи програму Surfer компанії Golden Software.

Результати та їх обговорення

Для розроблення методики екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів використано підхід, описаний у міжнародних стандартах контролю забруднення ґрунту з використанням параметрів росту та розвитку рослин – ISO 11269-1:1993 та ISO 11269-2:1995, згідно з якими якість ґрунту визначається за результатами впливу хімічних речовин на проростання та ріст вищих рослин. Перелічені стандарти передбачають використання великої кількості ґрунту для аналізу – 500 г, довготривалі у виконанні – 14–21 доба, працюють у вузькому діапазоні концентрацій забруднювача – 1–1 000 мг/кг і не призначені для застосування на нафтозабруднених ґрунтах.

Ми поставили завдання розробити методику оцінювання саме нафтозабруднених ґрунтів, при цьому оптимізувати час проведення дослідження, зменшити кількість ґрунту, необхідну для проведення аналізу, підібрати рослинні тест-об'єкти, чутливі до нафтового забруднення, розширити діапазон концентрації полютанта, за якої можливе застосування біотестування.

На першому етапі проведено пошук рослинних об'єктів, чутливих до нафтового забруднення, та таких, що мають достовірний вплив на зміну концентрації нафти у ґрунті в широкому діапазоні. Встановлено, що найбільш придатні для біотестування льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) та гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.), здатні працювати у діапазоні концентрації полютанта 0–20% (табл. 1) (Shevchyk and Romaniuk, 2014).

Доведено, що для фітотоксикологічної оцінки оптимально використовувати початкові ростові параметри цих тест-об'єктів на п'яту добу росту (Shevchyk and Romaniuk, 2014), коли вже достатньо проявляється токсична дія нафти, але ще не встигають проявитись інші, генеровані нею, пошкоджувальні фактори. Це забезпечує високу надійність методу, робить його швидшим і більш економічним.

На основі аналізу літературних даних і проведених експериментальних досліджень ми розробили технологію виконання аналізу (Romaniuk, 2016), яка дозволяє оптимально оцінити фітотоксичність. Із метою максимального врахування токсичної дії нафтового забруднення насіння без попереднього замочування чи набухання висаджують безпосередньо на гомогенізований досліджуваний ґрунт, доведений до стану 33,3% вологості, поміщений у закриті чашки Петрі, у режимі термостатування за +24 ºС у темряві. Для одного аналізу достатньо 20 г ґрунту. Вимірювання ростових параметрів (довжини кореня, висоти пагона та схожості), як уже зазначалося, проводять на п'яту добу росту. Запропонована технологія забезпечує 100% повторюваність,

технічний результат перевірено на штучно забруднених ґрунтах – 0,4, 1,0, 2,5, 5,0, 8,0, 10,0, 15,0, 17,0, 20,0% нафти у ґрунті.

Залежність початкових ростових параметрів льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.), гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від концентрації нафти у ґрунті близька до лінійної. Гречка чутливіша до вмісту нафти та індикує її присутність навіть на рівні ТДК (0,4%) (Shevchyk and Romaniuk, 2014; Pat. 103601 Ukraine). Аналіз достовірно значущої різниці ($P < 0,05$) для ростових параметрів експеримента та контролю та між експериментальними даними всередині інтервалів: 0–0,4, 0,4–1,0, 1,0–2,5, 2,5–5,0, 5,0–8,0, 8,0–10,0, 10,0–15,0, 15,0–17,0% указав на інтервали нафтового забруднення, для яких оптимальне використання того чи іншого тест-об'єкта (табл. 1).

Таблиця 1

Рекомендовані тест-об'єкти до використання за різного вмісту нафти у ґрунті

Тест-об'єкти	Вміст нафти у ґрунті, %					
	0–0,4	0,4–1,0	1,0–2,5	2,5–10,0	10,0–15,0	15,0–17,0
Льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.)	–	–	+	+	+	+
Соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.)	–	–	+	+	–	+
Гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.)	+	+	–	+	+	+

За низьких концентрацій нафти у ґрунті (<1%) доцільно використовувати *F. vulgare*, за вищих концентрацій (2,5–10,0%; 15,0–17,0%) можливе використання будь-якої із трьох запропонованих рослин. Показники ростових параметрів тест-об'єктів, отриманих на п'яту добу, застосовують для оцінювання токсичності. Токсичність визначають за величиною ефективної токсичності $T_{еф}$, що характеризує ефект сумарного впливу токсиканта на ростові параметри тест-об'єктів (Romaniuk, 2016).

Прогнозування залежності між показниками ефективної токсичності та концентраціями нафти у ґрунті здійснювали за допомогою регресійного аналізу. Встановлений лінійний зв'язок між вмістом нафти у ґрунті та ефективною токсичністю (рис. 1) дає змогу оцінити рівень нафтового забруднення у широкому діапазоні концентрації полютанта 0–20%.

Ефективна токсичність визначається за будь-яким із запропонованих тест-об'єктів, а сумісне використання підвищує точність досліджень. Ефективна токсичність по гречці вдвічі більша, ніж по соняшнику та льону. Для зручності зведену оцінку токсичності проводимо за величиною фітотоксичності ($T_{фіт.}$):

$$T_{фіт.} = T^{еф.}_{Льон} = T^{еф.}_{Соняшник} = \frac{1}{2} T^{еф.}_{гречка} \quad (2)$$

На основі розробленої методики та нагромадженого досвіду щодо оцінювання токсичності пропонуємо шкалу для нафтозабруднених ґрунтів (табл. 2).

Таблиця 2

Шкала токсичності нафтозабруднених ґрунтів

Фітотоксичність	Вміст нафти у ґрунті, %	Рівень забруднення
<0,6	<0,4	допустимий
0,6–1,5	0,4–2,5	загрозливий
1,5–3,0	2,5–10,0	передкризовий
3,0–4,0	10,0–15,0	кризовий
>4,0	>15,0	катастрофічний

Запропоновану методику екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів випробувано на промисловому майданчику – відвалах озокеритової шахти Бориславського рудоуправління. Побудовано екологічні карти токсичності ґрунтів (рис. 2–4) з використанням тест-об'єктів – *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*. Ізолініями показано ділянки з однаковим рівнем забруднення. Співставлення контурів ізоліній фітотоксичності на всіх трьох картах показує однаковий характер розподілу нафтового забруднення.

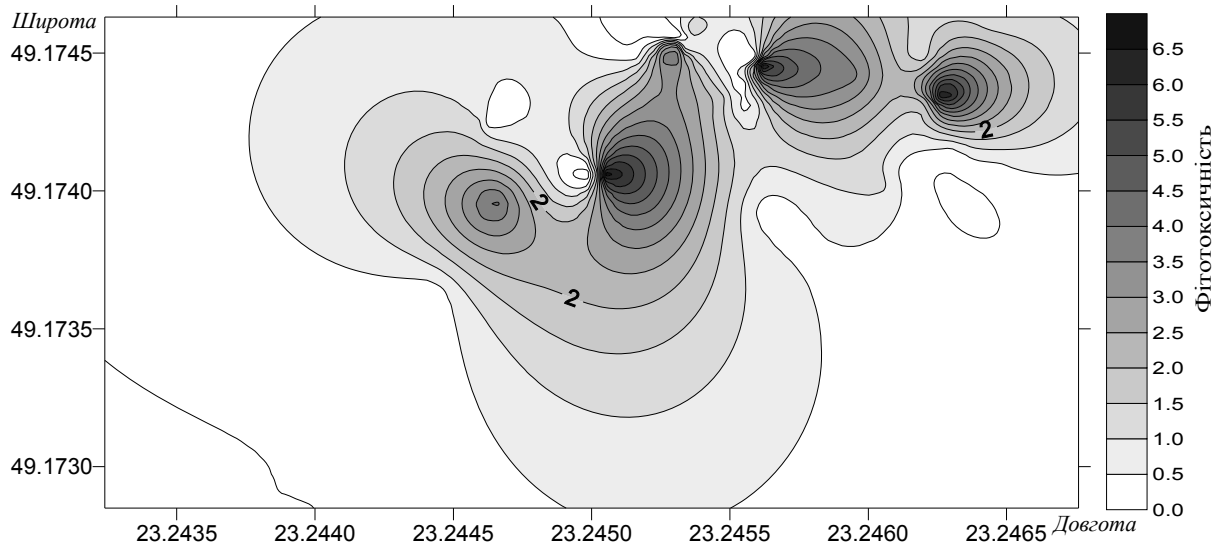


Рис. 2. Екологічна карта фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти Бориславського рудоуправління (тест-об'єкт – льон звичайний)

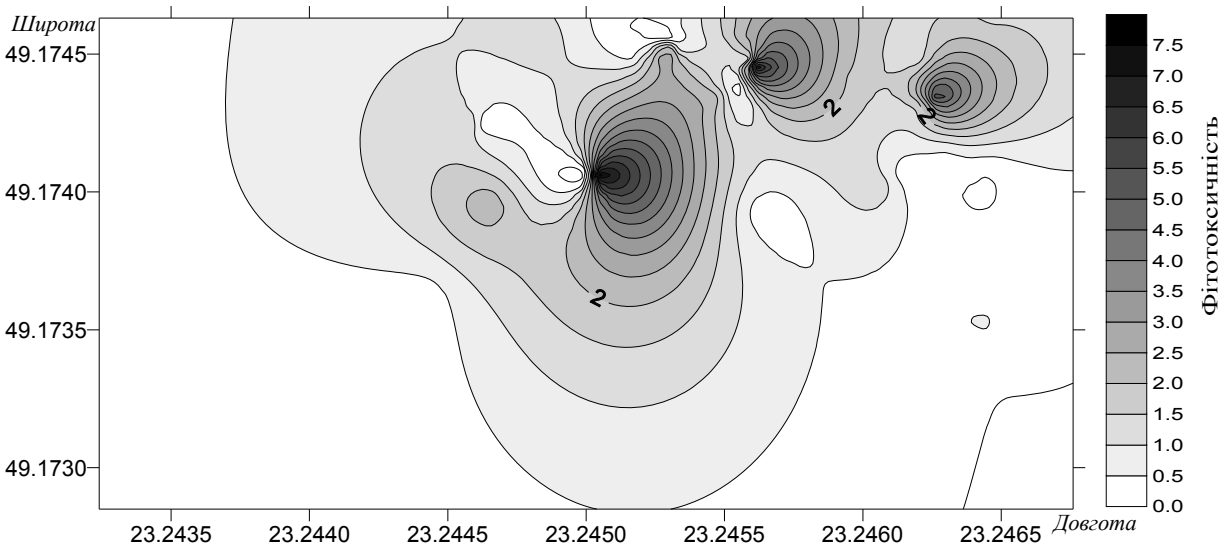


Рис. 3. Екологічна карта фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти Бориславського рудоуправління (тест-об'єкт – соняшник звичайний)

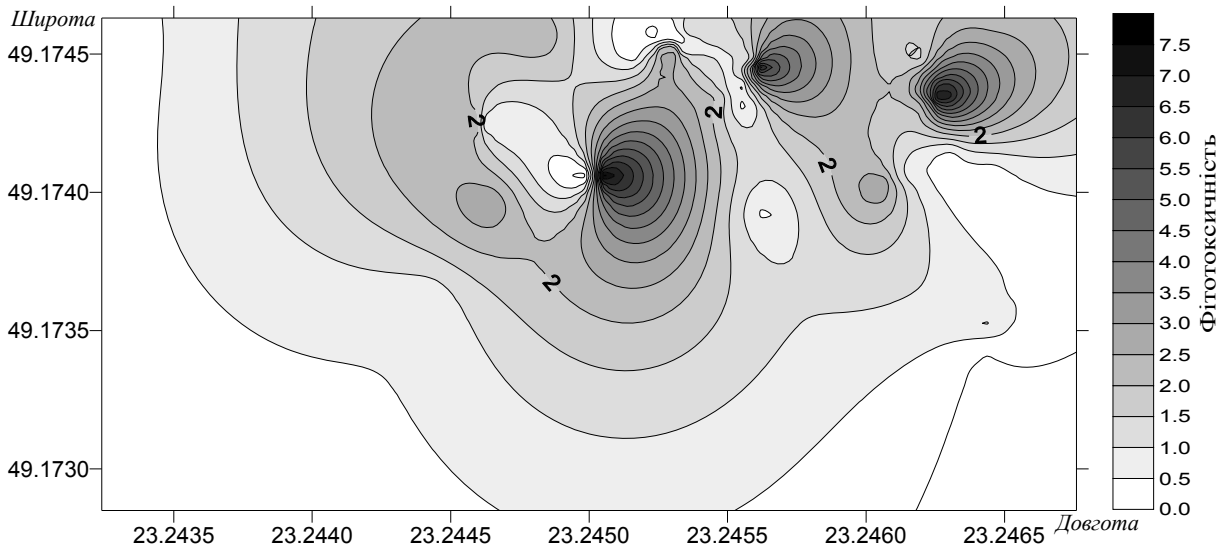


Рис. 4. Екологічна карта фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти Бориславського рудоуправління (пест-об'єкт – гречка звичайна)

Застосування методики біотестування дозволяє окантурити ділянки із загрозливим, передкризовим чи кризовим станом, на яких у подальшому можуть проводитись більш прецизійні фізико-хімічні дослідження. Такий підхід забезпечує екологічну оцінку досліджуваної території та зменшує собівартість моніторингових досліджень.

Висновки

Розроблено методику оцінювання екологічного стану нафтозабруднених ґрунтів, придатну для застосування у широкому діапазоні концентрації забруднювача 0–20%. Установлено інтервали нафтового забруднення для оптимального вибору тест-об'єкта з *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St. З'ясовано зв'язок між фітотоксичністю, вмістом нафти у ґрунті, рівнем забруднення та запропоновано шкалу токсичності. Застосування методики забезпечує оптимальну екологічну оцінку ґрунту – кількісне визначення токсичності, вмісту полютанта у ґрунті, рівня забруднення та дозволяє виділити небезпечні ділянки, що зменшує матеріальні та часові затрати на дослідження.

Бібліографічні посилання

Alkorta, I., Epelde, L., Mijangos, I., Amezaga, I., Garbisu, C., 2006. Bioluminescent bacterial biosensors for the assessment of metal toxicity and bioavailability in soils. Rev. Environ. Heal. 21, 139–152.

Banks, M.K., Schultz, K.E., 2005. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum contaminated soil. Water Air Soil Poll. 167, 211–219.

Berestec'kij, O.A., 1971. Metody opredelenija toksichnosti pochv [Methods of determination of soil toxicity]. Urozhaj, Kyiv (in Russian).

Berglind, R., Dave, G., 1984. Acute toxicity of chromate, DDT, PCP, TPBS, and zinc to *Daphnia magna* cultured in hard and soft water. B. Environ. Contam. Tox. 33, 63–68.

Bobyliov, Y.P., Brygadyrenko, V.V., Bulakhov, V.L., Gaichenko, V.A., Gasso, V.Y., Didukh, Y.P., Ivashov, A.V., Kucheriavyi, V.P., Maliovanyi, M.S., Mytsyk, L.P., Pakhomov, O.Y.,

Tsaryk, I.V., Shabanov, D.A., 2014. Ekologija [Ecology]. Folio, Kharkiv (in Ukrainian).

Cermak, J.H., Stephenson, G.L., Birkholz, D., Wang, Z., Dixon, D.G., 2010. Toxicity of petroleum hydrocarbon distillates to soil organisms. Environ. Toxicol. Chem. 29(12), 2685–2694.

Cruz, J.M., Lopes, P.R.M., Montagnolli, R.N., Tamada, I.S., Silva, N.M., Bidoia, E.D., 2013. Toxicity assessment of contaminated soil using seeds as bioindicators. J. Chem. Technol. Biotechnol. 1, 1–10.

Di Salvatore, M., Carafa, A.M., Carrat, G., 2008. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. Chemosphere 73(9), 1461–1464.

Domene, X., Alcañiz, J.M., Andrés, P., 2007. Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. Appl. Soil Ecol. 35, 461–472.

Domene, X., Chelinho, S., Campana, P., Natal-da-Luz, T., Alcañiz, J.M., Andrés, P., Römbke, J., Sousa, P., 2011. Influence of soil properties on the performance of *Folsomia candida*: Implications for its use in soil ecotoxicology testing. Environ. Toxicol. Chem. 30, 1497–1505.

Dorn, P.B., Salanitro, J.P., 2000. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. Chemosphere 40, 419–426.

Ekundayo, E.O., Emede, T.O., Osayande, D.I., 2001. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of Midwestern Nigeria. Int. J. Food Sci. Nutr. 56(4), 313–324.

Franchuk, G.M., Kipnis, L.S., Madzhd, S.M., Zagoruj, J.V., 2006. Ekologichna ocinka stanu dovkillja v zoni aeroportu metodamy biotestuvannja [Environmental assessment of the environment in area of the airport by a biotesting method]. Visnyk Nacional'nogo Aviacijnogo Universytetu 2, 114–117 (in Ukrainian).

Gorova, A., Kulina, S., 2008. Ocinka toksychnosti gruntiv Chervonograds'kogo girnychopromyslovogo rajonu za dopomogoju rostovogo testu [Estimation of toxic of soils in the Chervonograd mining region with the use bioindication method]. Visnyk Lvivskoho universytetu Seriia Biolohiia 48, 189–194 (in Ukrainian).

Gorsuch, J., Merrilee, R., Anderson, E., 1995. Comparative toxicities of six heavy metals using root elongation and shoot growth in three plant species. Environmental Toxicology and Risk Assessment 3, 377–391.

Grynchyshyn, N., Babadzhanova, O., Sosedko, K., 2014. Fitotoksychnist' naftozabrudnenyh g'runtiv na prykladi kressalatu (*Lepidium sativum* L.) [Phytotoxicity of oil polluted soil on the example of cress-salad *Lepidium sativum* L.]. Naukovyj Visnyk Nacional'nogo Lisotehnichnogo Universytetu Ukrai'ny 24, 81–86 (in Ukrainian).

Hentati, O., Lachhab, R., Ayadi, M., Ksibi, M., 2013. Toxicity assessment for petroleum-contaminated soil using terrestrial invertebrates and plant bioassays. Environ. Monit. Assess. 185, 2989–2998.

Issayeva, A.U., Bishimbayev, K.V., Bishimbayev, V.K., Eshibaev, A.A., Issayev, E.B., 2015. Phytoindication: Reaction of plants to the oil light fractions. Brit. J. Environ. Sci. 3(4), 14–19.

Knops, M., Altenburger, R., Segner, H., 2001. Alterations of physiological energetics, growth and reproduction of *Daphnia magna* under toxicant stress. Aquat. Toxicol. 53, 79–90.

Maila, M.P., Cloete, T.E., 2002. Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil. Int. Biodeterior. Biodegradation 50, 107–113.

Malara, A., Oleszczuk, P., 2013. Application of a battery of biotests for the determination of leachate toxicity to bacteria and invertebrates from sewage sludge-amended soil. Environ. Sci. Pollut. R. 20, 3435–3446.

Michaud, A., Chappelaz, C., Hinsinger, P., 2008. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). Plant Soil 310, 151–165.

Nazarov, A.V., Ylaryonov, S.A., 2005. Yzuchenye prychyn fytotoksychnosty neftezagrjaznennyh pochv [Studying the causes of phytotoxicity of oil-contaminated soils]. Al'ternatyvnaja Jenergetika i Jekologija 1, 60–65 (in Russian).

Oleszczuk, P., 2010. Testing of different plants to determine influence of physico-chemical properties and contaminants content on municipal sewage sludges phytotoxicity. Environ. Toxicol. 25, 38–47.

Rathnayake, I.V., Megharaj, M., Krishnamurti, G.S., Bolan, N.S., Naidu, R., 2013. Heavy metal toxicity to bacteria – Are the existing growth media accurate enough to determine heavy metal toxicity? Chemosphere 90(3), 1195–1200.

Romaniuk, O., 2016. Rozrobka metodu ocinky toksychnosti naftozabrudnenyh gruntiv [Development of method for toxicity evaluation of oil-contaminated soils]. Visnyk Lvivskoho Universytetu Seriia Biolohiia 72(2), 93–100 (in Ukrainian).

Shevchyk, L.Z., Romaniuk, O.I., 2014. Doslidzhennja dejakyh zakonomirnostej vplyvu nafty na pochatkovi rostovi parametry roslynnyh test-ob'jektiv [Researching regularities of influence of oil on the initial growth parameters of test-objects plants]. Visnyk Lvivskoho universytetu Seriia Biolohiia 67, 129–137 (in Ukrainian).

Shunel'ko, E.V., Fedorova, A.I., 2000. Jekologicheskaja ocenka gorodskih pochv i vyjavlenie urovnja toksichnosti tjazhelyh metallov metodom biotestirovanija [Environmental assessment of urban soils and identification of level of heavy metal toxicity by a biotesting method]. Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta Serija Geografija Geoekologija 4, 77–83 (in Russian).

Tang, J.C., Wang, M., Wang, F., Sun, Q., Zhou, Q.X., 2011. Eco-toxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil. J. Environ. Sci. 23(5), 845–851.

Valerko, R.A., 2013. Osoblivosti biotestuvannja antropogenno zabrudnenih rruntiv z metoju jih ekotoksichnoji ocinki [The use of the biotesting method for anthropically polluted soils to their estimates ecotoxicological]. Visnik Harkivs'kogo Nacional'nogo Agrarnogo Universitetu 2, 262–266 (in Russian).

Wang, X., Sun, C., Gao, S., Wang, L., Shuokui, H., 2001. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. Chemosphere 44(8), 1711–1721.

Надійшла до редколегії 02.06.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 270–275.

doi:10.15421/011634

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 616.831:612.821.8:615.015.6

Нейрофізіологічні механізми формування нехімічної залежності самостимуляцією позитивно-емоціогенних зон мозку у щурів

О.Г. Берченко, Д.О. Бевзюк, Н.О. Левічева, С.П. Колядко

Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України, Харків, Україна

Вивчено вплив лімбіко-неокортикальних механізмів залежної поведінки від отримання інтенсивних емоцій у щурів на моделі реакції самостимуляції мозку. Формування поведінки, залежної від отримання інтенсивних емоцій внаслідок самостимуляції позитивних зон заднього вентролатерального гіпоталамуса, зумовлене початково високим рівнем потреби в отриманні позитивного емоційного підкріплення та її подальшим зростанням у процесі реалізації потягу. У стані залежності виявлено активацію механізмів емоційної пам'яті, зміни електрогенезу в гіпокампі та ретикулярній формації з вираженими проявами компонентів судомної та пароксизмальної активності, підвищення активності симпатоадреналової системи. Стан відміни отримання позитивних емоцій зумовлений в одних щурів із реалізацією програми фобічної спрямованості з наростанням бета-ритму в усіх досліджуваних структурах лімбіко-неокортикальної системи мозку, а в інших щурів – агресивною спрямованістю, яка характеризувалася посиленням судомної електричної активності в гіпокампі, пригніченням електрогенезу в гіпоталамусі та заміною повільнохвильової активності в ретикулярній формації стовбура мозку на високочастотні ритми в діапазоні альфа – тета.

Ключові слова: біопотенціали мозку; задній вентролатеральний гіпоталамус; позитивні емоції; агресивна поведінка; тривожно-фобічна поведінка

Neurophysiological mechanisms of formation of non-chemical dependence through self-stimulation of positive emotiogenic areas of rats' brains

O.G. Berchenko, D.O. Bevzyuk, N.O. Levicheva, S.P. Koladko

Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine, Kharkov, Ukraine

The aim of our research was to study the limbic-neocortical mechanisms of addictive behaviour in rats formed through the arousal of intense emotions on the model of self-stimulation reaction of the brain. We carried out investigations by conducting a chronic experiment on 15 nonlinear laboratory male rats weighing 250 to 320 grams, at the ages of 5 to 6 months. As a model of receiving positive emotions we used the behaviour of animals held in a Skinner box which was formed through self stimulation of the positive emotional zones of the posterior ventrolateral hypothalamus. We registered the frequency of self-stimulation reactions of the ventrolateral hypothalamus daily for 4 days and on the 7th day after its ccessation (state of deprivation). We performed visual and spectral analysis of the electrical activity of the brain using "Neuron-spektr.net" software. We assessed the absolute spectral density of the power of rhythm signals of the following frequency bands: delta (0.5–4.0 Hz), theta (4.0–7.0 Hz), alpha (8.0–12.0 Hz) and low frequency beta (14.0–20.0 Hz). The formation of behaviour dependent on receiving intense emotions as a result of self-stimulation of the positive zones of the ventrolateral hypothalamus is caused by the initial high level of need for positive emotional reinforcement and further growth in the implementation of desire and is associated with activation of emotional memory mechanisms, changes in electrogenesis in the hippocampus and the reticular formation in the form of decrease in the spectral power of rhythms of alpha and beta bands and increased spectral power of biopotentials of the delta range in the hippocampus and theta range in the reticular formation with severe manifestations of seizure and paroxysmal activity components and increased activity of the sympatho-adrenal system. The syndrome of withdrawal from the receiving of positive emotions in some rats with implementation of a programme of a phobic character with an increase in beta rhythms in all the studied structures, and among other rats with implementation of a programme of an aggressive character, which was characterized by increased electrical seizure activity in

Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», вул. Академіка Павлова, 46, Харків, 61068, Україна
Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine, Academy Pavlov Str., 46, Kharkov, 61068, Ukraine
Tel.: +38097-928-53-31. E-mail: daria_bevziuk@mail.ru

the hippocampus, is caused by oppression of electrogenesis in the hypothalmus and replacement of slow wave activity in the reticular formation at high frequency rhythms in the alpha-theta range.

Keywords: biopotentials; posterior ventrolateral hypothalamus; positive emotion; aggressive behaviour; anxious behaviour

Вступ

Сучасне суспільство характеризується кризовими явищами у багатьох сферах суспільного життя. Важкі соціально-економічні умови значною мірою ускладнюють реальність. Відбувається різка зміна звичних стереотипів, поєднана з матеріально-побутовими проблемами. Ці та багато інших чинників переважно в осіб молодого та зрілого віку сприяють втраті почуття безпеки та розвитку страху перед дійсністю, породжують прагнення до уникнення реальності (Sudakov, 2006; Liu, 2016; Sheynin, 2016). Така схильність притаманна людям зі слабким рівнем перенесення труднощів та низькими адаптаційними можливостями. У пошуках засобів захисту від напруження, дискомфорту, стресу такі люди формують стратегії залежної (адитивної) поведінки від отримання позитивних емоцій, в основі яких лежить хімічна та нехімічна (поведінкова) залежність, об'єкт якої – поведінковий патерн (Dimitrijević, 2015; Goodman, 2016; Nathan, 2016). Прикладом таких залежностей можуть бути гемблінг, комп'ютерні ігроманії, гіперсексуальна та харчова поведінка, шопінг, роботоголізм, зловживання телебаченням, патологічний потяг до релігії, а не вживання психоактивної речовини (Joyner, 2015; Kovács, 2015; Choi, 2016). Як відомо, кінцевий результат будь-якої залежної поведінки – отримання інтенсивних позитивних емоцій (Vorobyeva, 1993; Vorobyeva, 2004; Kotov, 2008).

Один із фізіологічних інструментів дослідження потягу до позитивних емоцій – реакція самостимуляції позитивних емоціогенних зон мозку, відкрита Олдсом і Мілнером. При цьому отримання задоволення – системотвірний фактор у функціональній системі цього поведінкового акту. У зв'язку із цим слід зазначити, що інші види мотиваційної поведінки (харчової, статевої) не пригнічують процес самостимуляції, а стимул-перепонна ситуація викликає активацію емоційної поведінки (Sergienko, 1992; Murik, 2010; Vorobyeva, 2010). За умов дефіциту позитивних емоцій у забезпеченні реакції самостимуляції беруть участь ті самі нейрохімічні механізми, що й за умови екзогенного введення речовин, які містять наркотичний компонент (морфін гідрохлорид), що дозволяло авторам розглядати самостимуляцію позитивних емоційних зон мозку як модель ендогенної наркотизації (Garbuzova, 1998). Тому реакцію самостимуляції позитивних емоціогенних зон мозку можна розглядати як аналог нехімічної адитивної поведінки, де об'єкт залежності – поведінковий патерн – інструментальний рефлекс самостимуляції позитивної емоціогенної зони мозку.

Мета дослідження – вивчити лімбіко-неокортикальні механізми залежної поведінки від отримання інтенсивних емоцій у щурів на моделі реакції самостимуляції мозку.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені в умовах хронічного експерименту на 15 лабораторних нелінійних щурах-самцях масою від 250 до 320 г, віком від 5 до 6 місяців.

Стереотаксичну операцію з уживляння електродів у мозок щура проводили під загальним наркозом (внутрішньочеревне уведення тіопенталу натрію у дозі 50 мг/кг маси тіла). Ніхромові електроди у скляній ізоляції з діаметром неізольованого кінчика у 100 мкм імплантували в лімбіко-неокортикальні структури мозку (гіпокамп, неокортекс, вентролатеральний гіпоталамус, ретикулярну формацію за картами мозку О. Фіфкової та Д. Маршала (цитовано за Я. Бурешем) (Buresh, 1962). Коркові ніхромові електроди вводили епідурально в лобно-тім'яну область, індиферентний електрод розташовували в кістці носової пазухи. Моделлю отримання позитивних емоцій служила поведінка тварин, що формувалася за умови самостимуляції позитивних емоціогенних зон заднього вентролатерального гіпоталамуса в камері Скінера (Olds, 1954; Vorobyeva, 2010).

Суть методу полягала в тому, що тварини із хронічно імплантованими електродами в емоціогенні зони вентролатерального гіпоталамуса виробляли навичку періодично замикати контакти електричного ланцюга, подразнюючи тим самим власний мозок. Тварин поміщали в камеру Скінера із вмонтованою педаллю. Випадкове натискання на педаль викликало замикання електричного ланцюга з подразненням зон вентролатерального гіпоталамуса. У щурів виникала виражена орієнтовна реакція, посилювалося рухове занепокоєння та додаткове випадкове замикання контактів електричного ланцюга зосереджувало тварину біля педалі. У результаті багаторазових натискань тварина закріплювала навичку до самостимуляції. Реєстрацію частоти реакції самостимуляції вентролатерального гіпоталамуса (ЧРСС) здійснювали щоденно протягом чотирьох діб, а також на сьому добу після її відміни (стан депривації).

Частоту реакції самостимуляції вентролатерального гіпоталамуса реєстрували за допомогою автоматичного лічильника (тривалість посилання одного імпульсу складала 0,5 с, електричний струм прямокутної форми, частотою 50 Гц, силою від 50 до 100 мкА) за кожні 5-хвилинні інтервали протягом 60 хвилин.

Електричну активність мозку (ЕЕГ) тварин реєстрували за допомогою діагностичного комплексу «Нейрон-спектр+». Візуальний та спектральний аналіз ЕЕГ проводили з використанням програмного забезпечення «Нейрон-спектр.NET». Оцінювали абсолютну спектральну щільність потужності сигналу ритмів таких частотних діапазонів: дельта (від 0,5 до 4,0 Гц), тета (від 4,0 до 7,0 Гц), альфа (від 8,0 до 12,0 Гц), бета низької частоти (від 14,0 до 20,0 Гц).

Вимір систолічного артеріального тиску здійснювали електрографічним методом із хвостової артерії щурів за допомогою графітного датчика, ртутного манометра ПМР із реєстрацією пульсової хвилі на екрані осцилографа С1-93 (Pinelis, 1982). Артеріальний тиск вимірювали до та після формування залежності від отримання інтенсивних позитивних емоцій.

Пороги больової чутливості реєстрували, подразнюючи лапки тварини в камері з металевою підлогою, до якої подавався електричний струм силою від 1 до

45 мкА, із поступовим нарощуванням електроструму до появи перших ознак посіпування лапок.

Статистичну обробку результатів дослідження для визначення вірогідності відмінностей між групами порівняння проводили за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона в пакеті програм Statistica 6.0.

Результати

У ході навчання реакції самостимуляції виділено тварин із високим рівнем потреби в отриманні позитивних емоцій. Частота реакції самостимуляції у цих щурів складала від 400 до 600 натискань за 5 хвилин.

Початок самостимуляції характеризувався інтенсивним натисканням на педаль, активацією орієнтовно-дослідних реакцій, посиленням рухових актів, а також пароксизмальними проявами дихання та збільшенням частоти серцевих скорочень. Уже за перші 5 хв частота самостимуляції складала – 331,0 ± 41,8 натискання на педаль (рис. 1). У цих щурів спостерігалося поступове зростання ЧРСС протягом 60 хв. За перші 30 хв частота реакції самостимуляції у середньому досягла 462,2 ± 53,2 натискання, за другі 30 хв вірогідно ($P < 0,05$) зросла та склала у середньому 542,5 ± 60,6 натискання (рис. 1), що було показником зростаючого збудження нейронів вентролатерального гіпоталамуса. У перший день самостимуляції середні значення ЧРСС у щурів склали 502,0 ± 56,2 натискання.

Самостимуляція у деяких щурів супроводжувалася облизуванням педалі, що ймовірно зумовлено іррадіацією збудження нейронів гіпоталамуса на центр спраги та насичення від їжі гіпоталамуса. Проявами емоційного задоволення після сеансу самостимуляції позитивних емоціогенних зон гіпоталамуса виявилися реакції позитивного грумінгу або «релаксація» щурів, що свідчили про емоційне насичення позитивних емоціогенних зон мозку.

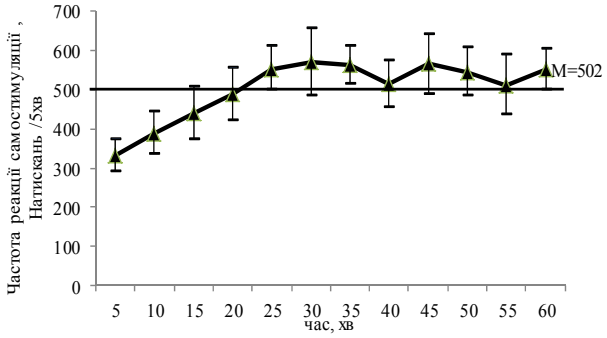


Рис. 1. Динаміка вихідної ЧРСС вентролатерального гіпоталамуса у щурів із високим рівнем потреби у позитивному емоційному підкріпленні: М – середні значення ЧРСС по групі

Перший сеанс ЧРСС у щурів викликав деякі перебудови електричної активності. Тільки в гіпоталамусі змішана активність замінилася синхронізованим тета-ритмом із частотою від 4 до 8 Гц та амплітудою 126 мкВ (у 60% щурів), а в інших тварин стала жвавішою в неокортексі та гіпокампі (у 40% щурів) (рис. 2, 3). З'явилися гострі розряди в неокортексі, а в гіпоталамусі представленість високочастотних ритмів зросла.

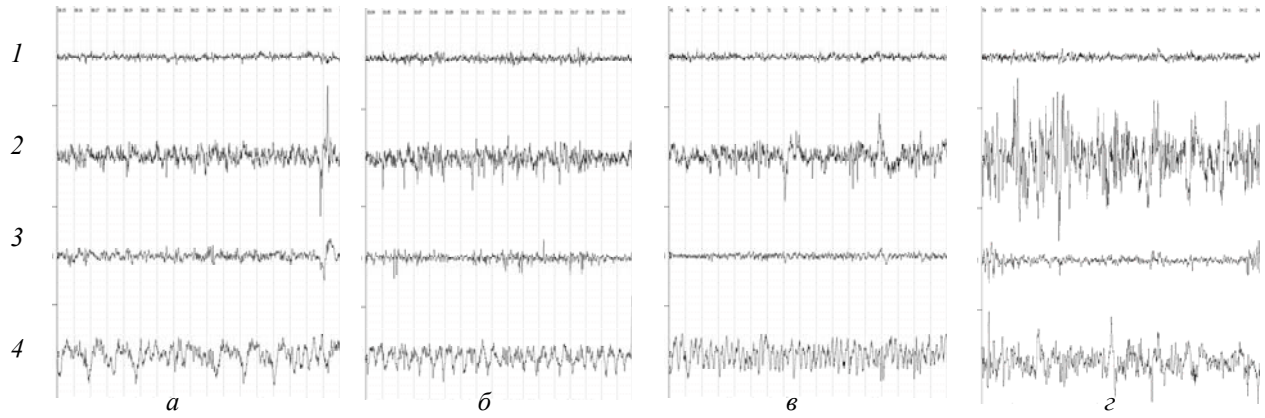


Рис. 2. Динаміка електричної активності мозку щура 19 із початково високою емоційною активністю під час самостимуляції вентролатерального гіпоталамуса: *а* – фонова активність, *б* і *в* – після першої та четвертої доби самостимуляції, *г* – відміна самостимуляції протягом семи діб; *1* – неокортекс, *2* – гіпокамп, *3* – гіпоталамус, *4* – ретикулярна формація

За даними спектрального аналізу основних ритмів ЕЕГ виявлено вірогідне ($P < 0,05$) підвищення порівняно з фоном значень абсолютної спектральної потужності дельта- і тета- коливань у гіпоталамусі (рис. 4*в*). Спектральна потужність альфа-ритму вірогідно ($P < 0,05$) зростала порівняно з фоном у всіх досліджуваних структурах, окрім ретикулярної формації (рис. 4*а*, *б*, *в*). Подальші сеанси самостимуляції (друга, третя та четверта доби) характеризувалися у 40% тварин збереженням частотних показників у межах 416,0 ± 21,8 натискання, а в решти 60% тварин – вірогідним ($P < 0,05$) підвищенням ЧРСС до 749,4 ± 21,4 натискання порівняно з першою добою отримання позитивних емоцій (рис. 5*а*, *в*). Загалом по групі відбувалося вірогідне ($P < 0,05$) підвищення ЧРСС, яка складала 654,0 ± 59,7 натискання порівняно з першою добою – 502,0 ± 56,2 натискання (рис. 5*б*). Реакція самостимуляції здійснювалася з посиленням механізмів емоційної пам'яті. Тварина, яку утримували в камері Скінера, миттєво починала стимулювати мозок. Реакція самостимуляції відбувалася інтенсивно, безпере-

рвно, монотонно, без пауз і відпочинку. Зовнішні подразники не відволікали щурів від процесу самостимуляції.

На четверту добу дослідження тиск вірогідно (P < 0,05) зростав і склав 34,3 ± 4,3 кПа порівняно із фоном (18,0 ± 1,7 кПа), що підтверджувало активацію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової симпатоадреналової системи. Пороги больових реакцій зросли, але не достовірно. Маса щурів вірогідно (P < 0,05) знизилася до 230,0 ± 19,6 г порівняно з фоном 265,0 ± 20,9 г, що, можливо, є показником сенсорного насичення гіпоталамічних нейронів харчового центру внаслідок іррадіації збудження або гормональної метаболічної активації обміну протеїнів для забезпечення моторики інструментального рефлексу самостимуляції.

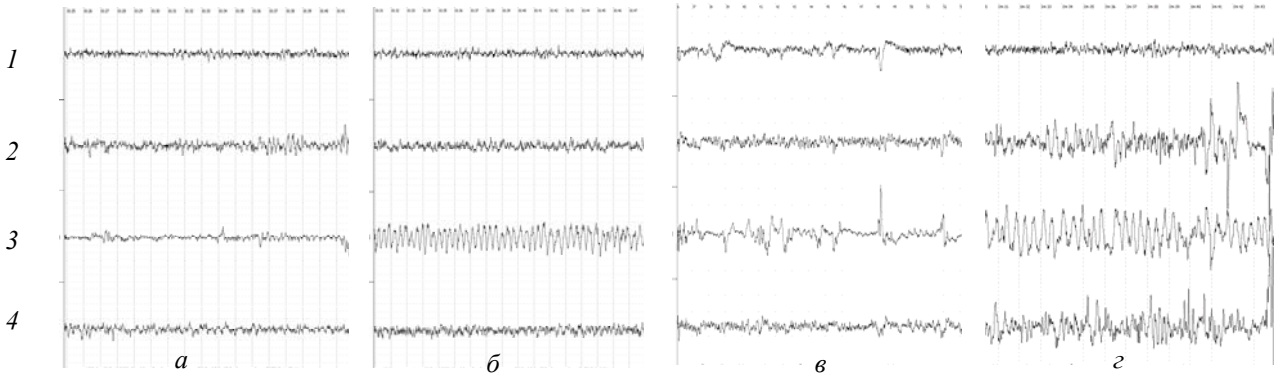


Рис. 3. Динаміка електричної активності мозку щура 20 із початково високою емоційною активністю під час самостимуляції вентролатерального гіпоталамуса: *а* – фонова активність, *б* і *в* – після першої та четвертої доби самостимуляції, *г* – відміна самостимуляції протягом семи діб; *1* – неокортекс, *2* – гіпокамп, *3* – гіпоталамус, *4* – ретикулярна формація

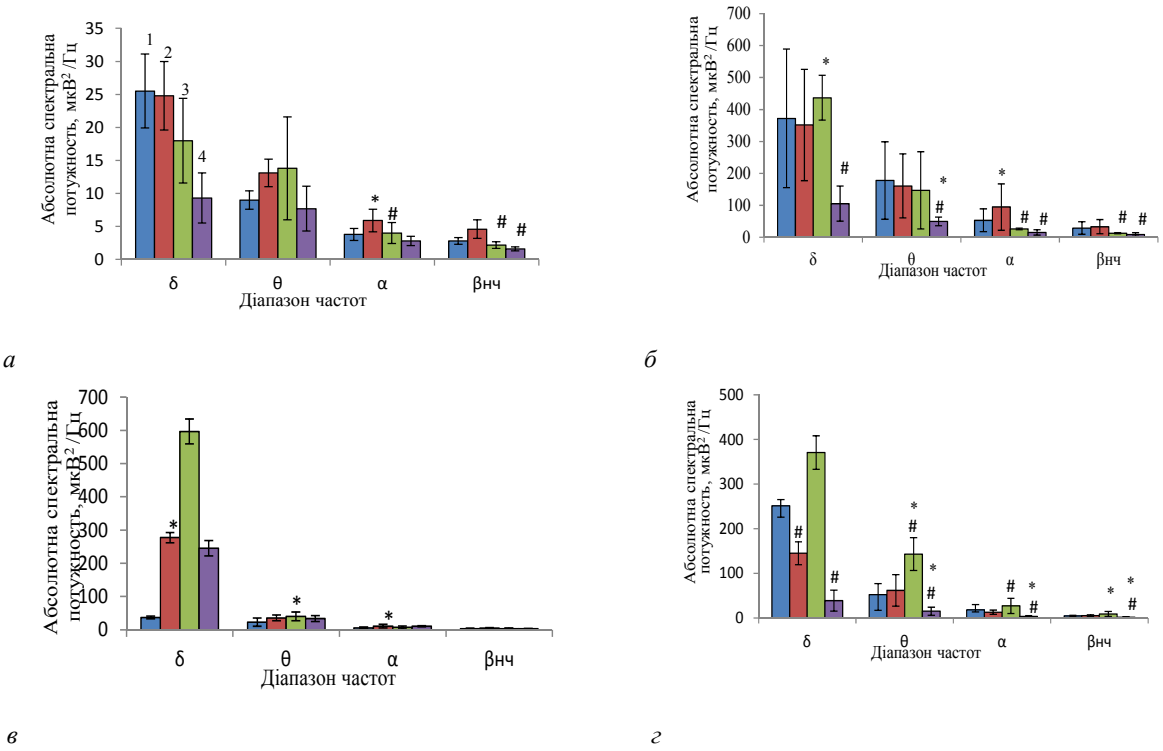


Рис. 4. Динаміка абсолютної спектральної потужності біопотенціалів електричної активності мозку у щурів із високим рівнем потреби в позитивному емоційному підкріпленні: * – P < 0,05 порівняно з фоном; # – P < 0,05 порівняно з першою добою самостимуляції; *а* – неокортекс, *б* – гіпокамп, *в* – гіпоталамус, *г* – ретикулярна формація, ряд 1 – фонова активність, ряд 2 і 3 – після першої та четвертої доби самостимуляції, ряд 4 – відміна самостимуляції впродовж семи діб

На четверту добу експерименту у 60% тварин відбувалася перебудова частотно-амплітудного спектра у бік значного збільшення високоамплітудних високочастотних хвиль у діапазоні альфа- (від 8 до 14 Гц із максимальною амплітудою 274 мкВ), бета- (від 14 до 20 Гц із максимальною амплітудою 122 мкВ), з'являлися численні гострі розряди, пік-тета, пік-дельта (рис. 3*в*). У решти 40% тварин відмічали також збільшення кількості високочастотних альфа-хвиль (від 8 до 14 Гц з амплітудою 231 мкВ) переважно в гіпокампі, гострих розрядів, відбувалася трансформація повільнохвильової активності в ретикулярній формації у більш швидку регулярну актив-

ність у діапазоні альфа – тета 4,8 Гц із максимальною амплітудою 318 мкВ із переважанням тета-активності (рис. 2*в*). Усе це свідчило про розгальмування мозку з наростанням процесів збудження. Як показують результати нейрофізіологічних досліджень, у тварин формувалася залежність від отримання позитивних емоцій внаслідок реакції самостимуляції вже на четверту добу.

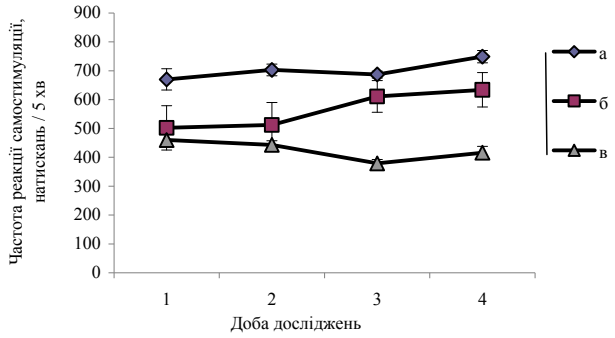


Рис. 5. Динаміка ЧРСС заднього вентролатерального гіпоталамуса у щурів із високим рівнем потреби в позитивному емоційному підкріпленні:
а – ЧРСС вентролатерального гіпоталамуса щурів з її вірогідним підвищенням; *б* – ЧРСС вентролатерального гіпоталамуса (загальна група); *в* – ЧРСС вентролатерального гіпоталамуса щурів без її вірогідного підвищення

У стані відміни самостимуляції вентролатерального гіпоталамуса емоційна поведінка щурів була різноманітною. В одних тварин формувалися реакції агресивної спрямованості: підвищена рухова активність із судомними обтрушуваннями, скрегіт зубів, негативний грумінг, що підтверджується літературними даними (Ferguson, 2015; Zinkiewicz, 2015; Blasco-Fontecilla, 2016). В інших формувалися реакції тривожно-фобічної спрямованості: реакції страху, тварини забивалися в куток клітки, що супроводжувалося сильним вегетативним забезпеченням, численними актами дефекації та сечовипускання; відзначалося зниження рухової активності, зростання внутрішньої напруги.

На сьому добу відміни отримання позитивних емоцій у 40% щурів відбувалося посилення судомної активності в гіпокампі, пригнічення електрогенезу в гіпоталамусі та заміна повільнохвильової активності в ретикулярній формації на високочастотні ритми в діапазоні альфа – тета або домінування низькоамплітудного високочастотного бета-ритму (рис. 2*г*). У решти 60% щурів активність у ретикулярній формації змінювалася на бета-ритм із максимальною амплітудою 42 мкВ, що стало ознакою гіперзбудливості, яка спричинює перенапруження нервових процесів, зумовлюючи наростання тривожності – показника позбавлення позитивного емоціогенного підкріплення (рис. 3*г*). За даними спектрального аналізу основних ритмів ЕЕГ, у результаті відміни ЧРСС протягом семи діб виявлено вірогідне ($P < 0,05$) зниження дельта-, тета-, альфа- та бета-діапазонів у гіпокампі та ретикулярній формації порівняно з першою та четвертою добою самостимуляції (рис. 4*б*, *г*). Артеріальний тиск знижувався до 14,0 ± 3,3 кПа, наближаючись до фонових значень. Маса тварин практично не змінювалася, а пороги больових реакцій знижувалися до фонових значень.

Обговорення

Як відомо з літературних даних, вживання хімічних речовин, спрямованих на стимуляцію та підтримання високого рівня позитивних емоцій, зумовлює формування адитивної поведінки, для якої характерні прагнення до пошуку психоактивної речовини, ейфорія, толерантність і синдром відміни (Koob, 2010; Vorobyeva, 2010; Anokhina, 2013; Artemchuk, 2013). Синдром відміни не залежно від фази його розвитку також може супроводжуватися агресивними проявами. У праці Р.В. Басалієва показано, що в опійних і героїнових наркоманів у стані відміни у більшості випадків відмічались напруженість, агресивність до оточуючих, озлобленість, схильність до руйнування (Bisaliev, 2004; Antilogova, 2014; Fedotov, 2016).

Результати наших досліджень показали, що поведінкові та електрографічні характеристики синдрому відміни позитивного емоційного підкріплення у щурів залежали від функціональної активності універсального апарату оцінки емоційного реагування, тобто емоційні системи мозку працювали на виході в різних режимах, за різними програмами. В одних щурів із реалізацією програми фобічної спрямованості, реакціями страху, які супроводжувалися сильним вегетативним забезпеченням (численні акти дефекації, сечовипускання), відмічалося зниження рухової активності, підвищення внутрішнього напруження, що відображалося на ЕЕГ наростанням бета-ритму переважно в ретикулярній формації мозку. В інших щурів агресивна спрямованість, яка характеризувалася підвищенням загальної збудливості, посиленням рухової активності та судомних обтрушувань, скреготом зубів, негативним грумінгом, підвищенням агресивності, корелювала із судомною електричною активністю.

Висновки

Формування залежної поведінки від отримання інтенсивних емоцій внаслідок самостимуляції позитивних зон вентролатерального гіпоталамуса зумовлене початково високим рівнем потреби в отриманні позитивного емоційного підкріплення та його подальшим зростанням у процесі реалізації потягу та пов'язане з активацією механізмів емоційної пам'яті, змінами електрогенезу в гіпокампі та ретикулярній формації у вигляді зниження спектральної потужності ритмів альфа- та бета-діапазонів, посилення спектральної потужності біопотенціалів дельта-діапазону в гіпокампі і тета- – в ретикулярній формації з вираженими проявами компонентів судомної та пароксизмальної активності, підвищенням активності симпатоадреналової системи. Стан відміни отримання позитивних емоцій зумовлений в одних щурів із реалізацією програми фобічної спрямованості з наростанням бета-ритму переважно в ретикулярній формації мозку, а в інших – агресивною спрямованістю, яка характеризувалася посиленням судомної електричної активності в гіпокампі, пригніченням електрогенезу в гіпоталамусі та замі-

ною повільнохвильової активності в ретикулярній формації на високочастотні ритми в діапазоні альфа – тета.

Бібліографічні посилання

Anokhina, I.P., 2013. Osnovnye biologicheskie mehanizmy zavisimosti ot psihoaktivnyh veshhestv [The basic biological mechanisms of dependence on psychoactive substances]. Voprosy Narkologiji 6, 40–59 (in Russian).

Antilogova, L.N., Lazarenko, D.V., 2014. Psihologicheskie osobennosti addiktivnogo povedenija studentov [Psychological characteristics addictive behavior of students]. Psihopedagogika v Pravoohranitel'nyh Organah 57, 42–46 (in Russian).

Artemchuk, A.F., Sosin, I.K., Chernobrovkina, T.V., 2013. Jekologicheskie osnovy komorbidnosti addiktivnyh zabolevanij [Ecological bases of comorbidity addictive diseases]. Kollegium, Kharkov (in Ukrainian).

Bisaliev, R.V., Velikanova, L.P., Grishina, E.I, 2004. Agressija v strukture boleznej patologicheskoj zavisimosti [Aggression in the structure of diseases of pathological dependence]. Narkologija 5, 46–49 (in Russian).

Blasco-Fontecilla, H., Fernández-Fernández, R., Colino, L., Fajardo, L., Perteguer-Barrio, R., 2016. The addictive model of self-harming (non-suicidal and suicidal) behavior. Front. Psychiatry 7, 8.

Buresh, Y., Petran, M., Zakhar, I., 1962. Jelektrofiziologicheskie metody issledovanija [Electro-physiological methods of research]. Izdatel'stvo Inostrannoj Literatury, Moscow (in Russian).

Choi, J., Kim, J., Lee, D.K., Jang, K.S., Kim, D.J., Choi, I.Y., 2016. The oauth 2.0 web authorization protocol for the internet addiction bioinformatics (IABio) database. Genomics Inform. 14(1), 20–28.

Dimitrijević, I., Popović, N., Sabljak, V., Škodrić-Trifunović, V., Dimitrijević, N., 2015. Food addiction-diagnosis and treatment. Psychiatr. Danub. 27(1), 101–106.

Fedotov, I.A., Shustov, D.I., 2016. Fenomen privjazannosti k roditeljam, dlitel'nost' terapevticheskih remissij i autoagressivnoe povedenie u pacientov s alkogol'noj zavisimost'ju [The phenomenon of attachment to parents, the duration of therapeutic remissions and auto aggressive behavior among inpatients with alcohol addiction]. Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii im. S.S. Korsakova 116(1), 90–93.

Ferguson, C.J., 2015. Do angry birds make for angry children? A meta-analysis of video game influences on children's and adolescents' aggression, mental health, prosocial behavior, and academic performance. Perspectives on Psychological Science 10(5), 646–666.

Garbuzova, S.M., 1998. Tryvale samostymuljuvannja emociogennyh zon gipotalamusu – model' endogennoi' narkotyzacii' [Long self-stimulation emotiogenic areas of the hypothalamus – a model of endogenous narcotization]. Fiziol. Zh. 44(3), 27 (in Ukrainian).

Goodman, J., Packard, M.G., 2016. Memory systems and the addicted brain. Front. Psychiatry 7, 24.

Joyner, M.A., Gearhardt, A.N., White, M.A., 2015. Food craving as a mediator between addictive-like eating and problematic eating outcomes. Eat. Behav. 19, 98–101.

Koob, G.F., Volkow, N.D., 2010. Neurocircuitry of addiction. Neuropsychopharmacology 35(1), 217–238.

Kotov, A.V., 2008. Puskovye mehanizmy realizacii nekotoryh form addiktivnogo povedenija v jeksperimente [Trigger mechanisms of realization of some forms of addictive behavior in the experiment]. Funkcional'nye sistemy organizma v norme i pri patologii. Minsk. 267–271 (in Russian).

Kovács, E., Pikó, B., 2015. Study on religious addiction as a potential novel type of behavioral addiction in an adolescent population. Orv. Hetil. 156(18), 731–740.

Liu, H.C., Liu, S.I, Tjung, J.J., Sun, F.J., Huang, H.C., Fang, C.K., 2016. Self-harm and its association with internet addiction and internet exposure to suicidal thought in adolescents. J. Formos. Med Assoc. doi: 10.1016/j.jfma.2016.03.010.

Murik, S.J., 2010. O nejronal'nom mehanizme reakcii samostimuljacii lateral'nogo gipotalamicheskogo jadra [About the neuronal mechanism of lateral hypothalamic center self-stimulation response]. Izvestija Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta Serija Biologija Jekologija 3(2), 65–74 (in Russian).

Nathan, D., Shukla, L., Kandasamy, A., Benegal, V., 2016. Role play addiction – a comorbidity with multiple compulsive-impulsive spectrum disorders. J. Behav. Addict. 5(2), 373–377.

Olds, J., Milner, P., 1954. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. J. Comp. Physiol. Psychol. 47(6), 419–427.

Pinelis, V.G., Vakulin, T.P., Kozlov, A.V., 1982. Sostoyanie rezistivnyih sosudov konechnostey kryis s nasledstvenno obuslovlennoy gipertenziey [The state of resistive vessels of the limbs of rats with hereditary hypertension]. Byulleten Eksperimentalnoy Biologii i meditsinyi 94(10), 31–36.

Sergienko, N.G., 1992. Kompleksnyj podhod k ocenke sostojanija sistemy jemocional'nogo podkreplenija na osnove vegetativnyh pokazatelej [An integrated approach to assessing the state of the system of emotional reinforcement on the basis of vegetative indicators]. Biologicheski aktivnye veshhestva i reguljacija funkcij mozga. Izdatelstvo Gorod, Khmelnitskij. P. 78–82 (in Ukrainian).

Sheynin, J., Moustafa, A.A., Beck, K.D., Servatius, R.J., Casbolt, P.A., Haber, P., Elsayed, M., Hogarth, L., Myers, C.E., 2016. Exaggerated acquisition and resistance to extinction of avoidance behavior in treated heroin-dependent men. J. Clin. Psychiatry 77(3), 386–394.

Sudakov, K.V., 2006. Motivacija i podkreplenie: Sistemnye nejrofiziologicheskie mehanizmy [Motivation and reinforcement: System neurophysiological mechanisms]. Vestnik Novgorodskogo Gosudarstvennogo Universiteta imeni Jaroslava Mudrogo 35, 77–81 (in Russian).

Vorobyeva, T.M., 2004. Neyrobiologiya vtorichno priobretennyih motivatsiy [Neurobiology of secondary-acquired motivations]. Mezhdunarodnyiy Meditsinskiy Zhurnal 8(1), 211–217 (in Russian).

Vorobyeva, T.M., 2004. Priroda, faktory i mehanizmy formirovanija zavisimosti ot psihoaktivnyh soedinenij [Nature, factors, and mechanisms of formation of addiction with respect to psychoactive compounds]. Narkologija 1, 34–39 (in Russian).

Vorobyeva, T.M., 2010. Haoticheskaja nejrodinamika mozgovoj sistemy pozitivnogo podkreplenija i ee znachenie v mehanizmah vtorichno priobretennyh motivacij [Chaotic neurodynamics brain system of positive emotional support and its iplace in the mechanisms of acquired motivations]. Narkologija 7, 48–54 (in Russian).

Vorobyeva, T.M., Garbuzova, S.N., Sergienko, N.G., 1993. Konceptual'naja model' shodstva i razlichija formirovanija narko- i toksikomanij [Conceptual model of the similarities and differences in the formation of drug and substance abuse]. Ukraïns'kij Visnik Psihonevrologii 1, 28–32 (in Ukrainian).

Vorobyeva, T.M., Voloshin, P.V., Pajkova, L.N., 1993. Nejrobiologija patalogicheskih vlechenij: Alkogolizma, toksiko-, narkomanij [Neurobiology of pathological addiction: Alcoholism, toxicological, drug addiction]. Osnova, Kharkiv (in Ukrainian).

Zinkiewicz, L., Smith, G., Burn, M., Litherland, S., Wells, S., Graham, K., Miller, P., 2015. Aggression-related alcohol expectancies and barroom aggression among construction trades people. Drug Alcohol Rev. 35(5), 549–556.

Надійшла до редколегії 27.05.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 276–282.

doi:10.15421/011635

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 551.468.3(262.5)

Трофическая структура сообщества обрастания Одесского залива Черного моря

А.Ю. Варигин

Институт морской биологии НАНУ, Одесса, Украина

Определена трофическая структура прибрежного сообщества обрастания Одесского залива Черного моря. Рассмотрены спектры питания входящих в него видов и основные трофические связи между ними. Отмечена минимизация межвидовой пищевой конкуренции внутри сообщества. Определены основные источники поступления пищевого материала в сообщество обрастания. Значительная часть пищи в виде детрита, растворенного органического вещества и мелких планктонных организмов попадает в сообщество из водной толщи. Фильтрационная деятельность мидий и других сестонофагов способствует привлечению пищевого материала в сообщество. Первичными продуцентами в сообществе выступают макро- и микрофиты, которые развиваются за счет своей фотосинтетической активности и обеспечивают пищевые потребности растительноядных животных. Виды, относящиеся к трофической группе детритофагов, потребляют различные фракции детрита, накапливающегося среди переплетений биссусных нитей двустворчатых моллюсков. При этом друзы мидий выступают в роли седиментационной ловушки, собирающей детрит. Представители небольшой группы плотоядных по численности составляют около 1%, а по биомассе – менее 0,6% от общих показателей по сообществу. В качестве консументов в сообществе обрастания выступают рыбы, обитающие среди зарослей макрофитов. Выявлена центральная роль вида-эдификатора *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 в пищевых взаимоотношениях между организмами, входящими в состав сообщества обрастания. В сообществе обрастания наибольшей относительной численности достигают представители сестонофагов и полифагов (36,6%), а биомассы – сестонофагов (97,7%). Индекс однообразия пищевой структуры сообщества составляет 0,94, что подтверждает значительное преобладание по биомассе двустворчатых моллюсков над другими видами сообщества.

Ключевые слова: беспозвоночные животные; пищевые связи; детритофаги; сестонофаги; полифаги

Trophic structure of the fouling community in Odessa Bay (Black Sea)

A.Y. Varigin

Institute of Marine Biology of NASU, Odessa, Ukraine

The trophic structure of the coastal fouling community of Odessa Bay (Black Sea), which was composed of 10 species of macrophytes, 57 invertebrate species and 4 species of fish, was determined. The basic trophic relationship between organisms composing the community is shown. A minimization of interspecific trophic competition within the community is noted. The main sources of food material entering the fouling community were determined. We show that a significant proportion of food in the form of detritus, dissolved organic matter and small planktonic organisms enters the community from the water column. Filtration and pumping activity of sestonophage-organisms, particularly mussels, helps to attract food material to the community. Primary producers of the community are macrophytes and microphytes, which develop on account of their photosynthetic activity and ensure the provision of food to herbivores. The trophic group of detritophages consumes different fractions of the detritus which accumulates in the byssus threads of bivalve molluscs. In this context, mussel druses act as sediment traps, collecting detritus. Numerous polyphages, which are essentially omnivores and do not usually lack food material, were noted in the community. A small group of carnivorous invertebrates, whose representatives actively attack small animals, was identified. The abundance of these species in the community was about 1%, and their biomass less than 0.6%. Fish living in macrophyte weeds are the consumers in the community. We determined that the highest relative abundance (over 36%) in the fouling community was reached by sestonophages and polyphages. We found that the undisputed leader in the relative biomass (over 97%) in the fouling community of Odessa

Институт морской биологии НАНУ, ул. Пушкинская, 37, Одесса, 65011, Украина
Institute of Marine Biology of NASU, Pushkinskay Str., 37, Odessa, 65011, Ukraine
Tel.:+38-048-725-09-18. E-mail: sealife_1@mail.ru

Bay was the sestonophages (mainly composed of mussels). We determined that the trophic structure index of the community was 0.94, which confirms the significant dominance in biomass of bivalves over other species in the fouling community.

Keywords: invertebrate animals; trophic relationship; detritophages; sestonophages; polyphages

Введение

Наличие пищевых ресурсов является ведущим экологическим фактором, от которого зависит жизнедеятельность организмов в морской среде. Качество, количество и степень доступности пищи определяют способы ее добычи, выражающиеся в соответствующих адаптациях отдельных видов (Neiman and Karpinsky, 2013). Трофические взаимоотношения этих видов обычно относятся к важнейшим биоценотическим связям внутри любого сообщества (Protasov, 2011). От того, как распределяются и расходуются доступные пищевые ресурсы в сообществе, зависит рост, развитие и репродукция входящих в него членов (Burkovsky, 2006).

Прибрежное сообщество обрастания, как, впрочем, и другие биологические системы, может нормально функционировать и развиваться лишь при наличии внешнего источника вещества и энергии (Alimov, 2000). Для двустворчатого моллюска мидии *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819, поселения которого на твердом субстрате обычно выступают в качестве основы сообщества, таким источником является окружающая водная среда (Aleksandrov, 2008). Все обменные процессы, включая дыхание, питание и выделение, происходят в организме этого моллюска за счет работы вододвижительной системы, с помощью которой вода, содержащая кислород и пищевые элементы, прокачивается через специализированные органы животного (Govorin and Shatsillo, 2010). В этом смысле мидия, как и другие митилиды, трофически полностью зависит от состава и количества пищевых частиц, содержащихся в воде (Zaika et al., 1990).

Процесс добывания пищи у неподвижных сестонофагов, к которым относятся митилиды, происходит как с помощью собственной фильтрационной активности, так и за счет движения водных масс, интенсивность которого в прибрежной зоне моря зависит от конкретной гидрометеорологической ситуации. В природных водоемах вода постоянно находится в движении, что способствует как притоку пищи и кислорода к прикрепленным видам, так и отведению продуктов их метаболизма. Действие этого фактора на водные организмы по своему значению сопоставимо с влиянием света и температуры (Moshhenko, 2006).

В сообществе обрастания мидии являются важнейшими организмами-эдификаторами потому, что в процессе роста и развития они модифицируют характерные свойства твердого субстрата, на котором поселяются (Borthagaray and Carranza, 2007). В результате их средообразующей деятельности в сообществе обрастания создаются благоприятные условия для обитания более мелких организмов (Commito and Rusignuolo, 2000). Мидии, развиваясь на твердом субстрате, преобразуют среду, повышая уровень ее гетерогенности и увеличивая разнообразие доступных местообитаний (Jones et al., 1994; Jones et al., 1997). Такое возрастание экотопического разнообразия обычно влечет за собой увеличение видового богатства сообщества обрастания (Tsuchiya and Nishihira, 1985; Wright et al., 2002). Кроме того, мидии, являясь мощными биофильтраторами, обеспечивают транспорт пищевого материала из окружающей водной среды, создавая благоприятные трофические условия для других организмов сообщества обрастания (Frechette et al, 1989; Gutierrez et al., 2003). В итоге отношения между видом-эдификатором и связанными с ним организмами в значительной мере отражаются на особенностях трофической структуры сообщества обрастания (Ragnarsson and Raffaelli, 1999; Cummings et al., 2001).

Цель работы состояла в определении трофической структуры прибрежного сообщества обрастания Одесского залива Черного моря, включая выявление источников поступления пищевого материала в сообщество и выяснение характера трофических связей между организмами, входящими в его состав.

Материал и методы исследований

Материал собирали с подводной поверхности бетонных берегозащитных сооружений, расположенных у берегов Одесского залива. Пробы отбирали ежемесячно с января по декабрь 2015 г. в районе с координатами 46°28,092’ N, 30°45,845’ E. Всего собрано 36 проб. При этом использовали металлическую рамку размером 20 × 20 см, обтянутую мельничным газом. Содержимое каждой рамки промывали через систему почвенных сит с минимальным размером ячеи 0,5 мм. Отобранных представителей сообщества обрастания идентифицировали до вида, подсчитывали и взвешивали. При описании их количественных параметров использовали общепринятые показатели численности (N, экз./м^2) и биомассы (B, г/м^2). При выделении трофических групп использовали литературные данные по спектрам питания отдельных видов. Для оценки степени сложности трофических взаимодействий в сообществе обрастания применяли индекс однообразия его пищевой структуры (Kiseleva, 1981).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований в составе сообщества обрастания Одесского залива обнаружено 10 видов макрофитов, относящихся к отделам Chlorophyta, Rhodophyta и Phaeophyta. Все они входили в группу первичных продуцентов сообщества. Как показал анализ ежемесячных проб, для этих макрофитов характерен сезонный цикл развития. В теплый период года в сообществе обрастания наиболее массово были представлены такие виды зеленых водорослей как *Ulva intestinalis* L., 1753, *Cladophora laetivirens* (Dillwyn) Kutz, 1843, *Bryopsis plumosa* (Huds.) C. Agardh, 1823. Среди красных водорослей в это время наиболее распространенными были *Ceramium rubrum* Auct. Rrauss, 1846, *Callithamnion corymbosum* (Sm.) Lyngb., 1819, *Lomentaria clavellosa* (Turn.) Gail., 1863, а среди бурых – *Ectocarpus siliculosus* (Dillwyn) Lyngb., 1819 и *Scytosiphon lomentaria* (Lyngb.) Link., 1833. В холодный период года среди

красных водорослей доминировали *Porphyra leucostica* Thur, 1863, а среди зеленых – *Urospora penicilliformis* (Roth) Aresch., 1874.

Причем каждый из этих видов макрофитов образует массовые скопления на определенной глубине, что связано с особенностями проникновения солнечных лучей в толщу морской воды (Bolshakov and Bolshakov, 2010). *U. intestinalis* и *U. penicilliformis* предпочитают прикрепляться у самой поверхности воды, образуя на субстрате горизонтальную полосу шириной около 0,5 м. Чуть глубже развиваются *B. plumosa*. Самой теневыносливой из зеленых водорослей является *C. laetivirens*. Красные и бурые водоросли часто прикрепляются к раковинам мидий, которые, в свою очередь, прочно закрепляются на субстрате с помощью многочисленных биссусных нитей. Талломы этих макрофитов в условиях прибрежного сообщества обрастания обычно в той или иной степени покрываются эпифитными микроводорослями (Homova, 2009). Кроме того, эти микроэпифиты, ведущая роль среди которых принадлежит диатомовым водорослям, покрывают все доступные им поверхности, включая раковины двустворчатых моллюсков, а также свободные участки субстрата (Rachinska and Polchenko, 2001).

В составе прибрежного сообщества обрастания Одесского залива также обнаружено 57 видов беспозвоночных, принадлежащих к 13 таксонам. По способу питания виды, обитающие в сообществе обрастания, принадлежат к пяти трофическим группам: сестонофагов, детритофагов, фитофагов, плотоядных и полифагов. При этом в группу полифагов входило наибольшее в процентном отношении число видов. Более чем в два раза меньше видов было в группах сестонофагов, детритофагов и фитофагов. Самой малочисленной по количеству видов была трофическая группа плотоядных (рис.).

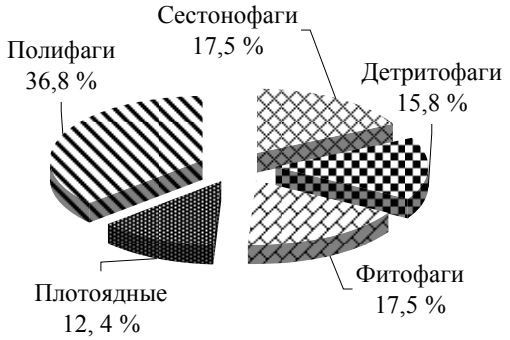


Рис. Процентное соотношение трофических групп беспозвоночных сообщества обрастания Одесского залива Черного моря по числу входящих в них видов

Среди обнаруженных в пробах беспозвоночных в количественном отношении преобладали мидии, численность которых в отдельных случаях превышала 10 320 экз./м^2, а биомасса – 7 035 г/м^2. Мидия как руководящий вид прибрежного сообщества обрастания играет важнейшую роль в системе трофических связей между организмами, входящими в его состав (Railkin, 2008). Прежде всего это связано со способом питания этих неподвижных сестонофагов, который состоит в привлечении пищевых частиц извне за счет интенсивной фильтрации окружающей морской воды. Таким образом, основная часть пищевых ресурсов поступает в сообщество обрастания в результате фотосинтетической деятельности макрофитов, а также за счет фильтрационной активности двустворчатых моллюсков.

В состав пищи *M. galloprovincialis* помимо частиц детрита и растворенного органического вещества обычно входят те планктонные микроводоросли, которые наиболее массово представлены в окружающих водах (Zaika et al., 1990). В зависимости от сезона года в черноморском фитопланктоне преобладают диатомовые, перидиниевые, золотистые и зеленые водоросли. Также в состав пищевого комка мидий часто входят бактерии, инфузории, нематоды и планарии (Senicheva, 1990). Кроме того, в пищеварительной системе черноморских мидий встречаются личинки двустворчатых и брюхоногих моллюсков, а также науплиальные стадии веслоногих ракообразных (Cihon-Lukanina et al., 1998).

К другим представителям сестонофагов сообщества обрастания относятся двустворчатый моллюск *Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1791) и усоногий рак *Amphibalanus improvisus* (Darwin, 1854). По способу питания митилястер, так же как и мидия, является активным фильтратором. Однако по своим размерам он на порядок меньше руководящего вида сообщества. Соответственно в спектр его питания входят более мелкие пищевые частицы, чем те, которые потребляет мидия. Молодь митилястера обычно активно оседает среди друз мидий, предпочитая в качестве субстрата их биссусные нити. Под покровом более крупных моллюсков молодые митилястеры находят для себя благоприятные условия для противостояния гидродинамическому воздействию водных масс (Zaika et al., 1990).

Личинки *A. improvisus* обычно массово оседают на твердые субстраты, подходящие для их метаморфоза и дальнейшего развития. В условиях сообщества обрастания, основу которого составляют плотные поселения мидий, личинки усоногих ракообразных вынуждены оседать непосредственно на внешнюю поверхность раковин моллюсков. При этом домики *A. improvisus* часто располагаются в районе заднего края раковины мидий в непосредственной близости от сифонов их вододвигательной системы. Происходит это потому, что мидии в поселениях группируются в друзы, в которых все моллюски располагаются таким образом, чтобы их сифоны были направлены в сторону окружающей водной толщи. Прикрепляются мидии к субстрату с помощью своих биссусных нитей, в результате чего передние части их раковин плотно соприкасаются друг с другом. Благодаря этим структурным особенностям мидиевых друз относительно доступными для оседания личинок усоногих ракообразных остаются только задние части раковин моллюсков.

Такое расположение домиков *A. improvisus* на поверхности раковин мидий обусловлено особенностями их способа питания, который состоит в активном выхватывании пищевых частиц из окружающей водной среды с помощью машущих движений специализированного ловчего аппарата. При этом ракообразные используют микроциркуляции воды, создаваемые мидиями в процессе фильтрации. Возможность захвата добычи при таком способе питания значительно возрастает при микровихревых движениях воды (Moshhenko, 2006). Размеры балянуса сопоставимы с размерами митилястера, то есть он также в этом отношении уступает мидии на порядок.

По-видимому, мидия относится индифферентно к присутствию этих двух сестонофагов в своем ближайшем окружении, так как они не в состоянии составить для нее значимую трофическую конкуренцию (Zaika et al., 1990).

Таким образом, эти сестонофаги, значительно уступающие по своим размерам руководящему виду сообщества, играют второстепенную роль в привлечении пищевых ресурсов извне. По-видимому, они лишь хорошо приспособлены к улавливанию пищи из потоков морской воды, которые создаются мощными фильтрационными аппаратами мидий. Эту же роль выполняют временные обитатели сообщества, в частности, некоторые двустворчатые моллюски, в обычных условиях обитающие на песчаном дне. Такие виды как *Cerastoderma glaucum* (Bruguiere, 1789), *Anadara cornea* (Reeve, 1844), *Mya arenaria* Linnaeus, 1758, *Abra segmentum* (Recluz, 1843) и *Lentidium mediterraneum* (O.G. Costa, 1830) сначала попадают в сообщество обрастания из планктона в виде личинок, затем проходят процесс метаморфоза и начинают расти, интенсивно фильтруя окружающую морскую воду. Однако, достигнув размера нескольких миллиметров, эти моллюски, не найдя в сообществе обрастания привычных для себя условий обитания, отрываются от субстрата и, лишенные такой возможности, падают на дно и погибают.

Остальные организмы находят себе пищу внутри сообщества. В связи с присутствием поселений макро- и микрофитов на твердом субстрате в сообществе обрастания хорошо развита трофическая группа фитофагов. При этом фитофильные виды ракообразных из отряда Amphipoda, такие как *Amphithoe ramondi* Audouin, 1826, *Dexamine spinosa* (Montagu, 1813) и *Hyale pontica* Rathke, 1847, проявляют некоторую избирательность в отношении пищевых объектов. Так, у *A. vaillanti* около половины пищевого комка составляют бурые водоросли, а у *D. spinosa* – зеленые. Третий вид – *H. pontica* предпочитает употреблять в пищу мелкие эпифитные водоросли, обитающие на макрофитах (Greze, 1973).

Кроме того, эти амфиподы ведут различный образ жизни, особенности которого отражаются на их пищевом поведении. Первый малоподвижный вид почти постоянно живет в трубках, построенных им из обрывков растений, и питается тем, что находится в его непосредственной близости, а второй – активно передвигается в поисках пищи и даже совершает регулярные вертикальные миграции в толще воды (Greze, 1965). Третий вид часто держится среди скоплений макрофитов, отыскивая на них эпифитные микроводоросли. Кроме того, эти растительноядные амфиподы имеют отчетливый суточный ритм питания. После захода солнца интенсивность потребления пищи у них резко повышается (Greze, 1973). Все это способствует ослаблению пищевой конкуренции между видами, обитающими в одном сообществе и имеющими сходный спектр питания.

В трофическую группу фитофагов также входят мелкие брюхоногие моллюски, которые массово представлены в сообществе обрастания. Представители фитофильных Gastropoda питаются микрообростом из одноклеточных водорослей, которым обычно покрыты макрофиты (Greze, 1973; Makkaveeva, 1979). Пищевая конкуренция между ними незначительна благодаря разнице в размерах. Так, высота раковины у *Setia valvatoides* Milachevitch, 1909 не превышает 1,5 мм, а у *Mohrensternia lineolata* (Michaud, 1882) она достигает 6 мм.

В сообществе обрастания также присутствует трофическая группа детритофагов, представители которой обычно не испытывают недостатка в пище. Дело в том, что плотные поселения мидий на твердом субстрате играют роль своеобразной седиментационной ловушки, в которой накапливается различный пищевой материал. Так, частицы детрита, содержащиеся в морской воде и не попавшие в фильтрационный аппарат двустворчатых моллюсков, оседают среди сплетений биссусных нитей, которыми животные прикрепляются к субстрату. Там же оседает часть фекалий и псевдофекалий моллюсков, а также останки микроводорослей и мелких беспозвоночных. Эти запасы питательного детрита, на котором развиваются бактерии и инфузории, являются важным пищевым ресурсом для беспозвоночных детритофагов.

Этим материалом питаются детритоядные ракообразные из отряда Amphipoda, такие как *Stenothoe monoculoides* (Montagu, 1815), *Microdeutopus gryllotalpa* Costa, 1853, *Crassicorophium bonelli* (Milne Edwards, 1830). При этом они используют различные приемы добывания пищи. *S. monoculoides* и *M. gryllotalpa* активно передвигаются среди раковин мидий и талломов водорослей, собирая с их поверхности налет детрита. Причем первый из них, максимальная длина тела которого составляет 2,5 мм, довольствуется самыми мелкими частицами детрита – размером не более 3–5 мкм. У второго вида, достигающего в длину 7–8 мм, пищевой комок на 80–95% состоит из детрита и минеральных частиц, среди которых встречаются пустые оболочки диатомовых водорослей и фрагменты хитиновых покровов ракообразных. Третий вид амфипод – *C. bonelli*, не превышающий в длину 4 мм, использует для питания механизм тонкой фильтрации детритных частиц (Greze, 1973).

К детритофагам также относятся мелкие полихеты, обитающие в сообществе обрастания. *Polydora cornuta* Bosc, 1802, достигающая длины 8 мм, живет в трубках, которые строит из различных мелких частиц и обрывков водорослей. Трубки имеют многочисленные отверстия, которые позволяют червям находить пищу, не покидая убежища. Питаются эти полихеты детритом, который собирают с поверхности субстрата. При этом размер пищевых частиц не превышает 0,03–0,05 мм (Kiseleva, 2004). Другой вид полихет – *Fabricia sabella* (Ehrenberg, 1837), длиной не более 3 мм, также живет в трубках, которые строит из мелких песчинок, скрепленных слизистым секретом. Питается она мелкими частицами детрита, но не собирая его с поверхности субстрата, а осаждая из окружающей водной среды (Kiseleva, 2004). К трофической группе детритофагов также относятся личинки хирономид *Thalassomyia frauenfeldi* Schiner, 1856 и *Halocladius vitripennis* (Meigen, 1818), которые питаются материалом, накапливающимся среди переплетений биссусных нитей мидий.

К трофической группе полифагов относятся беспозвоночные со смешанным типом питания, потребляющие как растительную, так и животную пищу, включая ткани погибших организмов. Ракообразные из отряда Isopoda – *Idotea balthica* (Pallas, 1772) и *Lekanesphaera monodi* (Arcangeli, 1934) – ведут активный образ жизни, имея довольно широкий спектр питания (Hmeleva, 1973;

Makkaveeva, 1979). Первый вид – *I. baltica*, достигающая длины 18 мм, имеет ротовой аппарат грызущего типа, с помощью которого легко размельчает обрывки макрофитов. При любом удобном случае эти ракообразные нападают на ослабленных и погибающих животных, включая и особей своего вида. Также они питаются линочными шкурками амфипод. Кроме того, идотеи являются активными потребителями фекалий и псевдофекалий мидий (Hmeleva, 1973). Другой вид изопод – *L. monodi*, почти в три раза уступает по размеру *I. baltica* и достигает длины лишь 6–8 мм, в поисках пищи предпочитает медленно ползать по субстрату. Питается *S. pulchellum*, соскребая микроводоросли с поверхности макрофитов и других субстратов, а также нападая на ослабленных мелких ракообразных и полихет (Kusakin, 1979).

К этой же группе относятся представители Amphipoda из семейства Gammaridae, такие как *Echinogammarus olivii* (Milne-Edwards, 1830), *Gammarus aequicauda* (Martynov, 1931), *Melita palmata* (Montagu, 1804) (Greze, 1973). Первый из этих видов – *E. olivii* – представляет собой практически всеядную форму. Хотя в составе его пищи основными компонентами являются макрофиты и детрит, он может в большом количестве потреблять также и микроводоросли (Greze, 1973). Кроме того, эти ракообразные нападают на ослабленных особей своего вида, а также поедают погибших представителей других видов. Такая всеядность является еще одним способом избегания пищевой конкуренции с другим животными со сходным типом питания. Два других вида амфипод – *G. aequicauda* и *M. palmata* – потребляет в пищу как полусгнившие останки макрофитов, микроводоросли, в основном, диатомовые, так и частицы детрита и останки погибших беспозвоночных (Greze, 1973).

Среди десятиногих ракообразных, также относящихся к трофической группе полифагов, наиболее распространен в сообществе обрастания голландский крабик *Rhithropanopeus harrisi* (Maitland, 1874), ширина карапакса которого не превышает 17 мм. Обычно он ведет относительно малоподвижный образ жизни, скрываясь между раковинами мидий. При этом *R. harrisi* может складывать свои пластинчатые максиллы таким образом, чтобы их многочисленные щетинки, переплетаясь между собой, формировали своеобразное сито, через которое отфильтровываются различные пищевые частицы. Кроме того, эти ракообразные питаются как обрывками макрофитов, диатомовыми водорослями, так и мелкими изоподами, амфиподами, полихетами, а также молодью моллюсков. Иногда среди особей этого вида наблюдается каннибализм (Makarov, 2004).

Другой представитель полифагов – каменная креветка *Palaemon elegans* Rathke, 1837, длина которой в условиях сообщества обрастания не превышает 45 мм, значительно более подвижна. Она активно передвигается среди макрофитов, отщипывая клешнями мягкие части их талломов и нападая на мелких полихет и личинок хирономид. Кроме того, креветки часто потребляют кусочки тканей погибших животных. Другой вид креветок – *Athanas nitescens* Leach, 1814, по размеру на порядок меньше, чем *P. elegans*, и питается соответственно более мелкими объектами, такими как диатомовые водоросли, остракоды, клещи и нематоды (Makarov, 2004).

Кроме того, полифагами являются три вида эррантных полихет – *Alitta succinea* (Leuckart, 1847), *Platynereis dumerilii* (Audouin et M.-Edwards, 1834) и *Nereis zonata* Malmgren, 1867, которые в сообществе обрастания Одесского залива получили массовое развитие. Первый из них, *A. succinea*, достигает длины 40 мм, питается как обрывками макрофитов, так и гарпактицидами, остракодами и мелкими гастроподами (Kiseleva, 1981). Второй вид – *P. dumerilii* в условиях сообщества обрастания вырастает в длину до 30 мм. В его пищевом спектре преобладает растительная пища. Хотя он также нападает на мелких амфипод, копепод и олигохет (Kiseleva, 1970). Третий вид – *N. zonata* хорошо приспособлен к обитанию среди зарослей макрофитов и раковин моллюсков. Достигает максимальной длины 35 мм, питается он в этих условиях в основном детритом, микроводорослями и мелкими беспозвоночными (Losovska, 1977).

Организмы, потребляющие преимущественно животную пищу, составляют трофическую группу плотоядных. К числу хищных полихет сообщества обрастания относятся пять видов. Первый из них – *Harmothoe imbricata* (Linnaeus, 1767) достигает длины 40 мм. Он активно передвигается вдоль субстрата, нападая на амфипод, полихет, гарпактицид и мелких гастропод. Второй вид – *H. reticulata* (Claparede, 1870) немного меньше по размеру (длина до 30 мм). Он также очень подвижен и нападает на более мелкую добычу. В спектр его питания входят молодь изопод, амфипод и полихет, а также остракоды, клещи и олигохеты (Kiseleva, 2004).

Третий вид полихет – *Genetyllis tuberculata* (Bobretzky, 1868) достигает длины 35 мм. В спектр его питания входят мелкие беспозвоночные, яйца брюхоногих моллюсков и полихет, а также погибшие животные. Четвертый, наиболее крупный вид – *Mysta picta* (Quatrefages, 1866), длина тела которого достигает 60 мм, активно охотится на более мелких полихет и других червей. Пятый, наиболее мелкий вид полихет (длина не превышает 2–3 мм) – *Salvatoria clavata* (Claparede, 1863) – также является плотоядным, хотя использует другие способы добывания пищи. Молодые представители этого вида поедают бактериальную пленку, покрывающую субстрат, диатомовые водоросли, а также различных инфузорий, заглатывая их целиком. Для взрослых животных характерен сосательный тип питания. Они высасывают содержимое погибших зооидов мшанок, гарпактицид и молоди амфипод (Kiseleva, 2004).

К трофической группе плотоядных также относятся такие малоподвижные животные как гидроидный полип *Obelia longissima* (Pallas, 1766) и актиния *Diadumene lineata* (Verrill, 1869). Они добывают пищу с помощью чувствительных щупалец, снабженных стрекательными капсулами, активно захватывая копепод, гарпактицид, остракод и других мелких беспозвоночных (Kovtun et al., 2012).

Как уже было показано, в сообществе обрастания Одесского залива самой многочисленной по числу входящих в нее видов является трофическая группа полифагов (рис.). Однако по количественным параметрам развития первенство в сообществе обрастания принадлежит сестонофагам. В первую очередь это касается мидии, относительная биомасса которой на два порядка превышает соответствующие показатели всех остальных

беспозвоночных. Хотя по своей относительной численности сестонофаги сопоставимы с полифагами (табл.).

Несмотря на то, что биомасса брюхоногих моллюсков, ракообразных и полихет, входящих в другие трофические группы, по сравнению с двустворчатыми моллюсками ничтожна, эти мелкие животные, достигающие значительной численности и обладающие высокой удельной продукцией, играют важную роль в процессах обмена вещества и энергии в сообществе (Makkaveeva, 1976).

Таблица

Относительные количественные характеристики трофических групп сообщества обрастания Одесского залива Черного моря

Трофические группы	Относительная численность, %	Относительная биомасса, %
Сестонофаги	36,6	97,70
Детритофаги	16,5	0,01
Фитофаги	9,3	0,11
Плотоядные	1,1	0,57
Полифаги	36,5	1,61

Как видно из вышеизложенного, самые эффективные трофические связи внутри сообщества обрастания Одесского залива существуют между фитофагами и фотосинтезирующими макро- и микрофитами. Кроме того, постоянное поступление в сообщество частичек детрита обеспечивает развитие трофической группы детритофагов. В свою очередь, упомянутые выше виды полихет и ракообразных сами являются пищевыми объектами для небольшой группы рыб, жизнь которых связана с сообществом обрастания твердых субстратов (Vinogradov and Hutornoi, 2013). Среди них самыми многочисленными являются морские собачки *Parablennius sanguinolentus* и *P. tentacularis*, а также пухлощекая рыба-игла *Syngnathus nigrolineatus*. Значительно реже среди зарослей макрофитов в сообществе обрастания встречается длиннорылый морской конек *Hippocampus guttulatus*.

Как показали проведенные расчеты, индекс однообразия пищевой структуры сообщества обрастания Одесского залива Черного моря близок к единице (0,94). Это обусловлено значительным превышением биомассы сестонофагов над соответствующими показателями остальных трофических групп сообщества.

Подобное распределение количественных параметров видов, входящих в состав сообщества обрастания, было зафиксировано и в других морях. В прибрежных районах Дагестанского побережья Каспийского моря в сообществе обрастания по биомассе значительно преобладали двустворчатые моллюски. Кроме того, зафиксировано снижение пищевой конкуренции между различными видами беспозвоночных внутри этого сообщества (Amaeva et al., 2013).

В Таганрогском заливе Азовского моря трофическая структура прибрежного сообщества обрастания состоит из таких же пищевых групп. Хотя, в отличие от Одесского залива Черного моря, наибольшего развития здесь достигают усоногие ракообразные и гидроидные полипы. Среди двустворчатых моллюсков преобладает митилястер. Виды, представленные в сообществе обрастания Азовского моря, характеризуются различными трофическими потребностями, что ослабляет пищевую конкуренцию между ними (Partaly, 1991).

Выводы

Организмы, входящие в состав сообщества обрастания Одесского залива, тесно связаны между собой трофическими связями. Основная часть пищевого материала поступает в сообщество из водной толщи. Этому в значительной мере способствует активная фильтрационная деятельность мидий и других организмов-сестонофагов. Макро- и микрофиты, относящиеся к первичным продуцентам сообщества, развиваются за счет своей фотосинтетической активности и обеспечивают пищевым материалом растительноядных животных. Многочисленные детритофаги потребляют различные фракции детрита, скапливающегося среди переплетений биссусных нитей мидий. Полифаги питаются как растительной, так и животной пищей. Небольшая группа хищников находит своих жертв среди мелких беспозвоночных. В качестве консументов в сообществе обрастания Одесского залива Черного моря выступают рыбы, обитающие среди зарослей макрофитов. Вид-эдификатор *Mytilus galloprovincialis* играет центральную роль в пищевых взаимоотношениях между организмами, входящими в состав сообщества обрастания. Наибольшей относительной численности в сообществе обрастания достигают представители сестонофагов и полифагов (36,6%), а биомассы – сестонофагов (97,7%). Индекс однообразия пищевой структуры сообщества обрастания Одесского залива Черного моря составляет 0,94, что подтверждает значительное преобладание по биомассе двустворчатых моллюсков над другими видами сообщества.

Библиографические ссылки

Aleksandrov, B.G., 2008. Gidrobiologicheskie osnovy upravlenija sostojaniem pribrezhnyh jekosistem Chernogo morja [Hydrobiological bases of management of the coastal ecosystem of the Black Sea]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Alimov, A.F., 2000. Elementy teorii funkcionirovanija vodnyh jekosistem [Elements of the theory of the functioning of aquatic ecosystems]. Nauka, Sanct-Peterburg (in Russian).

Amayeva, F.S., Osmanov, M., Aligadjiev, M.M., Abdurakhmanov, A.A., 2013. Struktura biocenozov obrastanij Dagestanskogo pribrezhnogo rajona Kaspijskogo morja [Structure of fouling biocenoses of Dagestan coastal area of the Caspian Sea]. Bulletin of the Dagestan Scientific Center 51, 68–72 (in Russian).

Bolshakov, V.N., Bolshakov, M.V., 2010. Potoki solnechnoj jenergii na poverhnosti gidrotehnicheskih sooruzhenij raznoj orientacii [Streams of solar energy on the surface of hydraulic structures with different orientations]. Ukrainskij Gidrometeorologicheskij Zhurnal 7, 220–231 (in Russian).

Borthagaray, A., Carranza, A., 2007. Mussels as ecosystem engineers: Their contribution to species richness in a rocky littoral community. Acta Oecol. 32, 243–250.

Burkovsky, I.V., 2006. Morskaja biogeocenologija. Organizacija soobshhestv i jekosistem [Marine biogeocenology. Organization of communities and ecosystems]. KMK, Moscow (in Russian).

Cihon-Lukanina, E.M., Reznichenko, O.G., Lukasheva, T.A., 1998. Sostav i raznoobrazie pishhi u morskih i presnovodnyh dvustvorchatyh molljuskov [The composition and diversity of food in marine and freshwater bivalve mollusks]. Zool. Zh. 77(3), 270–277.

Commito, J.A., Rusignuolo, B.R., 2000. Structural complexity in mussel beds: The fractal geometry of surface topography. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 255, 133–152.

Cummings, V.J., Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Funnell, G.A., 2001. Variable effect of a large suspension-feeding bivalve on infauna: experimenting in a complex system. Mar. Ecol. Progr. Ser. 209, 159–175.

Frechette, M., Butman, C.A., Geyer, W.R., 1989. The importance of boundary layer flows in supplying phytoplankton to the benthic suspension feeder, *Mytilus edulis*. Limnol. Oceanogr. 34, 19–36.

Govorin, I.A., Shatsillo, Y.I., 2010. Formation of the filtering potential of the mussel and mytilaster settlements within anthropogenically transformed coastal zone of the Black Sea. Hydrobiol. J. 46(2), 3–12.

Greze, I.I., 1965. O sutochnyh vertikal'nyh migracijah nekotoryh bokoplavov v Chernom i Azovskom morjah [On the daily vertical migrations some amphipods in the Black and Azov Seas]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Greze, I.I., 1973. Pitanie amfipod Chernogo morja [Feeding of the Black Sea amphipods]. Nauka, Moscow (in Russian).

Gutierrez, J.L., Jones, C.G., Strayer, D.L., Iribarne, O., 2003. Mollusks as ecosystems engineers: The role of the shell production in aquatic habitats. Oikos 101, 79–90.

Hmeleva, N.N., 1973. Biologija i energeticheskij balans morskih ravnonogih rakoobraznyh (*Idotea baltica basteri*) [Biology and energy balance of marine isopod crustaceans (*Idotea baltica basteri*)]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Homova, E.S., 2009. Sravnenie metodov ucheta mikrojepifitona makrofitov [Comparison of accounting methods of macrophytes mikroepifiton]. Nauk. Zap. Ternopol. Derzh. Ped. Univer. Ser. Biol. 41, 82–86 (in Russian).

Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1994. Organisms as ecosystem engineers. Oikos 69, 373–386.

Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1997. Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. Ecology 78, 1946–1957.

Kiseleva, M.I., 1970. Pitanie polihety *Platynereis dumerilii* (Aud. Et M.-Edw.) v Chernom more [Feeding of polychaete *Platynereis dumerilii* (Aud. Et M.-Edw.) in the Black Sea]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Kiseleva, M.I., 1981. Bentos ryhlyh gruntov Chernogo morja [Benthos of soft bottom of the Black Sea]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Kiseleva, M.I., 2004. Mnogoshhetinkovye chervi (Polychaeta) Chernogo i Azovskogo morej [Polychaetes (Polychaeta) of the Black and Azov Seas]. KNC, Apatity (in Russian).

Kovtun, O.A., Sanamian, N.P., Martynov, A.V., 2012. Vselenec aktinija *Diadumene lineata* (Anthozoa: Actiniaria: Diadumenidae) v severnoj chasti Chernogo morja [Invader actinium *Diadumene lineata* (Anthozoa: Actiniaria: Diadumenidae) in the northern part of the Black Sea]. Mor. Ecol. Zhurnal 11(4), 27–38 (in Russian).

Kusakin, O.G., 1979. Morskie i solonovatovodnye ravnonogie rakoobraznye (Isopoda) holodnyh i umerennyh vod severnogo polusharija. Podotr. Flabellifera. [Marine and brackish isopods (Isopoda) of cold and temperate waters of the northern hemisphere. Suborder Flabellifera]. Nauka, Leningrad (in Russian).

Losovska, G.V., 1977. Ekologija polihet Chernogo morja [Ecology of the Black Sea polychaetes]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Makarov, J.N., 2004. Desjatinogie rakoobraznye [Decapod crustaceans]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Makkaveeva, E.B., 1976. Dinamika populjacij massovyh vidov zostery [Population dynamics of mass species of eelgrass]. Biol. Sea 36, 25–40 (in Russian).

Makkaveeva, E.B., 1979. Bespozvonochnye zaroslej makrofitov Chernogo morja [Invertebrates of the Black Sea macrophytes]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Moshhenko, A.V., 2006. Rol' mikromasshtabnoj turbulentnosti v raspredelenii i izmenchivosti bentosnyh zhivotnyh [Role of microscale turbulence in the distribution and variability of benthic animals]. Dal'nauka, Vladivostok (in Russian).

Neiman, A.A., Karpinsky, M.G., 2013. Vlijanie na bentos troficheskih otnoshenij v shel'fovom soobshhestve: Troficheskaja struktura i vozdejstvie vyedanija [The impact on the benthos trophic relations in the shelf community: Trophic structure and the impact of grazing]. Journal of Siberian Federal University 4(6), 368–387 (in Russian).

Partaly, E.M., 1991. Troficheskaja struktura biocenoza morskogo obrastanija [Trophic structure of biocenosis of the fouling community]. Biological resources: The state, prospects and problems of their rational exploitation. VNIRO, Moscow (in Russian).

Protasov, A.A., 2011. Zhizn' v gidrosfere. Ocherki po obshhej gidrobiologii [Life in the hydrosphere. Essays on general Hydrobiology]. Akademperiodika, Kiev (in Russian).

Rachinska, A.V., Polchenko, E.A., 2001. Obrastanija mikroskopicheskimi vodorosljami tverdyh substratov Odesskogo zaliva Chernogo morja [Fouling microscopic algae of the solid substrates in Odessa Bay, Black Sea]. Nauk. Zap. Ternopol. Derzh. Ped. Univer. Ser. Biol. 4(15), 151–153 (in Russian).

Ragnarsson, S.A., Raffaelli, D., 1999. Effects of the mussel *Mytilus edulis* L. on the invertebrate fauna of sediments. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 241, 31–43.

Railkin, A.I., 2008. Kolonizacija tverdyh tel bentosnymi organizmami [Colonization of solids by benthic organisms]. ISPU, Sanct-Peterburg (in Russian).

Senicheva, M.I., 1990. Harakteristika fitoplanktona kak ob'ekta pitanija midij *Mytilus galloprovincialis* Lam. v rajone marihozjajstva buhty Laspi [Characteristics of phytoplankton as a feeding object of mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. near marine farm in Laspi Bay]. Ekol. Sea 36, 7–16 (in Russian).

Tsuchiya, M., Nishihira, M., 1985. Islands of *Mytilus edulis* as a habitat for small intertidal animals: Effect of island size on community structure. Mar. Ecol. Prog. Ser. 25, 71–81.

Vinogradov, A.K., Hutornoi, S.A., 2013. Ihtiofauna Odesskogo regiona severo-zapadnoj chasti Chernogo morja (biologicheskie, ekologicheskie, ekologo-morfologicheskie osobennosti) [Fish fauna of Odessa region of north-west part of the Black Sea (biological, environmental, ecological and morphological features)]. Astroprint, Odessa (in Russian).

Wright, J.P., Jones, C.G., Flecker, A.S., 2002. An ecosystem engineer, the beaver, increases species richness at the landscape scale. Oecologia 132, 96–101.

Zaika, V.E., Valovaja, N.A., Povchun, A.S., Revkov, N.K., 1990. Mitilidy Chernogo morja [Black Sea mytilids]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Надійшла до редколегії 12.06.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 283–289.

doi:10.15421/011636

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 598.288.7:591.55

Агресивна поведінка *Erithacus rubecula* (Passeriformes, Muscicapidae) на місцях водопою в лісостеповій зоні України

А.О. Маркова

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Наведено дані стосовно прояву агресії вільшанки (*Erithacus rubecula* L.) на місцях водопою у гніздовий період у Канівському природному заповіднику та державному дендрологічному парку «Олександрія» НАН України. У Канівському природному заповіднику виявлено зв'язок агресії вільшанки із поведінковими актами на водопої та розмірними показниками сусідніх видів, що не відмічено для території дендропарку «Олександрія». Встановлено співвідношення міжвидових і внутрішньовидових контактів вільшанки. Внутрішньовидова агресія більше виражена в умовах дендропарку, а міжвидова – на території природного заповідника. Загалом виявлено 12 видів птахів, на які вільшанка агресивно реагує, та з'ясовано рейтинг успішності нападу та захисту на території від них. Найчастіше агресія направлена на особин, що вже перебувають на водопої, ніж до птахів, що прилітають після вільшанки. Вільшанка завжди поступається територією перед малою мухоловкою та чорним дроздом, але успішно захищає та нападає на берестянку звичайну та вівчарика-ковалика. Встановлено критичну відстань прояву агресії у внутрішньовидових конфліктах на рівні 40–50 см. У міжвидових конфліктах критична відстань варіює у межах від 5 см до 2 м. Це дослідження підкреслює значення довгострокових досліджень і багатофакторних підходів до розуміння складності домінування відносин для птахів.

Ключові слова: міжвидова агресія; птахи; *Erithacus rubecula*; водопій

Aggressive behaviour of Robins *Erithacus rubecula* (Passeriformes, Muscicapidae) at watering places in the forest steppe zone of Ukraine

A.O. Markova

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

The purpose of this research was to study interspecific and intra-specific aggressive reactions of Robins (*Erithacus rubecula* L.) at watering places in natural and anthropogenically pressured areas. The study took place in Kaniv Nature Reserve, Cherkassy region, in May-June 2010, 2012 and 2014 and the state dendrology park "Oleksandriya" of the National Academy of Science in Bila Tserkva. The observation of the birds' behavior was performed using the ethological methods of "total observation" and "continuous logging". In order to calculate the critical distance at which a bird shows aggression, the watering areas studied were divided into 1 x 1 m squares. It was found that aggressive intersspecific actions of Robins were more frequent in the natural habitat of Kaniv Reserve while intraspecific aggression was more frequent in the dendrology park. It was noticed that Robins responded aggressively to 12 species of birds in the Kaniv Natur Reserve site. Those species were: Song Thrush (*Turdus philomelos*), Blackbird (*T. merula*), Great Tit (*Parus major*), BlueTit (*P. caeruleus*), Marsh Tit (*P. palustris*), Chaffinch (*Fringilla coelebs*), Hawfinch (*Coccothraustes coccothraustes*), Icterine Warbler (*Hippolais icterina*), Wood Warbler (*Phylloscopus sibilatrix*), Blackcap (*Sylvia atricapilla*), Collared Flycatcher (*Ficedula albicollis*) and Spotted Flycatcher (*Muscicapa striata*). Most often, aggression was directed to individuals that were already at a watering place rather than birds which arrived after the Robins. Besides, Robins frequently initiate aggressive relations. An inverse correlation of aggressive acts and the size parameters of the species, which were objects of Robins' aggression, was observed. A success rating of Robins' defence and attack in aggressive relations in Kaniv Nature Reserve was established: Robins were always successful in protecting its territory or attacking an Icterine Warbler and Chiffchaff, and always fails in defending agianst or attacking a Blackbird. The rating in contact with Spotted Flycatcher was zero. The critical distance of aggressive behaviour in intraspecific contacts at watering places was 40–50 cm, while for interspecific contacts it

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна
National Taras Shevchenko University of Kyiv, Volodymirs'ka Str., 64/13, Kyiv, 01601, Ukraine
Tel.: +38-067-377-93-20. E-mail: anna-markovka@i.ua

varied from 5 cm to 2 m. Our research emphasizes the importance of long-term research and multivariate approaches for understanding the complexity of dominance relations in birds.

Keywords: interspecific aggression; birds; *Erithacus rubecula*; watering place

Вступ

Нині у світі широко вивчають питання причин і наслідків агресії серед тварин. Велику увагу приділено дослідженню відмінностей поведінки на різних територіях, її значення для біології, екології та соціальних відносин близьких і конкурентних видів. За останні десятиліття накопичено значну кількість нових даних стосовно агресивної поведінки різних груп тварин (Tanner and Adler, 2009; Reichert and Gerhardt, 2014), у тому числі й птахів, наприклад: зяблик (*Fringilla coelebs*) (Foltz et al., 2015), мухоловка-білошийка (*Ficedula albicollis*) (Forsman et al., 2007), синиця велика (*Parus major*) (Forsman et al., 2007; Grabowska-Zhang and Wilkin, 2011), мексиканська чечевиця (*Haemorhous mexicanus*) (Hasegawa, 2014), співоча зонотрихія (Foltz, 2015) та інші. Зазвичай подібні дослідження поведінки птахів базуються на вивченні різноманіття акустичних сигналів, що провокуються візуальними або акустичними факторами, а також успішністю того чи іншого поведінкового акту. Найчастіше такий поведінковий акт – кормодобування або перебування на гніздовій території.

Вивчення агресії серед тварин має велике значення у внутрішньовидовій конкуренції (Arnott and Elwood, 2009), але її роль і наслідки в міжвидовій конкуренції чи інших відносинах близьких видів – новий і поки що мало вивчений аспект (Tanner and Adler, 2009; Lehtonen et al., 2010). Міжвидові відносини асиметричні, вони тісно пов'язані із внутрішньовидовою агресією існуючих разом видів: один вид частіше ініціює контакти з іншими. Приклад такої асиметрії – домінування в агресивному контакті (Ivanitskiy, 1982). Подібні дослідження проводили на прикладі деяких територіальних птахів ряду Passeriformes (Panov and Ivanitskiy, 1975, 1979; Ryabitsev, 1977), де встановлено, що кількість міжвидових контактів значно більша за внутрішньовидові (Ivannitskiy, 1980).

Міжвидова агресія має важливі наслідки для екологічних процесів та дає відповіді на причини зміни еволюційних стратегій поведінки. У лісових угрупованнях міжвидова конкуренція – важливий фактор, що регулює перекриття ніш у використанні ресурсів близькими видами та відносну щільність популяцій птахів (Umapathy and Kumar, 2000; Peiman and Robinson, 2010). У природі у міжвидовій конкуренції бере участь велика кількість різних видів, що безумовно підвищує рівень конкуренції особин та їх агресивну поведінку як один із методів конкурентної боротьби (Mikami and Kawata, 2004). У даному разі агресія носить назву «неспецифічної» (Peiman and Robinson, 2007). Неспецифічна агресія поширена серед тварин, але досі їй приділяється менше уваги, ніж іншим формам міжвидової та внутрішньовидової конкуренції, а її механізми та наслідки залишаються не зрозумілими (Grether et al., 2009, 2013; Peiman and Robinson, 2010).

Вільшанка поширена у більшій частині Європи та в західній частині Сибіру, на схід – приблизно до долини Єнісею. Крім того, її ареал проходить через Малу Азію, Кавказ, Північний Іран, а також Північно-Західну Африку. Населяє лісову зону: листяні, хвойні та мішані ліси. Для території України – гніздовий, перелітний птах лісової та лісостепової смуг, а також значної частини степової смуги. Мігрує на всій території. Оселяється у вологих, зарослих чагарником місцях, по лісових ярах, поблизу лісових боліт і озер, у парках, садах тощо. Вільшанка довірлива до людини та допитлива, проте не терпить своїх родичів і яро захищає свою територію. Крім того, вільшанка – надзвичайно корисний птах лісів, садів і парків, оскільки поїдає велику кількість шкідників-листоїдів. Вид занесено до Бернської конвенції (додаток 2), Боннської конвенції (додаток 2) та до переліку видів, що перебувають під опікою Європейської спілки з охорони навколишнього середовища (Kotenko, 2011).

Саме тому мета цієї статті – з'ясувати міжвидові (далі МВ) та внутрішньовидові (далі ВВ) реакції агресії вільшанки за результатами безпосередньої взаємодії особин у природних умовах, та, для порівняння, на антропогенно навантаженій території. Основне завдання – встановити наявність зв'язку агресії з фізіологічними потребами, що визначали за результатом актів на водопої, чисельністю інших видів та їх агресивністю як безпосереднім фактором агресії вільшанки.

Матеріал і методи досліджень

Спостереження проводили у Канівському природному заповіднику (далі КПЗ) Черкаської області у травні–червні 2010, 2012 та 2014 років на місці водопою в яру Мокрий на території садиби. Місце обрано з урахуванням відсутності інших джерел водопою. Територія дослідження має природоохоронний статус і характеризується низьким антропогенним тиском. Загальна тривалість спостережень у КПЗ – 324 години. За період дослідження зафіксовано близько 1 843 міжвидових і внутрішньовидових контактів, проаналізовано 1 128 появ вільшанки на місці водопою. Інше місце, де проводили спостереження у червні 2012 та 2015 року, – державний дендрологічний парк «Олександрія» НАН України у м. Біла Церква. Місце обране з урахуванням наявності лісу, водопою і тому, що тут буває мало людей. Загальна тривалість спостережень становила 144 години. За цей період зафіксовано близько 813 МВ і ВВ контактів та 1 107 появ вільшанки на водопої.

Спостереження проводили з 5:00 до 21:00 (тут і далі години наведено з урахуванням поправки на літній час). Для вивчення міжвидової поведінки застосовували загальноприйняті етологічні методи «тотального спостереження» та «суцільного протоколювання» (Popov and Ilchenko, 2008). Вивчаючи динаміку активності на водопої, згідно із загальноприйнятими етологічними методиками (Amanova, 1982) виділили можливі варіанти поведінкових актів птахів на водопої: пиття води, пошук і споживання кормових об'єктів, купання та догляд за оперенням. Для визначення видів використовували польовий визначник «Птахи фауни України» (Fesenko and Bokotey,

2002). За прояв агресивної поведінки прийнято вважати акт, коли два птахи скорочували дистанцію, що їх розділяла, явно змінюючи свою поведінку порівняно з попереднім проміжком часу, демонстрацію готовності до нападу та безпосередньо сутички (Panov, 1983).

Серед даних, пов'язаних із реакцією агресії, фіксували: котрий із видів (особин) прилетів першим, а хто другим на місце дослідження; котрий з видів (особин) виявив ініціативу до прояву агресії; відстань, на якій «агресор» почав виявляти реакцію агресії; котрий із видів (особин) переміг, тобто залишився на місці спостереження. На основі таких даних підраховували випадки, коли птах перемагає у боротьбі за ресурс, прибувши на місце першим, та випадки, коли птах перемагає у боротьбі за ресурс, прибувши другим. Отримано розподіл рейтингу успішності виду в міжвидових агресивних контактах. Для розрахунку критичної відстані (дистанції, на якій птах проявляє агресію (Shefer, 2004), територію водопою поділили на квадрати 1 х 1 м, кожен квадрат позначили дерев'яною паличкою на відстані 1 м одна від одної уздовж напрямку руху води з джерела. До аналізу прийнято дані, зібрані з урахуванням однакових погодних умов. Статистичну обробку матеріалу проведено з використанням пакета програм Statistica 7.0. Застосовували методи перевірки на нормальність розподілу даних та відповідні методи кореляційного аналізу, на діаграмах наведено середні дані та середньоквадратичне відхилення (SD).

Результати та їх обговорення

Динаміка зайнятості вільшанки на водопої. Серед поведінкових актів вільшанки на водопої КПЗ у гніздовий період основний – купання (рис. 1). Зафіксовано ранковий пік зайнятості птахів купанням (о 8:00), два денні піки (о 12:00 та 14:00) та вечірній (о 20:00). Максимум значення водопою для виду як джерела води для пиття припадає на 8:00 (ранковий пік), денний пік – о 14:00 та два вечірні піки – о 18: 00 та 20:00. Пошук кормових об'єктів спостерігали о 5:00 та 7:00, у денні години – 14:00, у вечірні години – 18:00 та 19:00.

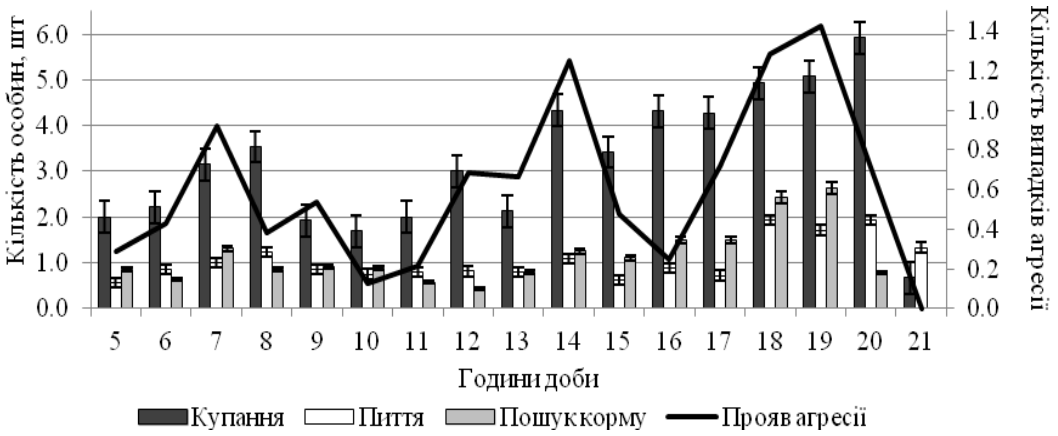


Рис. 1. Динаміка зайнятості вільшанки на місці водопою протягом доби у Канівському природному заповіднику: n = 20 для кожної години спостереження

Між проявом агресії вільшанкою та поведінковими актами на водопої встановлено достовірну сильну кореляцію з кормодобувною поведінкою ($r = 0,76$; $P < 0,01$), купанням ($r = 0,69$; $P < 0,01$), питтям ($r = 0,53$; $P < 0,05$). Такий розподіл зв'язку агресії з потребами на водопої у лісових екосистемах пояснюється їх біологічною значущістю: протягом доби основна мета прильоту на водопій – зволоження пір'яного покриву. Наявна сильна кореляція з динамікою активності прильоту ($r = 0,95$; $P < 0,01$). Другочергова мета – пошук кормових об'єктів ($r = 0,83$; $P < 0,01$), а вже потім – безпосередньо пиття ($r = 0,68$; $P < 0,01$).

Крім того, наявна сильна кореляція між показником агресії та кількістю особин свого виду ($r = 0,78$; $P < 0,01$). Причому відсутній такий зв'язок із чисельністю чи агресивністю всіх інших птахів, що перебувають у полі зору вільшанки. Це може свідчити про високий рівень внутрішньовидової агресії у гніздовий період і меншу, але виражену міжвидову агресію.

Отримані результати стосовно вільшанки – нові для території, оскільки під час попередніх досліджень іншими науковцями у КПЗ не зафіксовано цих поведінкових актів на водопої, або вони траплялися винятково рідко (Gorobets, 2011).

На території державного дендрологічного парку «Олександрія» серед поведінкових актів на водопої у гніздовий період основні – купання та пиття (рис. 2). Відмічено досить тривалий ранковий пік купання (з 6:00 до 9:00), денний (о 16:00) та вечірній (о 19:00). Відмічено невеликий ранковий максимум пиття води (о 6:00), виражений денний (о 15:00), та вечірній піки (о 18:00). Пошук кормових об'єктів на місці водопою відмічено о 5:00, максимальний денний – о 16:00 та вечірній – о 18:00.

У дендропарку «Олександрія» як території з антропогенним впливом для вільшанки не зафіксовано жодного достовірного показника кореляції агресії з поведінковими актами. Виявлено сильний зв'язок між появою виду на водопої та купанням ($r = 0,89$; $P < 0,01$), питтям ($r = 0,88$; $P < 0,01$), пошуком корму ($r = 0,78$; $P < 0,01$). Це вказує на безперечну значущість таких місць водопою в умовах міста для вільшанки.

Загалом відмічено часовий зсув зайнятості поведінковими актами на піддослідних територіях. Так, на

території дендропарку, на відміну від КПЗ, усі денні піки зайнятості зсунуті на одну–дві години пізніше, а ранкові та вечірні – на одну годину раніше. Такий розподіл добової активності вільшанки у приміській території вказує на пристосування виду до постійної присутності людини у дендропарку, що пов'язано із графіком роботи парку для відвідування (з 9:00 до 22:00).

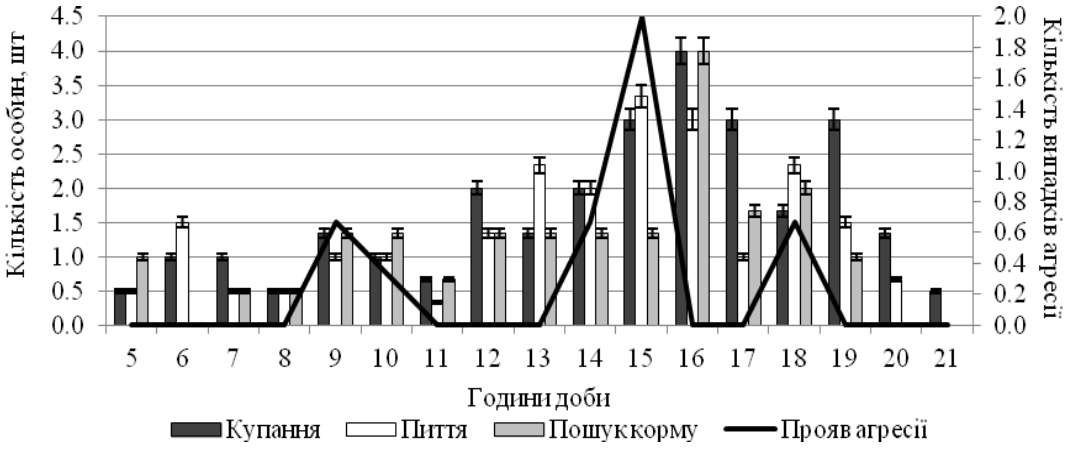


Рис. 2. Динаміка зайнятості вільшанки на місці водопою протягом доби у дендрологічному парку «Олександрія» НАН України: n = 9 для кожної години спостереження

Міжвидові взаємодії. На території КПЗ вільшанка реагує агресивно на 12 видів птахів із 26, з якими була у МВ контакті. До цих видів належать дрізд співочий (*Turdus philomelos*), дрізд чорний (*T. merula*), синиця велика (*Parus major*), синиця блакитна (*P. caeruleus*), гаїчка болотяна (*P. palustris*), зяблик (*Fringilla coelebs*), костогриз (*Coccothraustes coccothraustes*), берестянка звичайна (*Hippolais icterina*), вівчарик жовтобровий (*Phylloscopus sibilatrix*), кропив'янка чорноголова (*Sylvia atricapilla*), мухоловка білошия (*Ficedula albicollis*), мухоловка сіра (*Muscicapa striata*).

Вважається, що частота МВ конфліктів у змішаних угрупованнях співмірна або перевищує частоту ВВ агресивних взаємин (Ivanitskiy, 1982). Нашими дослідженнями така закономірність для вільшанки не підтвердилася. Співвідношення МВ конфліктів до ВВ характеризує важливість МВ відносин. Загальна кількість випадків агресивної поведінки становить 7% усіх контактів виду (тобто нейтральних і конфліктних). Детальний аналіз співвідношення усіх МВ та ВВ проявів агресії становить 80 / 53 (тобто 60% / 40%). Кількість агресивних контактів (80) у міжвидових взаємодіях поширюється на 12 вищезазначених видів і загалом становить лише 5% випадків агресії від усіх МВ контактів (81% усіх взаємодій виду). Випадки внутрішньовидової агресії (53) становлять 15% усіх ВВ контактів вільшанки. Тобто більше уваги вільшанка приділяє саме ВВ взаєминам і формуванню ВВ ієрархії. Таке співвідношення – прояв просторової ієрархічної структури угруповання на території; після її розподілу прояв агресії зменшиться (Ivanitskiy, 1982). Вільшанки також часто виступали ініціаторами агресивних контактів у досліджуваному лісовому угрупованні. Причому загальна кількість випадків агресії направлена на особин (незалежно від виду), що вже перебували на водопої до часу прибуття вільшанки, у 1,5 раза частіше, ніж до птахів, які прилітали після неї.

На території дендрологічного парку «Олександрія» прояв реакції агресії майже відсутній. Серед 17 видів, з якими контактував даний вид, лише на вівчарика-ковалика відмічено поодинокі випадки агресії. Хоча на приміській території вільшанка бере активну участь у МВ взаємодіях, що становлять 76% усіх контактів. Ці результати підтверджують і доповнюють відомі дані про меншу агресивність птахів у містах, хоча не виключають підвищення агресивних сигналів під час звукової вокалізації птахів міста (Foltz, 2015). Водночас внутрішньовидові агресивні контакти становили 48% усіх ВВ взаємодій виду. Це вказує на прояв територіальної поведінки та встановлення ВВ структури у гніздовий період (навіть на водопої, що вважається нейтральною територією). Такий рівень агресивної поведінки може залежати від виграшу птаха під час попереднього конфліктного зіткнення (Haynd, 1975).

Вплив присутності масових видів території на агресивність вільшанки. Ми спробували встановити залежність прояву агресії вільшанки на присутність та чисельність інших масових видів на території КПЗ та прояв ними агресії. На території КПЗ до таких видів належали зяблик, дрозди чорний та співочий, костогриз, кропив'янка чорноголова, синиця велика та блакитна, гаїчка болотяна. Але такого зв'язку не виявлено.

Випадки агресивної поведінки вільшанки достовірно корелюють із розмірними характеристиками інших птахів (розмірні дані взяті з визначника «Птахи фауни України» (Fesenko and Bokotey, 2002)). Встановлено сильну лінійну кореляцію показників агресії зі збільшенням розмірних показників інших видів птахів до розміру самої вільшанки (із масою ($r = 0,87$; $P < 0,01$) та довжиною тіла ($r = 0,90$; $P < 0,01$)) та обернену кореляцію агресії з подальшим збільшенням розміру супротивника ($r = –0,55$; $P < 0,05$ та $r = –0,63$; $P < 0,05$, відповідно).

Загалом такий зв'язок агресії з розмірними показниками влучно відображає співвідношення агресивних взаємодій, ініціатором яких була вільшанка, та агресії спрямованої на неї іншим видом (рис. 3). На одному рівні з вільшанкою перебувають синиця велика та мухоловка сіра. Дещо нижче них (тобто види, на які вільшанка частіше нападала, ніж вони на неї) були гаїчка болотяна, синиця блакитна та вівчарик жовтобровий. Жодного разу не відповідали агресією вільшанці вівчарик-ковалик, бе-

рестянка звичайна, мухоловка білошия. Домінанти у канівському лісовому угрупованні – дрозди чорний та співочий, костогриз, зяблик. Вони проявляли агресію до вільшанки набагато частіше, ніж вона до них. Виняток із такої розмірної схеми – кропив'янка чорноголова, яка за розмірами близька до вільшанки, але ініціювала дещо більше агресивних контактів, та мухоловка мала (*Ficedula parva*), менша за вільшанку, але ініціювала агресивні контакти, проте жодного разу не відмічено зворотної агресивної відповіді на неї.

Прийнято вважати, що значний вплив на прояв агресивних реакцій має щільність популяції кожного виду на досліджуваній території (щільність популяції птахів узято з праці Gorobets (2011)). Але для вільшанки не виявлено такого зв'язку (r = –0,10).

Для території КПЗ розрахували рейтинг успішності нападу та захисту вільшанки за результатами агресивних контактів (рис. 4). Показник успіху не має розмірності, він відображає відсоток успіху (+) або програшу (–) такої взаємодії.

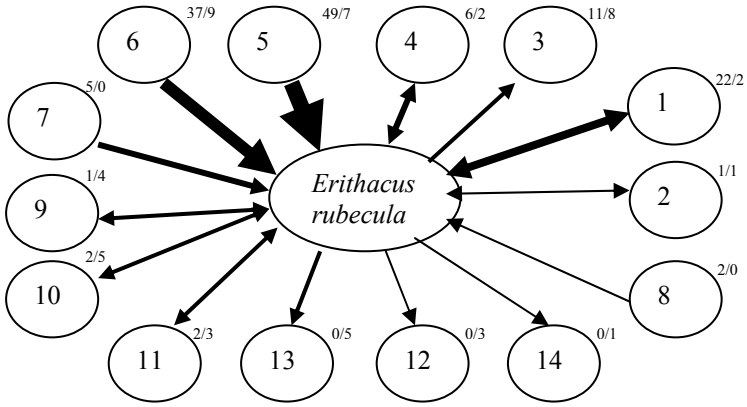


Рис. 3. Розподіл агресивних взаємодій *Erithacus rubecula* в угрупованні птахів грабової діброви КПЗ:
1 – *Parus major*, 2 – *Muscicapa striata*, 3 – *Sylvia atricapilla*, 4 – *Coccothraustes coccothraustes*, 5 – *Fringilla coelebs*, 6 – *Turdus philomelos*, 7 – *T. merula*, 8 – *Ficedula parva*, 9 – *Parus caeruleus*, 10 – *P. palustris*, 11 – *Phylloscopus sibilatrix*, 12 – *Ph. collybita*, 13 – *Hippolais icterina*, 14 – *Ficedula albicollis*; поблизу кожного виду вказано загальну кількість агресивних контактів: у чисельнику – ініційовані цим птахом, у знаменнику – спрямованих на нього

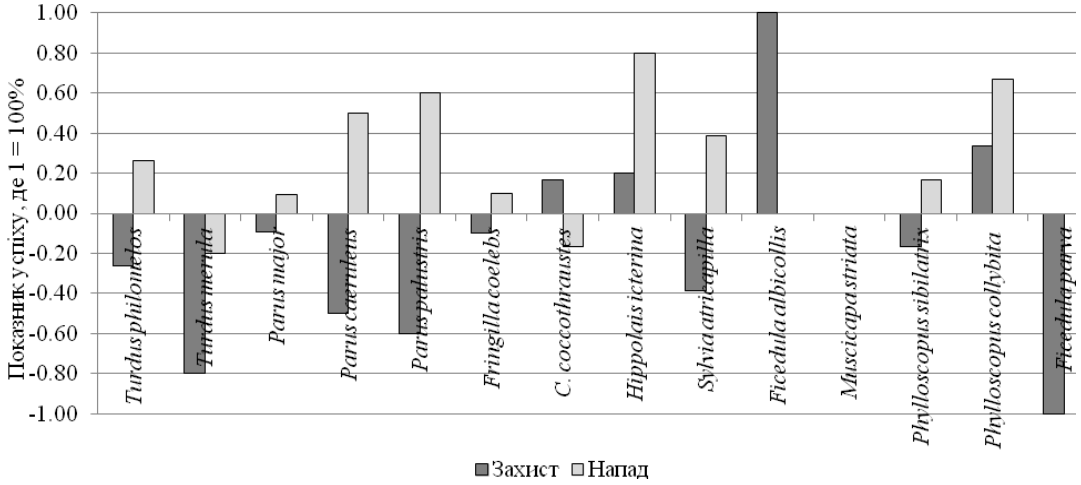


Рис. 4. Рейтинг успішності захисту та нападу для вільшанки у гніздовий період в умовах КПЗ із масовими видами території

Отже, вільшанка успішно захищає свою тимчасову територію на водопої від костогриза, берестянки звичайної, мухоловки білошийої та вівчарика-ковалика (показники захисту зі знаком «+»), перебуваючи на місці водопою до появи цих видів. Під час конфліктних зіткнень з іншими видами захист території не закінчується успіхом (показники зі знаком «–»), наприклад, абсолютний програш відмічено за умов зіткнення з мухоловкою малою (хоча такі зустрічі поодинокі) та майже завжди – із дроздом чорним (винятком були молоді особини дрозда). Успішність нападу (тобто перемога в агресивному зіткненні з особинами, які перебували на місці водопою до появи вільшанки) завжди спостерігалася в конфлікті з берестянкою звичайною та вівчариком-коваликом. Показники успіху захисту та нападу під час взаємодії з іншими видами рівнозначні (у тому числі й випадки з нульовим показником).

Таким чином, припускаємо, що особини, які завжди програють в агресивному зіткненні з вільшанкою (незалежно, чи ініціюють вони конфлікт, чи є об'єктами нападу, чи більші або менші за розміром), завжди мають нижчий ранг від вільшанки у лісовому угрупованні

птахів. Навпаки, види, які завжди перемагають у конфлікті, котрим вільшанка програє і захист, і напад, – більш високорангові види, які посідають вищий ієрархічний рівень в угрупованні. А рівнозначні показники нападу та захисту території для інших видів свідчать про однаковий ранг виду з вільшанкою, а також вказують на можливість «лабільного рангу» (такого, що буде залежати лише від випадкового результату зіткнення, у певному місці та на незначний період часу).

Критична відстань. Також ми фіксували критичну відстань між чисельними видами на водопої у КПЗ, на якій вільшанка виявляє агресію до свого та інших видів. Критична дистанція у ВВ агресії вільшанки становить 42,2 ± 8,3 см. У МВ контактах ця відстань варіювала: для кропив'янки чорноголової 89,7 ± 7,8 см, синиці великої – 27,7 ± 7,9 см (траплялися поодинокі цілеспрямовані випадки агресії з відстані у 1,5 м та у випадку порушення індивідуальної дистанції у 5 см), зяблика – 32,5 ± 8,7 см, гаїчки болотяної – 37,9 ± 9,3 см. Зворотна критична відстань для нападу на вільшанку у зяблика становить – 36,0 ± 14,9 см (максимальний діапазон толерантності коливався від 5 см до 1 м), у кропив'янки чорноголової – 34,2 ± 9,7 см, синиці великої – 40,0 ± 13,5 см, дрозда співочого – 180,0 ± 22,2 см. Отримані дані вказують не лише на параметри критичної дистанції, а й на безпосередню конкурентну значущість кожного з видів один відносно одного. Чим більша критична відстань між видами – тим вищий рівень даного виду як потенційного конкурента за наявний ресурс.

Це дослідження розкриває певні можливі сценарії агресивної поведінки на місцях водопою на природних територіях. Відмінності участі вільшанки у соціальних взаємодіях набувають більшого значення для пояснення адаптивних індивідуальних відмінностей поведінки тварин і, ймовірно, являють собою частину еволюційного процесу (Dingemanse and de Goede, 2004; Colléter and Brown, 2011). Подібні дослідження проведено на різних територіях та у різні роки на прикладі європейських бабаків (Hewitt et al., 2009). Останні дані стосовно агресії серед сірих гусей (Weiss et al., 2011) виявили, що домінантна поведінка може залежати не тільки від внутрішніх чинників, а й від пори року та соціального середовища. Оптимальний вибір для досягнення або підтримання високого рангу домінування може значно відрізнятися між стадіями життєвого циклу. Це підкреслює значення довгострокових досліджень і багатофакторних підходів для розуміння складності домінування відносин для тварин.

Існує безпосередньо індивідуальна поведінкова реакція особин певної групи на зовнішні ознаки та тип поведінки представників усього виду. Для етологічних досліджень такі ознаки слугують ключем до розуміння поведінкової екології та кількісної генетики. Взаємодія між окремими особами (у соціальних умовах) – один з основних факторів зміни поведінкових реакцій на різних рівнях ієрархії (Dingemanse and Araya-Ajoy, 2015). Соціальні взаємодії викликають перебудову складних типів поведінки та мають властивість виникати на рівні групи. Такий механізм зміни поведінкової стратегії має невідомі еволюційні наслідки, що виправдовують його вивчення.

Висновки

Для вільшанки зафіксовано часовий зсув у зайнятості поведінковими актами протягом доби на водопої у гніздовий період в умовах міста, на відміну від природної території. Агресивні взаємодії достовірно корелюють із поведінковими актами, що дає можливість вивчати конкурентні взаємовідносини видів на місцях водопою. Як у природних, так і в антропогенно навантажених територіях відсоток внутрішньовидової агресії більший, ніж міжвидової агресії. У той же час, загальна кількість міжвидових зустрічей більша за внутрішньовидові, що вказує на важливість формування міжвидової структури угруповання. Виявлено обернену кореляцію випадків агресії на розмірні показники виду, на який спрямовано агресію вільшанки, зафіксовано критичну відстань прояву агресії. Найчастіше агресія направлена на особин, що вже перебувають на водопої, ніж, до птахів, що прилітають після вільшанки. Найбільшу кількість вдалих випадків захисту території спостерігали у взаємодіях із мухоловкою білошиєю, а найуспішніший напад відмічено за умов контактів із вівчариком-коваликом, берестянкою, гаїчкою болотяною та синицею блакитною.

Бібліографічні посилання

Amanova, M.A., 1982. Jekologo-morfologicheskie i fiziologicheskie adaptacii vodnogo obmena ptic Karakumov [Ecological, morphological and physiological adaptations in the water metabolism of birds of Karakum]. Ylym, Ashgabat (in Turkmenistan).

Arnott, G., Elwood, R.W., 2009. Assessment of fighting ability in animal contests. Anim. Behav. 77, 991–1004.

Brumm, H., Ritschard, M., 2010. Song amplitude affects territorial aggression of male receivers in chaffinches. Behav. Ecol. 22(2), 310–316.

Colléter, M., Brown, C., 2011. Personality traits predict hierarchy rank in male rainbowfish social groups. Anim. Behav. 81(6), 1231–1237.

Dingemanse, N.J., Araya-Ajoy, Y.G., 2015. Interacting personalities: Behavioural ecology meets quantitative genetics. Trends Ecol. Evol. 30(2), 88–97.

Dingemanse, N.J., de Goede, P., 2004. The relation between dominance and exploratory behavior is context-dependent in wild great tits. Behav. Ecol. 15(6), 1023–1030.

Fesenko, G.V., Bokotey, A.A., 2002. Ptahy fauny Ukrai'ny [Ukrainian Birds Fauna]. Kiyiv (in Ukrainian).

Foltz, S.L., Ross, A.E., Laing, B.T., 2015. Get off my lawn: Increased aggression in urban song sparrows is related to resource availability. Behav. Ecol. 25, 871–884.

Forsman, J.T., Thomson, R.L., Seppänen, J.T., 2007. Mechanisms and fitness effects of interspecific information use between migrant and resident birds. Behav. Ecol. 18(5), 888–894.

Gorobets, L.V., 2011. Znachennja misc' vodpoju dlja gnizdovyh ptahiv lisovyh ekosystem [The significance of watering places for breeding bird populations of forest ecosystems]. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv (in Ukrainian).

Grabowska-Zhang, A.M., Wilkin, T.A., Sheldon, B.C., 2011. Effects of neighbor familiarity on reproductive success in the great tit (*Parus major*). Behav. Ecol. 23(2), 322–333.

Grava, A., Grava, T., Didier, R., Lait, L.A., Dosso, J., Koran, E., Butg, T.M., Otter, K.A., 2011. Interspecific dominance relationships and hybridization between black-capped and mountain chickadees. Behav. Ecol. 23(3), 566–572.

Grether, G.F., Anderson, C.N., Drury, J.P., Kirschel, A.N.G., Losin, N., Okamoto, K., Peiman, K.S., 2013. The evolutionary consequences of interspecific aggression. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1289, 48–68.

Hammerstein, P., Parker, G.A., 1982. The asymmetric war of attrition. J. Theor. Biol. 96, 647–682.

Hasegawa, M., Ligon, R.A., Giraudeau, M., Watanabe M., McGraw, K.J., 2014. Urban and colorful male house finches are less aggressive. Behav. Ecol. 25(3), 641–649.

Haynd, R., 1975. Povedenie zhivotnyih [Animals behavior]. Mir, Moskov (in Russian).

Hewitt, S.E., Macdonald, D.W., Dugdale, H.L., 2009. Context-dependent linear dominance hierarchies in social groups of European badgers, *Meles meles*. Anim. Behav. 77(1), 161–169.

Ivanitskiy, V.V., 1982. Etologicheskie aspektyi vzaimootnosheniy mezhdu blizkimi vidami zhivotnyih [Ethological aspects of relationship between close animal species]. Zool. Zh. 61(10), 1461–1471 (in Russian).

Ivannitskiy, V.V., 1980. Mezhvidovyie otnosheniya simpatricheskih vidov kamenok (Oenanthe, Turdidae, Passeriformes). Povedencheskie aspektyi sosuschestvovaniya blizkih vidov [Interspesific relationship sympatric species heaters (Oenanthe, Turdidae, Passeriformes). The behavioral aspects of coexistence of similar species]. Zool. Zh. 59(5), 739–749 (in Russian).

Kotenko, S., 2011. Vil'shanka [Robin]. Retrieved from http://pernatidruzi.org.ua/art.php?id=405

Lehtonen, T.K., McCrary, J.K, Meyer, A., 2010. Territorial aggression can be sensitive to the status of heterospecific intruders. Behav. Process. 84, 598–601.

Mikami, O.K., Kawata, M., 2004. Does interspecific territoriality reflect the intensity of ecological interactions? A theoretical model for interspecific territoriality. Evol. Ecol. Res. 6, 765–775.

Panov, E.N., 1983. Metodologicheskie problemyi v izuchenii kommunikatsii i sotsialnogo povedeniya zhivotnyih [Methodological problems in studying of communication and social behavior of animals]. Problemyi Etologii Nazemnyih Pozvonochnyih 12, 5–70 (in Russian).

Panov, E.N., Ivanitskiy, V.V., 1975. Mezhvidovyie territorialnyie otnosheniya v smeshannoy populyatsii chernobokoy kamenki *Oenanthe finchi* i kamenki-pleshanki *O. pleschanka* na poluostrove Mangyishlak [The interspecific territorial relations in the mixed population of Finsch's Wheatear *Oenanthe finchi* and pied wheatea *O. pleschanka* on the peninsula of Mangyshlak]. Zool. Zh. 54(9), 1357–1370 (in Russian).

Panov, E.N., Ivanitskiy, V.V., 1979. Prostranstvennyie vzaimootnosheniya chetyireh vidov sorokoputov v Yuzhnoy Turkmenii [Spatial relationship of four types of shrikes in the Southern Turkmenistan]. Zool. Zh. 58(10), 1518–1535 (in Russian).

Peiman, K.S, Robinson, B.W., 2010. Ecology and evolution of resource-related heterospecific aggression. Q. Rev. Biol. 85, 133–158.

Popov, S.V., Ilchenko, O.G., 2008. Metodicheskie rekomendatsii po etologicheskim nablyudeniyam za mlekopitayuschimi v nevole [Methodical recommendations about ethological supervision over mammals in slavery]. Moskovskiy zoopark. Moskov (in Russian).

Reichert, M.S., Gerhardt, H.C., Behavioral strategies and signaling in interspecific aggressive interactions in gray tree frogs. Behav. Ecol. 25(3), 520–530.

Ryabitsev, V.K., 1977. Rezultatyi issledovaniya mezhvidovyih territorialnyih otnosheniy ptits na Yuzhnom Yamale [Results of research of the interspecific territorial relations of birds on the Southern Yamal]. Zool. Zh. 56(2), 232–242 (in Russian).

Shefer, M., 2004. Jazyk loshadej: Obraz zhizni, povedenie, formy obshhenija [Language of horses: Lifestyle, behavior, forms of communication]. Akvarium-Print, Moscow (in Russian).

Sushma, H.S., Singh, M., 2006. Resource partitioning and interspecificinteractions among sympatric rain forest arboreal mammals of the Western Ghats, India. Behav. Ecol. 17(3), 479–490.

Tanner, C.J, Adler, F.R., 2009. To fight or not to fight: Context-dependent interspecific aggression in competing ants. Anim. Behav. 77, 297–305.

Tynkkynen, K., Rantala, M.J., Suhonen, J., 2004. Interspecific aggression and character displacement in the damselfly *Calopteryx splendens*. J. Evol. Biol. 17, 759–767.

Umapathy, G., Kumar, A., 2000. The occurrence of arboreal mammals in the wet evergreen forests of the Anamalai hills in the Western Ghats, South India. Biol. Conserv. 92, 311–319.

Weiss, B.M., Kotrschal, K., Foerstera, K., 2011. A longitudinal study of dominance and aggression in greylag geese (*Anser anser*). Behav. Ecol. 22(3), 616–624.

Надійшла до редколегії 17.06.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 290–294.

doi:10.15421/011637

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 579.222:547.979.8

Отримання та аналіз препаратів каротиноїдів деяких штамів ксилотрофних базидіоміцетів

А.К. Велигодська, О.В. Федотов

Донецький національний університет, Вінниця, Україна

Мета дослідження – обрати оптимальні умови отримання препаратів каротиноїдів міцеліального походження штамів базидіоміцетів *Laetiporus sulphureus* Ls-08, *Fomes fomentarius* Ff-1201 і *Fistulina hepatica* Fh-18 та дослідити антибактеріальну та загальну антиоксидантну активність цих сполук. Штами вирощували поверхнево на модифікованому для кожного продуцента глюкозопептонному середовищі. Міцелій штамів гомогенізували, пігменти екстрагували етиловим спиртом і відганяли розчинник під вакуумом за 60 ºС. Спектри поглинання препаратів каротиноїдів реєстрували у спиртових розчинах за довжини хвилі 350–500 нм. Антибактеріальну активність препаратів каротиноїдів визначали методом дифузії в агар, а загальну антиоксидантну активність – DPPH-методом. Оптимальна температура екстракції каротиноїдів – 60 ºС. У спектрах поглинання каротиноїдних препаратів виявлено максимуми 420, 450 та 470 нм, які відповідають β-каротину. Найвищу антиоксидантну активність зафіксовано для препаратів каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, отриманих за температури екстракції 40 та 60 ºС відповідно. Антибактеріальна активність препаратів відносно тест-культур не залежить від видової приналежності мікроорганізмів. Препарати 20% концентрації штаму *L. sulphureus* Ls-08 мають найвищу антибактеріальну активність до тест-культур *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*, а міцелію *F. hepatica* Fh-18 – до *Candida albicans*. Температура екстракції 60 ºС оптимальна для виходу міцеліальних каротиноїдів досліджених штамів. Препарати каротиноїдів проявляють антибактеріальну активність відносно тестових культур мікроорганізмів. Найвища антиоксидантна активність властива препаратам каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, що виділені за 40 та 60 ºС відповідно.

Ключові слова: антибактеріальна активність; антиоксидантна активність; поверхневе культивування; екстракція

The production and analysis of carotenoid preparations from some strains of xylotrophic Basidiomycetes

A.K. Velygodska, O.V. Fedotov

Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine

The aim of the study was selection of optimal conditions for obtaining carotenoid drugs of mycelium origin from the basidiomycete strains *Laetiporus sulphureus* Ls-08, *Fomes fomentarius* Ff-1201 and *Fistulina hepatica* Fh-18 and the study of antibacterial and total antioxidant activity of these compounds. The strains were surface grown on a glucose-peptone medium modified for each producer. The homogenized pigments of the mycelium strains were extracted with ethanol and the solvent was separated under vacuum at 60 ºC. The absorption spectra of the carotenoid drugs were recorded for alcoholic solutions at 350–500 nm. The antibacterial activity of the carotenoids was determined by the agar diffusion method, and the total antioxidant activity was determined by the DPPH-method. It was found that the optimum temperature for carotenoid extraction is 60 °C. The absorption spectra of carotenoid drugs showed three peaks in 420, 450 and 470 nm. These results respond to the β-carotene absorption spectra. The highest antioxidant activity was noted for carotenoid drugs from *F. hepatica* Fh-18 and *L. sulphureus* Ls-08 strains obtained at an extraction temperature of 40 and 60 °C respectively. The antibacterial activity of carotenoid drugs against the test cultures was not species dependent. Carotenoid drugs with a 20% concentrate obtained from the *L. sulphureus* Ls-08 strain had the highest antibacterial activity against the test cultures *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Carotenoids from the mycelium of *F. hepatica* Fh-18 had the highest antibacterial activity against the test culture *Candida albicans*. Extraction temperature of 60 °C is optimal for mycelial yield of carotenoids from the studied strains. All preparations of

Донецький національний університет, вул. 600-річчя, 21, Вінниця, 21021, Україна
Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine
Тел.: +38-097-631-68-99. E-mail: a.velygodska@donnu.edu.ua

carotenoids exhibited antibacterial activity against the test microorganism cultures. The carotenoid drugs obtained at 40 and 60 °C from the strains *F. hepatica* Fh-18 and *L. sulphureus* Ls-08 respectively showed the highest antioxidant activity.

Keywords: antibacterial activity; antioxidant activity; surface cultivation; extraction

Вступ

Результати численних досліджень довели перспективність використання базидіоміцетів як основи комерційних лікувально-профілактичних препаратів (Wasser, 2010). У зв'язку з цим актуальні завдання мікології та біотехнології – не тільки пошук культур-продуцентів, а і розробка способів їх культивування та отримання біологічно активних речовин (БАР). Такі природні речовини порівняно з продуктами хімічного синтезу менш токсичні та більш ефективні для застосування в медичній практиці та виробництві (Fedotov, 2007; Pirog, 2010).

Серед широковживаних натуральних пігментів особливе місце займають каротиноїди – речовини полієнової природи. Вони мають виражені антиоксидантні властивості та виконують у живій клітині численні фізіологічні функції: зв'язують синглетний кисень, стабілізують біологічні мембрани, блокують світло УФ-діапазону тощо (Gessler et al., 2003). Їм притаманна також провітамінна функція – окисний розпад цих сполук у тканинах зумовлює утворення вітаміну А (Britton, 1986; Kapich et al., 2008). Каротиноїди знайшли широке використання як барвники та антиоксиданти в різних галузях промисловості (Fedotov, 2007; Eldahshan et al., 2013). Важлива перевага отримання каротиноїдів мікологічного походження – відсутність сезонної залежності біотехнологічного виробництва, екологічна чистота одержаних препаратів, доступність сировинних ресурсів (Pirog, 2009).

У попередніх дослідженнях ми вивчили загальний вміст поліфенольних речовин і каротиноїдів у карпофорах 50 видів базидіоміцетів, з яких 27 належать до порядку Polyporales, а 23 – до порядку Agaricales (Fedotov et al., 2014). Результати досліджень стали основою виділення та подальшого вивчення культурально-морфологічних та біохімічних ознак штамів базидіоміцетів – перспективних продуцентів цих речовин: *Laetiporus sulphureus* Ls-08, *Fomes fomentarius* Ff-1201 та *Fistulina hepatica* Fh-18. Подальше культивування обраних штамів стало основою отримання каротиноїдів як міцеліального, так і позаклітинного походження (Fedotov et al., 2014; Veligodska et al., 2014). Мета цього дослідження – отримати та проаналізувати препарати каротиноїдів міцеліального походження відібраних культур базидіоміцетів.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкти досліджень – три високопродуктивні штами ксилотрофів: *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill Ls-08 та *Fomes fomentarius* (L.) Fr. Ff-1201 з порядку Polyporales та *Fistulina hepatica* (Schaeff.) Sibth Fh-18 з порядку Agaricales (Fedotov et al., 2014). Вони зберігаються у Колекції культур базидіоміцетів кафедри фізіології рослин Донецького національного університету МОН України та депоновані у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (IBK).

Досліджувані штами вирощували поверхнево за 27 ± 1 °C на глюкозо-пептонному середовищі (ГПС), модифікованому для кожного продуцента (Veligodska et al., 2014) pH середовища – 6,5 ± 0,1 для *F. fomentarius* Ff-1201 і *F. hepatica* Fh-18 та 3,5 ± 0,1 – для *L. sulphureus* Ls-08. Інокулюм (10-добові міцеліальні культури штамів на сусло-агарі) складав 5–7% від об'єму ГПС. Термін культивування становив 12–15 діб, до досягнення максимального рівня накопичення каротиноїдів у культурі (Fedotov et al., 2014).

Розроблено процес отримання препаратів міцеліальних каротиноїдів штамів *F. fomentarius* Ff-1201, *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08 (рис. 1).

По закінченні терміну культивування міцелій штамів відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрування на капроновій тканині та піддавали механічній деградації за 20 ºС. Отриманий гомогенат екстрагували етиловим спиртом (90%) у співвідношенні сировини та екстрагента 1 : 5 протягом 10 хв за 20, 40, 60 та 80 ºС. Наступним етапом з екстрактів каротиноїдів, отриманих за різних умов, відганяли розчинник під вакуумом за температури не вище 60 ºС.

Спектри поглинання отриманих препаратів каротиноїдів реєстрували у спиртових розчинах на спектрофотометрі Granum 722 у діапазоні 350–500 нм (Musienko et al., 2001).

Вивчення антибактеріальної активності препаратів каротиноїдів проводили методом дифузії в агар. Для цього готували двошарове середовище (ДС). Нижній шар ДС мав такий склад: агар – 20 г, KH_2PO_4 – 3 г, вода дистильована – 1 л, pH – 6,8–7,0; верхній шар – бульйон Хоттингера – 135 мг% амінного азоту, агар – 10 г, KH_2PO_4 – 3 г, вода дистильована – 1 л, pH – 6,8–7,0. До верхнього шару вносили культуру бактерій із розрахунку 20 тис. мікробних клітин/мл. Після цього робили лунки у середовищі діаметром 8 мм, у які вносили препарат каротиноїдів у різних розведеннях. Антибактеріальну активність препарату вивчали на тест-штамах, рекомендованих ВООЗ: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Для контрольного порівняння використовували водні розчини сангвіритрину (Barry, 1993).

Для визначення загальної антиоксидантної активності (АОА) до 2,8 мл 60 мМ розчину DPPH у метанолі додавали 0,2 мл спиртового 1% розчину препарату каротиноїдів. Змінення оптичної густини розчину фіксували упродовж 15 хв на UV/VIS спектрометрі за довжини хвилі 517 нм. Відсоток змінення оптичної густини розчину визначали за формулою:

$$(\%) = [(A_0 - A_1)]/(A_0)] \times 100,$$

де A_0 – оптична густина спиртового розчину DPPH; A_1 – оптична густина спиртового розчину DPPH через 15 хвилин додавання після препарату каротиноїдів (Okawa, 2001; Molyneux, 2004).

Дослідження проводили у триразовій повторності. Отримані експериментальні дані піддавали статистичній обробці згідно з керівництвом (Priseds'kiy, 1999). Відмінності вважали статистично значущими за $P < 0,05$.

Рис. 1. Схема отримання та аналізу препаратів каротиноїдних пігментів із міцелію деяких штамів базидіальних грибів

Результати та їх обговорення

Температура екстракції істотно впливає на вихід препарату каротиноїдів (табл. 1). Максимальний вихід зафіксований за температури 60 ºС для всіх штамів. Із підвищенням температури екстракції до 80 ºС спостерігається зниження виходу препарату порівняно з максимальним значенням показника на 61, 57 та 53% – для штамів *L. sulphureus* Ls-08, *F. hepatica* Fh-18 та *F. fomentarius* Ff-1201 відповідно. Можливо, це пояснюється як низькою стабільністю молекул каротиноїдних пігментів за дії високих температур, так і початком процесу денатурації протеїнової фракції (Britton, 1986).

Ідентифікацію каротиноїдних пігментів отриманих препаратів проводили шляхом спектрофотометричного вимірювання показників екстинкції їх 10% розчинів в етиловому спирті (90%) за довжини хвилі 350–500 нм з інтервалом 50 нм (рис. 2).

Установлено наявність трьох максимумів у спектрах поглинання каротиноїдних препаратів, що припадають на 420, 450 та 470 нм. За літературними даними, ці максимуми характерні для спектра поглинання β-каротину. При цьому крива екстинкції для міцеліального препарату штаму *F. hepatica* Fh-18 більш згладжена, що може говорити про наявність у препараті деякої кількості лікопіну (Britton, 1986).

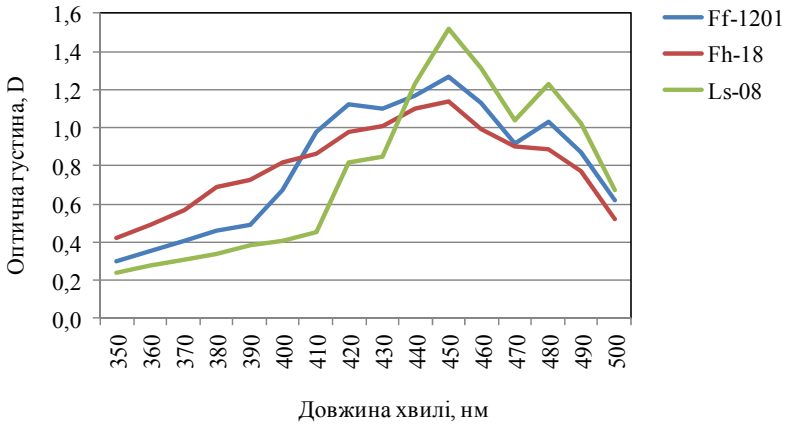


Рис. 2 Спектри поглинання спиртових розчинів каротиноїдних пігментів деяких штамів базидіоміцетів

Таблиця 1

Вихід препаратів каротиноїдів деяких штамів базидіоміцетів залежно від температури екстракції (n = 3)

Штам	Вихід, г/кг міцелію			
	20 ºС	40 ºС	60 ºС	80 ºС
Laetiporus sulphureus Ls-08	5,12 ± 0,05	5,87 ± 0,04*	6,24 ± 0,07*	2,39 ± 0,03*
Fomes fomentarius Ff-1201	3,02 ± 0,17	3,35 ± 0,02*	3,97 ± 0,04*	1,88 ± 0,20*
Fistulina hepatica Fh-18	3,13 ± 0,08	3,29 ± 0,03	3,63 ± 0,12*	1,41 ± 0,01*

Примітка: * – вірогідність відмінностей показників дослідних груп до відповідного контролю (20 ºС), P < 0,05.

Наступним кроком визначали вплив температури екстракції на рівень загальної антиоксидантної активності препаратів (рис. 3). Найвищу загальну АОА зафіксовано для препаратів міцеліальних каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, отриманих за температури екстракції 40 та 60 ºС відповідно. Препарати каротиноїдів штаму *F. fomentarius* Ff-1201 демонстрували дещо нижчу АОА порівняно з попередніми штамами з максимумом АОА за температури екстракції 40 ºС. За умови підвищення температури екстракції до 80 ºС пігментні препарати всіх досліджених штамів суттєво втрачали АОА: на 68% – штаму *L. sulphureus* Ls-08, на 64% – *F. fomentarius* Ff-1201 та на 75% – *F. hepatica* Fh-18.

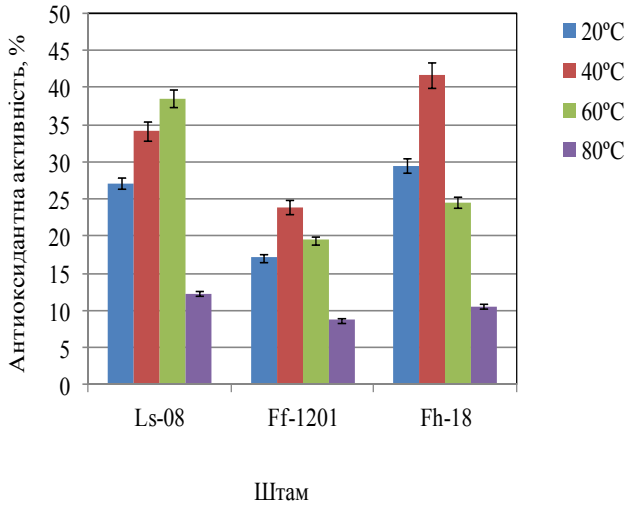


Рис. 3. Вплив температури екстракції каротиноїдів на загальну антиоксидантну активність отриманих препаратів(n = 3)

Зменшення рівня АОА препаратів із підвищенням температури екстракції, ймовірно, пов'язане з різницею складу екстрактів і частковою втратою активних форм молекул антиоксидантів.

Антибактеріальна активність отриманих препаратів каротиноїдних пігментів досліджених штамів (табл. 2) відносно тест-культур не залежить від видової приналежності мікроорганізмів: інгібуються як грампозитивні (*S. aureus*), так і грамнегативні (*E. coli*) бактерії та гриб *C. albicans* рівною мірою. Оцінка зон затримання росту тест-культур для водного екстракту каротиноїдів показала, що активність порівнянна з дією 1% водного розчину сангвіритрину, і перебуває на рівні 15,7–32,1 мм. При цьому серед отриманих препаратів базидіоміцетів препарат із міцелію *L. sulphureus* Ls-08 проявив найвищу антибактеріальну активність відносно тест-культур *S. aureus* та *E. coli* у 20% концентрації. Препарат 20% концентрації каротиноїдів із міцелію *F. hepatica* Fh-18 мав найвищу антибактеріальну активність серед усіх досліджених штамів відносно тест-культури *C. albicans*, але зона затримання росту гриба не перевищує аналогічний показник для 1% розчину сангвіритрину. Подальше підвищення концентрації препаратів каротиноїдів не викликає вірогідного збільшення зон затримання росту тест-культур.

Таблиця 2

Антибактеріальна активність міцеліальних препаратів каротиноїдів деяких штамів базидіоміцетів (n = 3)

Концентрація препарату, %	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Candida albicans*
	Зони затримання росту, мм		
Laetiporus sulphureus Ls-08			
25	24,6 ± 0,2*	32,7 ± 0,4*	25,5 ± 0,5*
20	24,2 ± 0,3*	32,7 ± 0,6*	25,2 ± 0,9*
15	21,8 ± 0,2*	31,2 ± 0,2*	23,4 ± 0,8*
10	19,5 ± 0,5*	24,7 ± 0,7*	22,7 ± 0,1*
5	17,9 ± 0,1*	19,9 ± 0,3*	18,3 ± 0,2*
1	12,5 ± 0,9*	15,1 ± 0,1	15,9 ± 0,4
Fomes fomentarius Ff-1201			
25	18,2 ± 0,2*	21,6± 0,3*	20,8 ± 0,4*
20	18,1 ± 0,1*	21,5± 0,6	20,4 ± 0,5*
15	17,9 ± 0,2*	19,9 ± 0,7	19,5 ± 0,4*
10	16,5 ± 0,4	18,2 ± 0,8	18,7 ± 0,7*
5	13,8 ± 0,5*	17,3 ± 0,1	17,3 ± 0,3*
1	11,2 ± 0,9*	13,2 ± 0,3	15,3 ± 0,9
Fistulina hepatica Fh-18			
25	19,7 ± 0,1*	15,8 ± 0,2*	27,7 ± 0,3*
20	19,4 ± 0,2*	15,7 ± 0,1*	27,5 ± 0,8*
15	18,9 ± 0,1*	13,2 ± 0,5*	24,1 ± 0,6*
10	17,2 ± 0,8	12,6 ± 0,2*	22,3 ± 0,7*
5	14,1 ± 0,6	10,1 ± 0,9*	17,8 ± 0,1*
1	13,9 ± 0,1	10,0 ± 0,3*	15,4 ± 0,4*
Сангвіритрин (контроль)			
1,00	22,2 ± 0,6	22,9 ± 0,2	32,2 ± 0,6
0,75	22,0 ± 0,5	21,5 ± 0,2	31,0 ± 0,4
0,50	19,7 ± 0,1	19,1 ± 0,5	30,1 ± 0,4
0,10	17,4 ± 0,4	19,8 ± 0,8	25,2 ± 0,7
0,05	15,1 ± 0,2	17,5 ± 0,2	19,3 ± 0,3
0,01	13,8 ± 0,4	14,2 ± 0,5	16,1 ± 0,1

Примітка: * – вірогідність відмінностей показників дослідних груп до відповідного контролю (сангвіритрин), P < 0,05.

Для порівняння результатів виходу препаратів каротиноїдів деяких штамів базидіоміцетів залежно від температури екстракції наводимо продуктивність інших природних джерел каротиноїдів. Серед рослин плоди *Lycium barbarum* мають вміст каротину – 37,7 мг/г та лікопіну – 19,6 мг/г сухої маси (Bunghez et al., 2012). Плоди *Capsicum spp.* теж багаті на каротиноїди, вміст яких перебуває в межах 0,48–3,20 г на 100 г сухої маси (Gomez-Garcia et al., 2013). Зразки пальмової олії різного сортового походження мають загальний вміст каротиноїдів 357–1 222 мг/кг (Santos et al., 2015). Виявлено мікро-

водорості *Nannochloropsis gaditana*, багаті на ці пігменти – 52 нг/10^6 клітин (Cazzonelli et al., 2011). Серед грибів для високопродуктивних штамів дріжджів *Rhodotorula glutinis* зафіксовано загальний вміст каротиноїдів у КФ – 1,6 мг/л (El-Rhman El-Banna et al., 2012).

Виявлені продуценти потребують розроблення способів отримання каротиноїдів. Виходячи з даних дослідження та літературних джерел, оптимальними речовинами для екстракції цих пігментів різного біологічного походження є етиловий спирт, гексан і хлороформ (Pintea et al., 2003; Arvayo-Enrıquez et al., 2013; Regal et al., 2014). Каротиноїди мають визнану антиканцерогенну, імуномоделювальну, антиоксидантну дію, пригнічують процеси фотосенсибілізації та знижують ризик серцево-судинних хвороб, що зумовлює перспективність подальшого вивчення властивостей, отриманих у ході дослідження препаратів (Eldahshan et al., 2013; Fiedor et al., 2013).

Висновки

Розроблено спосіб і вперше отримано препарати каротиноїдів міцеліального походження штамів *L. sulphureus* Ls-08, *F. fomentarius* Ff-1201 та *F. hepatica* Fh-18. Проведено їх аналіз і встановлено деякі індивідуальні характеристики. Температура екстракції 60 ºС оптимальна для виходу каротиноїдів для культивованих штамів. Найвищу загальну антиоксидантну активність зафіксовано для препаратів міцеліальних каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, отриманих за температури екстракції 40 та 60 ºС відповідно. Досліджені препарати проявляли антибактеріальну активність відносно тестових культур мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli* та *C. albicans*. Препарат із міцелію штаму *L. sulphureus* Ls-08 проявляв найвищу антибактеріальну активність відносно бактерій *S. aureus* та *E. coli* у 20% концентрації, а каротиноїди штаму *F. hepatica* Fh-18 – відносно тест-культури *C. albicans*. Отримані препарати каротиноїдів деяких штамів ксилотрофів мають антиоксидантні та антибактеріальні властивості, що зумовлює перспективи їх практичного застосування.

Дослідження виконане в рамках програми прикладних досліджень Міністерства освіти і науки України (проект № 0115U000090). Висловлюємо щиру подяку науковим співробітникам відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за співпрацю, надані матеріали Колекції культур шапинкових грибів (ІВК), що має статус Національного надбання України.

Бібліографічні посилання

Arvayo-Enrıquez, H., Mondaca-Fernandez, I., Gortarez-Moroyoqui, P., Lopez-Cervantes, J., Rodrıguez-Ramırez, R., 2013. Carotenoids extraction and quantification: A review. Analytical Methods 5(12), 2916–2925.

Barry, A.L., 1993. Susceptibility tests: Diffusion test procedures. ASM Press, Washington D.C.

Britton, G., 1986. Biokhimiya prirodnykh pigmentov [Biochemistry of natural pigments]. Mir, Moskow (in Russian).

Bunghez, I.R., Avramescu, S.M., Neata, M., Radulescu, G., Ion, R., 2012. Obtaining of carotenoid extract from *Lycium chinense* and characterization using spectometrical analysis. Dig. J. Nanomater. Biostruct. 7(2), 523–528.

Cazzonelli, C.I., 2011. Carotenoids in nature: Insights from plants and beyond. Funct. Plant Biol. 38, 833–847.

Eldahshan, O.A., Singab, A.N., 2013. Carotenoids. J. Pharmacogn. Phytochem. 2(1), 225–234.

El-Rhman El-Banna, A.A., El-Razek, A.M., El-Mahdy, A.A., 2012. Isolation, identification and screening of carotenoid-producing strains of *Rhodotorula glutinis*. Food and Nutrition Sciences 3(5), 627–633.

Fedotov, O.V., 2007. Wood-destroying fungi as bio-sources of ferments for medicinal and nutritional purposes. Plant and microbial enzymes: Isolation, characterization and biotechnology applications. Myza, Tbilisi 125–131.

Fedotov, O.V., Veligodska, A.K., 2014. Search producers of polyphenols and some pigments among Basidiomycetes. Biotechnol. Acta 7(1), 110–116.

Fiedor, J., Burda, K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. Nutrients 4, 466–488.

Gessler, N.N., Sokolov, A.B., Belozerskaya, T., 2003. Uchastiye ß-karotina v antioksidantnoy zashchite gribnoy kletki [The participation of ß-carotene in antioxidant protection of fungal cells]. Appl. Biochem. Microbiol. 39, 427–429 (in Russian).

Gómez-García, M.R., Ochoa-Alejo, N., 2013. Biochemistry and molecular biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum spp.*). Int. J. Mol. Sci. 14, 19025–19053.

Kapich, A.N., Gvozdkova, T.S., Kvacheva, Z.B., 2008. Antioksidantnyye, radiozashchitnyye i protivovirusnyye svoystva ekstraktov mitseliya griba *Laetiporus sulphureus* [Antioxidant, radioprotective and antiviral properties of the extracts of the mycelium fungus *Laetiporus sulphureus*]. Successes of Medical Mycology. US, Moscow. P. 146–148 (in Russian).

Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technolog. 26(2), 211–219.

Musienko, M.M., Parshikova, T.V., Slavniy, P.S., 2001. Spektrofotometricheskiye metody v praktike fiziologii, biokhimii i ekologii rasteniy [Spectrophotometric methods in the practice of physiology, biochemistry and ecology of plants]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Okawa, M., 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medical plants. Biol. Pharm. Bull. 24(10), 1202–1205.

Pintea, A., Bele, C., Andrei, S., Socaciu, C., 2003. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. Acta Biologica Szegediensis 47, 37–40.

Pirog, T.P., 2010. Biotehnologia [Biotechnology]. NUHT, Kyiv (in Ukrainian).

Priseds'kiy, Y.G., 1999. Statystychna obrobka rezul'tativ biolohichnykh eksperymentiv [Statistical processing of biological experiments results]. Kassiopeya, Donetsk (in Ukrainian).

Regal, P., Amorim-Carrilho, K.T., Cepeda, A., Fente, C., 2014. Review of methods for analysis of carotenoids. Trends in Analytical Chemistry 56, 3–64.

Santos, M.F.G., Alves, R.E., Roca, M., 2015. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. Grasas Aceites 66(3), 43–51.

Veligodska, A.K., Fedotov, O.V., Petreeva, A.S., 2014. Vplyv dzherel azotnoho zhyvlennya na syntez karotynoyidiv deyakymy shtamamy bazydiomitsetiv [Effect of nitrogen nutrition sources on carotenoids synthesis for some basidiomycetes strains]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University 4(1), 22–34 (in Ukrainian).

Wasser, S.P., 2010. Medicinal mushroom science: History, current status, future trends, and unsolved problems. Int. J. Med. Mush. 12(1), 1–16.

Надійшла до редколегії 04.07.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 295–301.

doi:10.15421/011638

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 581.17+581.19+58.02

Зміни активності каталази в листі деревних і чагарникових рослин в умовах забруднення повітря сполуками флуору, сульфуру та нітрогену

Ю.Г. Приседський

Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, Україна

Антропогенне забруднення довкілля чинить значний негативний вплив на екосистеми, порушуючи їх баланс, видовий склад тощо. Значної токсичної дії у промислових районах зазнають рослини. Разом із тим рослинні організми відіграють важливу роль у детоксикації полютантів. У зв'язку з цим ми дослідили вплив промислового забруднення повітря комплексом сполук флуору, сульфуру та нітрогену на активність каталази у десяти видів деревних і чагарникових рослин, які різняться за стійкістю до забруднення повітря. Досліди вели за схемою повного багатофакторного експерименту з двома рівнями факторів. Активність каталази визначали йодометричним методом. Отримані результати оброблені статистично за допомогою дисперсійного аналізу та множинного порівняння середніх (метод Дункана). Полютанти чинять вірогідний вплив на активність каталази у листках вивчених нами видів рослин, який залежить від стійкості рослин до забруднення, складу та концентрацій забруднювачів. У стійких видів (*Ligustrum vulgare* L., *Quercus robur* Sol., *Lonicera tatarica* L., *Eleagnus angustifolia* L., *Philadelphus coronaria* L.) активність ферменту або не змінюється, або підвищується на 11–218% порівняно з контролем залежно від складу забруднювачів, їх концентрацій та терміну дії. У видів зі змінною стійкістю за відсутності пошкоджень каталазна функція не змінюється. Чутливі до полютантів види (*Sorbus aucuparia* L., *Fraxinus lanceolata* Borkh) характеризуються вірогідним зниженням каталазної активності на 20–77% залежно від терміну дії газів у всіх варіантах досліду. У видів зі змінною стійкістю (*Aesculus hippocastanum* L., *Acer negundo* L., *Populus simonii* Carrière) реакція відповіді неоднозначна, залежить від наявності пошкоджень. Якщо листя цих рослин не має видимих пошкоджень (некрозів), активність ферменту не змінюється. За наявності уражень листкових пластинок каталазна функція знижується на 11–65% відносно контролю. Виявлений характер змін активності каталази дозволяє зробити висновок про значну роль ферменту в детоксикації полютантів і зменшенні їх впливу на обмінні процеси рослинних організмів.

Ключові слова: стійкість рослин; комплексне забруднення повітря; антиоксидантні ферменти

Changes in catalase activity in leaves of wood and bushy plants in the conditions of air pollution by compounds of fluorine, sulfur and nitrogen

Y. Prysedskyj

Vasyl Stus Donetsk National University, Vinnitsa, Ukraine

Recently environmental pollution by industrial waste products has become a significant environmental factor that essentially limits the vital functions of plants and reduces their species diversity. The antioxidant system is of special importance for tolerance reactions of plants to stressful environmental conditions, in particular, contamination by industrial pollutants. One of the constituents of this system is oxidoreductase, including catalase. Consequently, we have conducted experiments to determine how the nature of the complex compounds of fluorine, nitrogen and sulfur influences catalase activity in leaves of selected species of trees and shrubs. The investigation was made according to the complete factorial experiment that allowed us to study the effect of these pollutants both individually and in combination. We used the iodometric method to determine the level of catalase activity. Statistical analysis of the obtained results was performed by means of dispersion analysis with the comparison according to the Duncan method. The results of the research showed the possible impact of pollutants on the activity of catalase, which depends on the resilience of the plants, structure and duration of potency of the pollutants. With less resilient plant species (*Sorbus aucuparia* L., *Fraxinus lanceolata* Borkh.) air pollution with a combination of fluorine, sulfur and nitrogen in most cases caused a reduction of catalase activity. Thus, in *S. aucuparia* a 5-hour exposure to low concentrations of pollutants (HF – 0.2 ml/m^3, NH_3 – 1.2 ml/m^3, SO_2 and H_2SO_4 – 0.9–1.0 ml/m^3) caused an inhibition of catalase activity by 40.5%, and a ten-hour expo-

Донецький національний університет імені Василя Стуса, вул. 600-річчя, 21, Вінниця, 21021, Україна
Vasyl Stus Donetsk National University, 600th Anniversary Str., 21, Vinnitsa, 21021, Ukraine
Tel.: +38-066-053-24-09. E-mail: yu.prysedskyi@donnu.edu.ua

sure caused a 61.4% inhibition compared with the control plants. With increased concentrations of pollutants catalase function was inhibited by 35.8–73.6%, depending on the duration of their fumigation. For *F. lanceolata*, the pollutants' effect on catalase activity caused a decrease in function of this enzyme by 20–77% compared with non-fumigated plants. In contrast to the less resilient plants, the species resilient against pollution (*Ligustrum vulgare* L., *Quercus robur* Sol., *Lonicera tatarica* L., *Eleagnus angustifolia* L., *Philadelphus coronaria* L.) were characterized by absence of possible changes in catalase activity caused by fumigation or by increase in catalase by 11–118%. A significant increase of catalase functions in these species mostly occurs because of the short-term effect (5 hours) of pollutants. In the absence of damage, the enzyme activity of species of variable resilience (*Aesculus hippocastanum* L., *Acer negundo* L., *Populus simonii* Carriere) remained at the level of the control plants. The gas mixture that damages leaves (necrosis) caused catalase functions to decrease by 11–80% compared with the control plants. Thereby, we can state that in the absence of visible damage of plants enzyme activity either remained unchanged or increased compared with the control plants. Formation of necrosis caused a decrease in catalase functions. The patterns of changes in catalase activity we have identified allow us to conclude that this enzyme plays a significant role in liquidation of damage caused by air pollutants.

Keywords: plant resistance; integrated air pollution; antioxidant enzymes

Вступ

Антропогенне забруднення довкілля промисловими, транспортними, сільськогосподарськими відходами останнім часом набуло значення глобального екологічного чинника (Sutinen, 1996; Bergman, 1999; Pertti, 2001; Mandal, 2006; Gandstase et al., 2013; Brygadyrenko and Ivanyshyn, 2015; Durga et al., 2015; Jing et al., 2016). Особливо значущі зміни довкілля характерні для України, де сконцентровані потужні підприємства хімічної, металургійної, енергетичної та інших галузей промисловості із застарілими технологіями (Bobyliov et al., 2014). Г.М. Ількун (Il'kun, 1971, 1978) виділив особливий тип забруднення – український, який характеризується великим різноманіттям, високими концентраціями та далеким перенесенням полютантів. Такі характеристики визначають небезпеку не тільки для України, а і для суміжних країн. Забруднення довкілля спричинює значне обмеження процесів життєдіяльності рослин (Sharma et al., 1980; Soda, 2000; Dizengremel, 2001), знижує їх продуктивність (Pack, 1971; Ganatsasa et al., 2011), викликає зменшення і загибель видового різноманіття (Cape, 1993).

Один із процесів у рослинних організмах, який спричинюється різноманітними несприятливими факторами середовища, – оксидантний стрес, викликаний накопиченням активних форм оксигену та вільних радикалів. Накопичення окиснених речовин і активних форм кисню можуть викликати низькі температури, порушення балансу між діоксидом карбону та оксигеном (Luma et al., 2016), дія важких металів і засолення ґрунту (Klumpp et al., 2000), забруднення атмосферного повітря (Olszyk et al., 1991; Langebartels et al., 2002; Frei et al., 2012; Czegeny et al., 2016). Велике значення в реакціях толерантності рослин до стресових умов довкілля, зокрема, забруднення промисловими полютантами, має антиоксидантна система. Одна зі складових цієї системи – оксидоредуктази, у тому числі каталаза. Як показали багато дослідників (Vinnychenko and Dolhova, 2001; Rossychina et al., 2011; Wuytack et al., 2013; Seyyedneja et al., 2013; Wang et al., 2014; Rossychina-Halycha et al., 2014), стійкі до стресорів рослини характеризуються підвищенням активності оксидоредуктаз за дії несприятливих умов, тоді як у чутливих рослин, як правило, спостерігається пригнічення активності цих ферментів. Разом із цим, вплив складних комплексів забруднювачів повітря, характерних для промислових зон України, практично не досліджений. У зв'язку з цим вивчено вплив комплексу сполук флуору, нітрогену та сульфуру на зміни активності каталази у листках деяких видів деревних і чагарникових рослин.

Матеріал і методи досліджень

Як об'єкти досліджень використано десять видів деревних і чагарникових рослин, які відрізняються стійкістю до забруднення повітря: бирючина звичайна (*Ligustrum vulgare* L.), дуб звичайний (*Quercus robur* Sol.), жимолость татарська (*Lonicera tatarica* L.), маслинка вузьколиста (*Eleagnus angustifolia* L.), садовий жасмин звичайний (*Philadelphus coronaria* L.) – стійкі види; гіркокаштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* L.), клен ясенелистий (*Acer negundo* L.), тополя китайська (*Populus simonii* Carrière) – види зі змінною стійкістю; горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) та ясен ланцетний (*Fraxinus lanceolata* Borkh) – нестійкі види (Prysedskyj, 2014). Вибір цих рослин зумовлений їх широким використанням у зеленому будівництві степової зони (Lypa, 1977; Antipov, 1979). Пагони дослідних рослин довжиною 30–40 см зрізали в районах, що не піддаються хронічному забрудненню повітря, та розміщували у колби з водою. Після цього їх піддавали фумігації сумішами аміаку, флуориду гідрогену, сірчистого ангідриду та парів сірчаної кислоти за схемою повного дворівневого багатофакторного експерименту (табл. 1) у фумігаційній камері (Popov and Nehruc'ka, 1973). Контрольні пагони містилися в контрольному відсіку камери, гази на них не діяли.

Для визначення каталазної функції використано листки із середньої частини пагонів. Активність ферменту визначали йодометричним методом, заснованим на здатності каталази руйнувати пероксид водню (Bojko et al., 2014). Досліди проводили у десятиразовій повторності. Для з'ясування вірогідності впливу забруднення на активність каталази застосовували дисперсійний аналіз. Порівняння середніх здійснювали методом Дункана (Prysedskyj, 1999). Обробку проводили за допомогою пакета статистичних програм, створених на кафедрі фізіології рослин ДонНУ (Prysedskyj, 2005).

Таблиця 1

Концентрації забруднювачів (мл/м^3)

№ варіанта	NH_3	HF	SO_2	H_2SO_4
1	1,2	0,2	1,0	0,9
2	12,0	0,2	1,0	0,9
3	1,2	2,0	1,0	0,9
4	12,0	2,0	1,0	0,9
5	1,2	0,2	10,0	9,0
6	12,0	0,2	10,0	9,0
7	1,2	2,0	10,0	9,0
8	12,0	2,0	10,0	9,0

Результати та їх обговорення

Забруднення повітря сумішами сполук флуору, сульфуру та нітрогену спричинює вірогідні зміни активності каталази в усіх досліджуваних видів рослин. Характер змін залежить від чутливості рослин, складу та концентрацій полютантів, терміну їх дії (табл. 2). У бирючини звичайної дія забруднювачів не викликає вірогідних змін активності каталази майже в усіх варіантах фумігації. Разом із цим, дія сполучення аміаку з флуоридом водню (варіант 4) викликає підвищення активності цього ферменту на 11–49% порівняно з контролем, а суміш кислих газів ($HF + SO_2 + H_2SO_4$, варіант 7) за п'ятигодинної дії збільшує активність каталази на 33%. У варіантах із високою концентрацією NH_3 (варіант 2) та флуору (варіант 3) спостерігається тенденція до підвищення функції каталазної.

У дуба звичайного вірогідне підвищення каталазної функції відбувається за дії високих концентрацій сірчистого ангідриду та парів сірчаної кислоти (варіанти 5 та 6). За цих умов активність ферменту становить 145–318% від контролю. Високі концентрації всіх полютантів (варіант 8) за десятигодинної дії викликають зниження каталазної активності на 24%. За всіх інших сполучень токсикантів вірогідних змін активності ферменту не виявлено.

Для жимолості татарської характерна відсутність вірогідної дії комплексу забруднювачів на активність каталази практично в усіх варіантах фумігації. Значуще підвищення активності ферменту спостерігали за дії низьких концентрацій суміші полютантів (варіант 1) та за високих концентрацій сірчистого ангідриду та парів сірчаної кислоти (варіант 5). За цих умов активність каталази зростає у 1,3–1,9 раза порівняно з рослинами, яких не піддавали дії полютантів. Високі концентрації сполук флуору, сульфуру та нітрогену спричинюють зниження активності каталази на 34–37%. Слід зазначити, що пригнічення каталазної функції збігається з появою незначних (до 10–15%) видимих пошкоджень листкових пластинок.

Таблиця 2

Вплив забруднення повітря на активність каталази в листі деревних і чагарникових рослин (n = 10)

№ варіанта	Термін фумігації, год.	Активність каталази, мкМоль H_2O_2/г·хв			
		M ± m	різниця (D)	допуск Дункана (D^{Dk})	% до контролю
1	2	3	4	5	6
Стійкі види					
Бирючина звичайна (*Ligustrum vulgare* L.)					
1	контроль	18,598 ± 2,189	–	–	100,00
	5	15,406 ± 1,746	–3,192	4,790	82,84
	10	18,433 ± 2,077	–0,165	4,033	99,11
2	контроль	18,027 ± 1,902	–	–	100,00
	5	19,252 ± 1,257	–1,225	4,397	106,80
	10	12,136 ± 1,297	–5,891*	4,790	67,32
3	контроль	16,500 ± 1,046		–	100,00
	5	16,893 ± 1,458	–0,393	4,033	102,38
	10	13,389 ± 1,345	–3,111	4,790	81,15
4	контроль	15,767 ± 1,157			100,00
	5	17,571 ± 1,159	–1,804	4,499	111,44
	10	23,352 ± 2,082	7,585*	4,790	148,11
5	контроль	22,114 ± 1,524		–	100,00
	5	20,118 ± 2,078	–1,996	4,252	90,97
	10	15,551 ± 1,672	–6,563*	4,790	70,32
1	2	3	4	5	6
6	контроль	13,910 ± 1,087	–	–	100,00
	5	13,540 ± 1,383	–0,370	4,033	97,34
	10	14,518 ± 1,028	–0,608	4,252	104,37
7	контроль	15,473 ± 1,168	–	–	100,00
	5	20,641 ± 1,057	5,168*	4,790	133,40
	10	16,108 ± 1,695	–0,635	4,397	104,10
8	контроль	15,452 ± 1,068	–	–	100,00
	5	14,332 ± 1,554	–1,120	4,499	92,75
	10	14,750 ± 1,720	–0,702	4,252	95,46
Дуб звичайний (*Quercus robur* Sol.)					
1	контроль	21,119 ± 0,642	–	–	100,00
	5	17,981 ± 1,608	–3,138	4,394	85,14
	10	19,857 ± 2,019	–1,262	4,300	94,02
2	контроль	21,742 ± 0,875	–	–	100,00
	5	23,476 ± 1,353	1,734	3,936	107,98
	10	20,499 ± 1,096	–1,243	4,246	94,28
3	контроль	20,876 ± 2,568	–	–	100,00
	5	20,841 ± 1,071	–0,035	3,734	99,83
	10	18,813 ± 1,453	–2,063	4,246	90,12
4	контроль	15,355 ± 1,106	–	–	100,00
	5	12,890 ± 0,867	–2,465	4,071	83,95
	10	10,555 ± 0,819	–4,800*	4,165	68,74
5	контроль	14,420 ± 0,985	–	–	100,00
	5	20,898 ± 1,054	6,478*	4,434	144,92
	10	45,782 ± 1,835	31,362*	4,434	317,49
6	контроль	14,798 ± 1,655	–	–	100,00
	5	25,982 ± 0,931	11,184*	4,434	175,58
	10	17,477 ± 1,109	2,679	4,071	118,10
7	контроль	24,546 ± 1,049	–	–	100,00
	5	31,509 ± 1,808	–6,963*	4,071	128,37
	10	29,246 ± 2,147	–4,700	3,936	119,15
8	контроль	22,385 ± 1,244	–	–	100,00
	5	19,867 ± 1,637	–2,518	4,354	88,75
	10	17,028 ± 1,261	–5,357*	4,434	76,07
Жимолость татарська (*Lonicera tatarica* L.)					
1	контроль	17,242 ± 1,445	–	–	100,00
	5	22,789 ± 1,143	5,547*	4,803	132,17
	10	32,295 ± 2,043	15,053*	4,803	187,30
2	контроль	20,739 ± 1,485	–	–	100,00
	5	18,468 ± 1,088	–2,271	4,409	89,05
	10	16,094 ± 0,913	–4,645	4,657	77,60
3	контроль	21,785 ± 0,791	–	–	100,00
	5	21,887 ± 1,591	0,102	4,044	100,47
	10	15,908 ± 1,583	–5,877*	4,803	73,02
4	контроль	21,552 ± 1,944	–	–	100,00
	5	19,709 ± 0,775	–1,843	4,263	91,45
	10	17,857 ± 1,696	–3,695	4,598	82,86
5	контроль	21,553 ± 1,075	–	–	100,00
	5	27,406 ± 1,484	5,853*	4,715	127,16
	10	40,072 ± 1,683	18,519*	4,803	185,92
6	контроль	23,899 ± 1,599	–	–	100,00
	5	34,908 ± 1,737	11,009*	4,511	146,06
	10	15,359 ± 1,160	–8,540*	4,803	64,27
7	контроль	18,991 ± 1,317	–	–	100,00
	5	22,570 ± 1,993	3,579	4,715	118,85
	10	27,822 ± 1,436	8,831*	4,803	146,50
8	контроль	23,032 ± 1,339	–	–	100,00
	5	15,323 ± 2,012	–7,709*	4,803	66,53
	10	14,288 ± 2,325	–8,744*	4,803	62,04
Маслинка вузьколиста (*Eleagnus angustifolia* L.)					
1	контроль	60,212 ± 2,346	–	–	100,00
	5	68,159 ± 2,822	7,947*	5,719	113,20
	10	71,428 ± 1,022	11,216*	5,719	118,63
2	контроль	66,916 ± 1,043	–	–	100,00
	5	75,781 ± 1,739	8,865*	5,667	113,25
	10	88,140 ± 1,828	21,224*	5,719	131,72
3	контроль	63,752 ± 2,232	–	–	100,00
	5	60,538 ± 2,799	–3,214	5,076	94,96

1	2	3	4	5	6
	10	43,761 ± 1,040	–19,991*	5,719	68,64
4	контроль	73,342 ± 1,345			100,00
	5	57,066 ± 1,761	–16,276*	5,719	77,81
	10	60,025 ± 1,166	–13,317*	5,719	81,84
5	контроль	57,856 ± 1,630	–	–	100,00
	5	61,776 ± 1,396	3,920	5,476	106,78
	10	51,044 ± 1,347	–6,812*	5,250	88,23
6	контроль	67,130 ± 1,411	–	–	100,00
	5	68,709 ± 1,398	1,579	5,372	102,35
	10	83,956 ± 2,171	16,826*	5,667	125,06
7	контроль	65,503 ± 1,726	–	–	100,00
	5	65,603 ± 1,867	–0,100	4,815	100,15
	10	60,142 ± 1,198	–5,361	5,476	91,81
8	контроль	68,132 ± 2,763	–	–	100,00
	5	68,236 ± 1,264	–0,104	5,076	100,15
	10	53,751 ± 2,499	–14,381*	5,719	78,89
Садовий жасмин звичайний (*Philadelphus coronaria* L.)					
1	контроль	45,813 ± 0,968	–	–	100,00
	5	38,621 ± 1,415	–7,192*	6,052	84,30
	10	40,648 ± 2,517	–5,165	5,922	88,73
2	контроль	50,156 ± 1,260	–	–	100,00
	5	38,806 ± 1,947	–11,350*	6,107	77,37
	10	26,993 ± 2,111	–23,163*	6,107	53,82
3	контроль	45,407 ± 1,950	–	–	100,00
	5	32,861 ± 1,428	–12,546*	6,052	72,37
	10	31,528 ± 2,007	–13,879*	6,107	69,43
4	контроль	50,679 ± 2,470	–	–	100,00
	5	55,831 ± 1,108	–5,152*	5,142	110,17
	10	42,365 ± 1,842	–8,314*	6,107	83,59
5	контроль	59,010 ± 2,025	–	–	100,00
	5	43,354 ± 2,010	–15,656*	6,107	73,47
	10	46,591 ± 2,447	–12,419*	6,107	78,95
6	контроль	48,827 ± 1,923	–	–	100,00
	5	65,959 ± 2,587	17,132*	6,052	135,09
	10	56,417 ± 2,361	7,590*	5,922	115,54
7	контроль	44,765 ± 1,851	–	–	100,00
	5	50,014 ± 1,006	5,249	5,996	111,73
	10	79,920 ± 2,457	35,155*	6,107	178,53
8	контроль	49,518 ± 2,760	–	–	100,00
	5	42,817 ± 1,018	–6,701	6,052	86,47
	10	47,429 ± 1,723	–2,089	5,421	95,78
Види із змінною стійкістю					
Гіркокаштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* L.)					
1	контроль	15,850 ± 1,653	–	–	100,00
	5	32,940 ± 1,292	17,090*	4,297	207,82
	10	14,039 ± 0,462	–1,811	3,944	88,57
2	контроль	22,423 ± 1,148	–	–	100,00
	5	18,768 ± 1,456	–3,655	4,114	83,70
	10	20,218 ± 0,965	–2,205	3,944	90,17
3	контроль	20,477 ± 1,550	–	–	100,00
	5	17,710 ± 1,795	–2,767	4,114	86,49
	10	18,626 ± 1,660	–1,851	4,036	90,96
4	контроль	22,888 ± 1,889	–	–	100,00
	5	14,753 ± 1,087	–8,135*	4,297	64,46
	10	9,736 ± 0,582	–13,152*	4,297	42,54
5	контроль	26,829 ± 1,355	–	–	100,00
	5	20,097 ± 1,652	–6,732*	4,258	74,91
	10	22,714 ± 1,162	–4,115	3,944	84,66
6	контроль	23,516 ± 1,470	–	–	100,00
	5	41,754 ± 1,472	18,238*	4,166	177,56
	10	21,906 ± 2,357	–1,610	4,036	93,15
7	контроль	16,978 ± 1,236	–	–	100,00
	5	30,488 ± 1,225	13,510*	4,297	179,57
	10	33,998 ± 1,230	17,020*	4,297	200,25
8	контроль	27,003 ± 1,193	–	–	100,00
	5	15,506 ± 0,913	–11,497*	4,297	57,42
	10	9,436 ± 0,664	–17,567*	4,297	34,94

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5	6
Клен ясенелистий (*Acer negundo* L.)					
1	контроль	101,056 ± 3,170	–	–	100,00
	5	50,874 ± 3,483	–50,182*	11,015	50,34
	10	48,956 ± 4,456	–52,100*	11,015	48,44
2	контроль	94,278 ± 3,932	–	–	100,00
	5	89,537 ± 2,525	–4,741	10,546	94,97
	10	67,666 ± 1,829	–26,612*	11,015	71,77
3	контроль	103,593 ± 2,876	–	–	100,00
	5	70,380 ± 2,193	–33,213*	11,015	67,94
	10	61,005 ± 2,492	–42,588*	11,015	58,89
4	контроль	103,137 ± 3,221	–	–	100,00
	5	93,042 ± 9,779	–10,095	10,546	90,21
	10	73,238 ± 2,365	–29,899	11,015	71,01
5	контроль	106,236 ± 3,867	–	–	100,00
	5	92,135 ± 3,412	–14,101*	10,914	86,73
	10	94,445 ± 3,713	–11,791*	10,345	88,90
6	контроль	89,177 ± 3,769	–	–	100,00
	5	68,140 ± 1,963	–21,037*	10,546	76,41
	10	37,810 ± 1,683	–51,367*	11,015	42,40
7	контроль	93,226 ± 3,389	–	–	100,00
	5	54,101 ± 1,921	–39,125*	11,015	58,03
	10	58,738 ± 1,670	–34,488*	11,015	63,01
8	контроль	91,351 ± 2,273	–	–	100,00
	5	79,367 ± 1,739	–11,984*	10,111	86,88
	10	73,911 ± 3,657	–17,440*	10,345	80,91
Тополя китайська (*Populus simonii* Carrière)					
1	контроль	75,147 ± 1,605	–	–	100,00
	5	68,242 ± 1,704	–6,905	7,430	90,81
	10	57,089 ± 1,928	–18,058*	8,020*	75,97
2	контроль	95,037 ± 2,200	–	–	100,00
	5	125,149 ± 3,331	30,112*	7,750	131,68
	10	65,224 ± 1,477	–29,813*	8,094	68,63
3	контроль	83,885 ± 3,831	–	–	100,00
	5	118,690 ± 3,624	34,805*	8,094	141,49
	10	94,533 ± 2,632	10,648*	7,602	112,69
4	контроль	72,619 ± 1,289	–	–	100,00
	5	60,477 ± 1,925	–12,142*	7,750	83,28
	10	64,447 ± 2,494	–8,172*	7,602	88,75
5	контроль	80,498 ± 2,948	–	–	100,00
	5	70,212 ± 1,911	–10,286*	7,430	87,22
	10	53,706 ± 2,635	–26,792*	8,094	66,72
6	контроль	90,695 ± 3,297	–	–	100,00
	5	107,016 ± 3,025	16,321*	7,848	118,00
	10	132,101 ± 4,331	41,406*	8,094	145,65
7	контроль	97,060 ± 1,889	–	–	100,00
	5	105,599 ± 1,657	8,539*	6,815	108,80
	10	90,479 ± 3,448	–6,581	7,750	93,22
8	контроль	91,538 ± 2,514	–	–	100,00
	5	60,354 ± 0,983	–31,184*	8,094	65,93
	10	49,154 ± 2,052	–42,384*	8,094	53,70
Нестійкі види					
Горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.)					
1	контроль	127,585 ± 4,620	–	–	100,00
	5	75,941 ± 3,749	–51,644*	12,055	59,52
	10	49,279 ± 1,682	–78,306*	12,055	38,62
2	контроль	114,600 ± 3,538	–	–	100,00
	5	91,714 ± 2,411	–22,886*	11,542	80,03
	10	50,500 ± 1,981	–64,100*	12,055	44,07
3	контроль	122,492 ± 4,110	–	–	100,00
	5	78,620 ± 2,515	–43,872*	12,055	64,18
	10	42,811 ± 1,801	–79,681*	12,055	34,95
4	контроль	94,089 ± 3,161	–	–	100,00
	5	49,704 ± 1,460	–44,385*	12,055	52,83
	10	59,952 ± 2,275	–34,137*	11,945	63,72
5	контроль	120,818 ± 13,506	–	–	100,00
	5	96,973 ± 2,008	–23,845*	11,542	80,26
	10	53,717 ± 2,995	–67,101*	12,055	44,46

1	2	3	4	5	6
6	контроль	120,048 ± 2,926	–	–	100,00
	5	82,581 ± 2,166	–37,467*	11,945	68,79
	10	31,687 ± 1,572	–88,361*	12,055	26,40
7	контроль	105,584 ± 4,115	–	–	100,00
	5	89,784 ± 2,819	–15,800*	11,542	85,04
	10	69,329 ± 1,620	–36,255*	12,055	65,66
8	контроль	101,828 ± 2,163	–	–	100,00
	5	81,909 ± 2,593	–19,919*	11,688	80,44
	10	50,415 ± 1,924	–51,413*	12,055	49,51
Ясен ланцетний (*Fraxinus lanceolata* Borkh)					
1	контроль	68,585 ± 1,688	–	–	100,00
	5	54,806 ± 2,840	–13,779*	5,650	79,91
	10	32,316 ± 2,054	–36,269*	5,828	47,12
2	контроль	58,626 ± 1,350	–	–	100,00
	5	26,942 ± 1,116	–31,684*	5,828	45,96
	10	32,619 ± 0,932	–26,007*	5,580	55,64
3	контроль	74,360 ± 2,492	–	–	100,00
	5	73,265 ± 2,047	–1,095	4,906	98,53
	10	44,879 ± 0,755	–29,481*	5,828	60,35
4	контроль	70,041 ± 2,479	–	–	100,00
	5	59,390 ± 1,308	–10,651*	5,580	84,79
	10	43,876 ± 1,315	–26,165*	5,828	62,64
5	контроль	80,024 ± 3,692	–	–	100,00
	5	64,640 ± 1,387	–15,384*	5,828	80,78
	10	65,115 ± 1,164	–14,909*	5,774	81,37
6	контроль	71,576 ± 2,997	–	–	100,00
	5	59,685 ± 1,450	–11,891*	5,580	83,39
	10	16,698 ± 1,206	–54,878*	5,828	23,33
7	контроль	74,711 ± 1,616	–	–	100,00
	5	37,947 ± 1,150	–36,764*	5,828	50,79
	10	28,709 ± 1,360	–46,002*	5,828	38,43
8	контроль	72,126 ± 2,151	–	–	100,00
	5	30,065 ± 1,649	–42,061*	5,828	41,68
	10	27,541 ± 1,210	–44,585*	5,828	38,18

Примітка: * – різниця між середніми визнається вірогідною на рівні значущості $P < 0,05$, якщо обчислене значення (D) дорівнює або перевищує за абсолютною величиною допуск (DDk).

У маслинки вузьколистої вірогідне підвищення активності каталази відбувається за дії сумішей низьких концентрацій забруднювачів (варіант 1) і сумішей, що містять підвищені концентрації аміаку (варіанти 2, 6), тоді як підвищені концентрації кислих газів спричинюють незначне (12–19%) зниження активності ферменту. Найбільший негативний ефект спричинює десятигодинна дія комплексу високих концентрацій полютантів, за якої каталазна активність знижується на 21% порівняно з нефумігованими рослинами.

Садовий жасмин звичайний характеризується відсутністю вірогідних змін або незначними змінами активності за п'ятигодинної дії полютантів. Разом із цим, десятигодинна дія аміаку (варіант 2) знижує ферментативну активність на 46%, а дія кислих газів (варіанти 6, 7), навпаки, викликає підвищення активності цього ферменту на 12–79% порівняно з контрольними рослинами. Суміш із високими концентраціями забруднювачів не викликає змін активності каталази.

Таким чином, для стійких і малопошкоджуваних видів деревних і чагарникових рослин характерна відсутність вірогідних змін активності каталази, хоча у бирючини звичайної, дуба звичайного та маслинки вузьколистої спостерігається тенденція до підвищення каталазної функції за дії забруднювачів, а у жимолості татарської та садового жасмину звичайного – тенденція до її зниження. Такі закономірності змін активності ферменту можуть свідчити про варіації стійкості досліджених видів та різницю механізмів детоксикації забруднювачів, оскільки ці види характеризувалися відсутністю видимих пошкоджень у всіх варіантах фумігації або некрози не перевищували 5% загальної поверхні листків.

Для видів зі змінною стійкістю характерний значний вплив комплексу забруднювачів на активність каталази. У гіркокаштана звичайного спостерігається значуще підвищення активності ферменту за дії низьких рівнів забруднення, тоді як підвищення концентрації суміші аміаку (12 мг/м^3) та флуориду водню (2 мл/м^3) спричинює зниження активності каталази до 25–65% відповідно до терміну обробки. Разом із цим підвищені концентрації аміаку або фтористого водню, які діють окремо, не впливають вірогідно на каталазну функцію. Високі концентрації комплексу всіх забруднювачів викликають пригнічення діяльності ферменту до 43–65% порівняно з рослинами, які не піддавалися дії полютантів.

У клена ясенелистого спостерігається зниження активності каталази за дії забруднювачів на низькому рівні на 49–52% порівняно з контролем, тоді як підвищені концентрації аміаку за п'ятигодинної дії не впливають на активність каталази. Високі концентрації сірчистого газу та сірчаної кислоти вірогідно інактивують фермент і спричинюють зниження його активності до 20–58%, а підвищені концентрації кислих газів (варіант 7) викликають зниження активності ферменту на 37–42% порівняно з нефумігованими рослинами. За дії суміші високих концентрацій полютантів активність ферменту знижується значно слабше та становить 81–87% від рівня контролю. Таке явище можна пояснити ймовірною хімічною нейтралізацією полютантів.

Відповідь тополі китайської характеризується відсутністю вірогідних змін активності ферменту за низьких рівнів забруднення. Високі концентрації аміаку та флуориду водню викликають підвищення активності ферменту через п'ять годин фумігації на 32–42%. Збільшення терміну фумігації рослин цими газами знижує каталазну функцію. За дії підвищеного вмісту в повітрі сумішей сірчистого ангідриду з аміаком (варіант 6) спостерігається підвищення активності каталази порівняно з контрольними рослинами у 1,2–1,5 раза. Комплекс полютантів на високому рівні (варіант 8), навпаки, послаблює каталазну функцію на 34–46%.

Слід зазначити, що в усіх видів зі змінною стійкістю забруднення повітря зумовлює підвищення активності каталази або не викликає вірогідних змін цього показника за відсутності видимих пошкоджень. У пошкодженому листі спостерігається зниження каталазної функції.

У нестійких видів рослин забруднення атмосфери сполуками фтору, сірки та азоту в більшості варіантів зумовлює зниження активності каталази. У горобини звичайної п'ятигодинна дія комплексу забруднювачів на низькому рівні (HF – 0,2 мл/м^3, NH_3 – 1,2 мл/м^3, SO_2 – 0,9 та H_2SO_4 – 1,0 мл/м^3) пригнічує активність каталази на 41%, десятигодинна дія – на 61% порівняно з контрольними рослинами. За підвищених концентрацій фтористого водню (варіант 3) каталазна функція знижується на 20–61% залежно від терміну їх фумігації. Сірчистий газ і пари сірчаної кислоти також викликають значне пригнічення каталазної функції, яка у варіанті 5

становить 45% від рівня контрольних рослин. Слід також зазначити, що тривалість обробки суттєво впливає на зміни каталазної функції. Збільшення часу фумігації в усіх варіантах забруднення підсилює негативну дію полютантів.

Дія забруднювачів на активність каталази в ясена ланцетного за всіх варіантів дії полютантів спричинює зниження функції цього ферменту на 20–77% порівняно з нефумігованими рослинами. Як і у горобини звичайної, збільшення терміну фумігації до десяти годин підсилює зниження активності ферменту. Найсуттєвіше впливають комплекси кислих газів (HF, SO_2, H_2SO_4).

Таким чином, у нестійких до забруднення повітря видів рослин у відповідь на дію фітотоксикантів активність каталази значно знижується. Зниження активності ферменту залежить від ступеня пошкодження листкових пластинок.

Аналогічні закономірності встановили також інші дослідники за дії полютантів на деревні (Ghorbanli et al., 2007; Koffi et al., 2015; Alexeyeva et al., 2016; Lykholat, 2016) та трав'янисті (Kim et al., 2007; Rossykhina-Halycha et al., 2013) рослини. Ми не виявили залежності між активністю каталази та газостійкістю вивчених нами видів рослин. Хоча можна зазначити, що нестійкі види (горобина звичайна та ясен ланцетний) мали вищий рівень активності ферменту (60–120 мкМоль/г·хв), ніж стійкі (15–60 мкМоль/г·хв).

Висновки

Забруднення повітря комплексом сполук флуору, сульфуру та нітрогену викликає вірогідніі зміни активності каталази, які залежать від концентрації токсикантів, їх складу, часу експозиції та чутливості рослин. Стійкі до полютантів види характеризуються підвищенням активності каталази у відповідь на дію забруднювачів, тоді як види зі змінною стійкістю неоднозначно реагують на вплив токсикантів. За збільшення концентрації забруднювачів і терміну обробки активність каталази в листках цих рослин знижується. У нестійких видів відбувається значне зниження активності каталази, яке залежить від терміну дії фітотоксикантів на рослини.

Таким чином, за відсутності у вивчених нами видів рослин видимих пошкоджень активність ферменту або не змінюється або підвищується порівняно з контрольними рослинами. Утворення некрозів знижує каталазну функцію. Встановлені закономірності зміни активності каталази свідчать про важливу роль ферменту у детоксикації полютантів та підтриманні гомеостазу рослинного організму за несприятливих умов.

Бібліографічні посилання

Antipov, V.G., 1979. Ustojchivost' drevesnyx rastenij k promyshlennym gazam [Stability of woody plants for industrial gases]. Nauka i Texnika, Minsk (in Russian).

Bergmaqnn, E., Bender, J., Weigel, H.-J., 1999. Ozone threshold doses and exposure-response relationships for the development of ozone injury symptoms in wild plant species. New Phytol. 144(3), 423–435.

Bobyliov, Y.P., Brygadyrenko, V.V., Bulakhov, V.L., Gaichenko, V.A., Gasso, V.Y., Didukh, Y.P., Ivashov, A.V., Kucheriavyi, V.P., Maliovanyi, M.S., Mytsyk, L.P., Pakhomov, O.Y., Tsaryk, I.V., Shabanov, D.A., 2014. Ekologija [Ecology]. Folio, Kharkiv (in Ukrainian).

Bojko, M.I., Pryseds'kyj, J.H., Vjetrova, O.V., 2014. Velykyj praktykum z fiziolohiji ta biochimiji roslyn (bilky, fermenty, vitaminy, nuklejinovi kysloty) [Large workshop of plant physiology and biochemistry (proteins, enzymes, vitamins, nucleic acids)]. DonNU, Donec'k (in Ukrainian).

Brygadyrenko, V., Ivanyshyn, V., 2015. Changes in the body mass of *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) and the granulometric composition of leaf litter subject to different concentrations of copper. J. Forest Sci. 61(9), 369–376.

Cape, J.N., Petcy, K.E., 1993. Environmental influences on the development of spruce needle cuticles. New Phytol. 125, 787–799.

Czegeny, G., Matai, A., Hide, E., 2016. UV-B effects on leaves – Oxidative stress and acclimation in controlled environments. Plant Sci. 248, 57–63.

Dizengremel, P., 2001. Effects of ozone on the carbon metabolism of forest trees. Plant Physiol. Biochem. 39(9), 729–742.

Durga, M., Bharathi, S., Balakrishna Murthy, P., Devasena, T., 2015. Characterization and phytotoxicity studies of suspended particulate matter (SPM) in Chennai urban area. J. Envir. Biol. 36(3), 583–589.

Frei, M., Wissuwa, M., Pariasca-Tanaka, J., Chen, C.P., Sudekum, K-H., Kohno, Y., 2012. Leaf ascorbic acid level – Is it really important for ozone tolerance in rice? Plant Physiol. Biochem. 59, 63–70.

Ganatsasa, P., Tsakaldimia, M., Zachariadis, G., 2013. Effect of air traffic pollution on seed quality characteristics of *Pinus brutia*. Environ. Exp. Bot. 74, 157–161.

Ghorbanli, M., Bakand, Z., Bakhshikhaniki, G., Bakand, S., 2007. Air pollution effects on the activity of antioxidant enzimes in *Nerium oleander* and *Robinia pseudoacacia* plants in Teheran. J. Environ. Health Sci. Eng. 4, 148–156.

Il'kun, G.M., 1971. Gazoustojchivost' rastenij [Gas resistant of plants]. Naukova Dumka, Kyiv (in Russian).

Il'kun, G.M., 1978. Zagryazniteli atmosfery i rasteniya [Atmospheric pollutants and plants]. Naukova Dumka, Kyiv (in Russian).

Jing, L., Dombinov, V., Shen, S., Wu, Y., Yang, L., Wang, Y., Frei, M., 2016. Physiological and genotype-specific factors associated with grain quality changes in rice exposed to high ozone. Envшкщт. Pollut. 210, 397–408.

Kim, Y.-H., Lim, S., Han, S.-H., Lee, J.-C., Song, W.-K., Bang, J.-W., Kwon, S.-Y., Lee, H.-S., Kwak, S.-S., 2007. Differential expression of 10 sweetpotato peroxidases in response to sulfur dioxide, ozone, and ultraviolet radiation. Plant Physiol. Biochem. 45(12), 908–914.

Klumpp, G., Furlan, C.M., Domingos, M., Klumpp, A., 2000. Response of stress indicators and growth parameters of *Tibouchina pulchra* Cogn. exposed to air and soil pollution near the industrial complex of Cubatao, Brazil. Sci. Total Environ. 246(1), 79–91.

Koffi, N.A., Maxime, A.D., Barima, Y.S.S., Dongui, B., 2015. Detoxifing hydrogen peroxide enzimes activity in two plant species exposed to air pollution in Abidjan city (Cote D'ivoire). Int. J. Plant Anim. Environ. Sci. 5(1), 140–145.

Langebartels, C., Wohlgemuth, H., Kschieschan, S., Grun, S., Sandermann, H., 2002. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants. Plant Physiol. Biochem. 40(6), 567–575.

Luma, G.B., Shelpa, B.J., Dell, J.R., Bozzo, G.G., 2016. Oxidative metabolism is associated with physiological disorders in fruits stored under multiple environmental stresses. Plant Sci. 245, 143–152.

Lykholat, Y., Khromyk, N., Ivan'ko, I., Kovalenko, I., Shupranova, L., Kharytonov, M., 2016. Metabolic responses of

steppe forest trees to altirude-associated local environmental changes. Agriculture and Forestry 62(2), 163–171.
Lykholat, Y.V., Khromykh, N.O., Kovalenko, I.M., Boroday, E.S., 2016. The impact of pollutants on the antioxidant protection of species of the genus *Tilia* at different developmental stages. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 24(1), 188–192.
Lypa, A.L., 1977. Dendrolohyja z osnovamy aklimatyzaciji [Dendrology with the basics of acclimatization]. Vyssha Shkola, Kyiv (in Ukrainian).
Mandal, M., 2006. Physiological changes in certain test plants under automobile exhaust pollution. J. Environ. Biol. 27(1), 43–47.
Olszyk, D.M., Takemoto, B.K., Poe, M., 1991. Leaf photosynthetic and water relations responses for "Valencia" orange trees exposed to oxidant air pollution. Environ. Exp. Bot. 31(4), 427–436.
Pack, M.R., 1971. Effects of hydrogen fluoride on bean reproduction. J. Air Pollut. Cotitr. Assoc. 21(3), 133–137.
Pertti, R., 2001. Changes in urban lichen diversity after a fall in sulphur dioxide levels in the city of Tampere, SW Finland. Ann. Bot. Fenn. 38(4), 295–304.
Popov, V.A., Nehruc'ka, H.M., 1973. Metod shtuchnoji fumihaciji roslyn shkidlyvymy hazamy v toci povitrja [Fumigation method of artificial plants harmful gases in the air flow]. Introdukcija ta Eksperymental'na Ekolohija Roslyn 3, 83–88 (in Ukrainian).
Pryseds'kyj, J.H., 1999. Statystychna obrobka rezul'tativ biolohichnykh eksperymentiv [Statistical analysis of the results of biological experiments]. Juho-Vostok, Doneck (in Ukrainian).
Pryseds'kyj, J.H., 2005. Paket prohram dlja provedennja statystychnoji obrobky rezul'tativ biolohichnych eksperymentiv [The software package for the statistical analysis of the results of biological experiments]. DonNU, Donec'k (in Ukrainian).
Pryseds'kyj, J.H., 2014. Charakterystyka stijkosti derevnych ta chaharnykovych roslyn do zabrudnennja povitrja spolukamy sirky, ftoru ta nitrohenu [Resistance of wood and shrubby plants to air pollution by sulfur, fluorine and nitrogen compounds]. Visn. Charkiv. Univ. Ser. Biol. 21, 162–167 (in Ukrainian).
Rossychina, H., Lycholat, J., Kyrpyta, L., 2011. Aktyvnist' fermentiv-detoksykatoriv aktyvnych form kysnju hazonoutvorjujuchykh trav za kompleksnoji diji toksykantiv [Activity of enzymes-detoxycators of active oxigen species of lawn forming grasses at complex toxic action]. Visn. Lviv Univ. Ser. Biol. 56, 239–244 (in Ukrainian).
Rossychina-Halycha, H.S., Lycholat, J.V., Lysenko, N.O., 2014. Funkcionuvannja fermentiv antyoksydantnoji systemy v reproduktyvnych orhanach *Robinia pseudoacacia* L. za umov promyslovoho mista [The functioning of antioxidant system enzymes in the reproductive organs of *Robinia pseudoacacia* L. in conditions of industrial city]. Pytannja Stepovoho Lisoznavstva ta Lisovoji Rekul'tyvaciji Zemel 43, 45–49 (in Ukrainian).
Rossykhina-Halycha, H.S., Lykholat, Y.V., Vinnychenko, O.M., 2013. Komponenty antyoksydantnoji systemy zakhystu yak pokaznyky stijkosti travianystykh roslyn, shcho zrostaiut u botanichnomu sadu DNU [The components of the antioxidant defense system as indicators of sustainability herb that grow in the botanical garden of DNU]. Visti Biosfernoho Zapovidnyka Askaniia-Nova. 15, 188–194 (in Ukrainian).
Seyyednejad, S.M., Koochak, H., Vaezi, J., 2013. Changes in anti-oxidative enzymes activity, protein content and ascorbic acid level in *Prosopis juliflora* exposed to industrial air pollution. Journal of Biology and Today's World 10, 482–492.
Sharma, G.K., Chander, C., Salemi, L., 1980. Environmental pollution and leaf cuticular variation in kudzu (*Pueraria lobata* Willd.). Ann. Bot. 45(1), 77–80.
Soda, C., Bussotti, F., Grossoni, P., Barnes, J., Mori, B., Tani, C., 2000. Impacts of urban levels of ozone on *Pinus halepensis* foliage. Environ. Exp. Bot. 44(1), 69–82.
Sutinen, M.-L, Ratio, H., Nivala, V., Olikainen, R., Ritarp, A., 1996. Effects of emissions from copper-nickel smelters on the frost hardiness of *Pinus sylvestris* needles in the subarctic region. New Phytol. 132, 503–512.
Vinnyčenko, O.M., Dolhova, L.H., 2001. Ekofiziolohichni problemy fitocenoziv ta biolohichna aktyvnist' edafotopiv v umovach technohennych terytorij [Ecophysiological problems of phytocenoses and soil biological activity in terms of man-made areas]. Fiziolohija Roslyn v Ukrajini na mezhi tysjacholit', 2, 23–36 (in Ukrainian).
Wang, J., Zeng, Q., Zhu, J., Chen, C., Liu, G., Tang, H., 2014. Apoplastic antioxidant enzyme responses to chronic free-air ozone exposure in two different ozone-sensitive wheat cultivars. Plant Physiol. Biochem. 82, 183–193.
Wuytack, T., Abdelgawad, H., Staelens, J., Asard, H., Boeckx, P., Verheyen, K., Samson, R.,2013. The response of the foliar antioxidant system and stable isotopes (^{13}C and ^{15}N) of white willow to low-level air pollution. Plant Physiol. Biochem. 67, 154–161.

Надійшла до редколегії 05.08.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 302–307.

doi:10.15421/011639

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 581.1:633.15:631.53.027.2

Вплив розчинів солей цинку на утворення хлорофілу та закладання насіння у гібридів кукурудзи

М.Д. Тафій, В.І. Ніколайчук, В.Й. Белчгазі

Ужгородський національний університет, Ужгород, Україна

Оцінено вплив солей цинку різних концентрацій на перебіг фізіолого-біохімічних процесів і розвиток дев'яти досліджуваних гібридів кукурудзи. Проаналізовано вплив розчинів нітрату цинку на фізіолого-біохімічні реакції в різних гібридах кукурудзи. Досліджено вплив 0,01% та 0,02% водних розчинів нітрату цинку на вміст хлорофілу та число насіння в качані у різних гібридів кукурудзи. За результатами дослідів у чашках Петрі, пророщування насіння у 0,01% та 0,02% розчинах нітрату цинку стимулювало синтез хлорофілу в листках усіх досліджуваних гібридів. Це стимулює ріст рослин. Кількість хлорофілу оброблених гібридів зростала, порівняно з контрольним зразком. Зокрема, гібрид Достаток 300 МВ виявив збільшення вмісту хлорофілу на 0,17 мг у пророщених на 0,02% розчині нітрату цинку порівняно з контролем і на 0,7 мг більше пророщених на 0,01% відповідно. Застосування розчинів як листяного добрива на критичних для кукурудзи стадіях росту збільшує кількість насінин, діаметр і довжину качана у гібридах усіх груп стиглості, порівняно з контролем. Нестача цинку негативно позначається на утворенні насіння. Згідно з польовими дослідами, за листкового підживлення 0,01% розчином нітрату цинку продуктивність досліджуваних гібридів зросла. Спостерігаємо збільшення кількості насінин, діаметра та довжини качанів, маси 1 000 зернин у гібридах більшості груп стиглості порівняно з контрольною ділянкою. Згідно з польовими дослідами, за підживлення нітратом цинку 0,01% та 0,02% продуктивність досліджуваних гібридів значно зросла. Підживлення цинковими добривами добре позначається на поліпшенні продуктивності більшості досліджуваних гібридів. У гібриду Євраліс кількість зерен у качані збільшилась порівняно з контролем на 30%. Маса 1 000 насінин у його рослин, які були підживлені 0,01% водним розчином нітрату цинку, була на 16% вищою, а у рослин гібридів ДКС 1, ДКС 2, ДКС 3, ДКС 4 , ДКС 5, ДКС 6, 230 СВ та 300 МВ на 4, 17, 13, 28, 14, 7, 23 та 25%, порівняно з контролем.

Ключові слова: *Zea mays*; нітрат цинку; стимуляція росту; пігменти; продуктивність

Effect of zinc salt solutions on the development of chlorophyll and formation of seeds of maize hybrids

M.D. Tafij, V.I. Nikolaichuk, V.J. Belchhazi

Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine

Zinc as an element is considered as one of the most limiting nutrients for crop production, mainly for cereals in the arid areas of the world. The article explores the impact of zinc salts at different concentrations on the course of physiological biochemical processes, germination and development of nine investigated hybrids of maize. In particular, we investigate how zinc nitrate solutions influence physiological biochemical processes of different maize hybrids. It is established that high concentration of zinc salt solution can arrest or inhibit processes of plants growth, exerting an effect typical of heavy metals. The influence of 0.01% and 0.02% of zinc nitrate aqueous solution on the content of chlorophyll and number of seeds on the stalks of different corn hybrids was studied. The results of experiments in in which germinating seeds were placed in Petri dishes containing 0.01% and 0.02% nitrate zinc solutions showed that zinc in these quantities stimulates the synthesis of chlorophyll in the leaves in all studied hybrids, thereby stimulating plant growth. Thereafter, low concentrations of salt solutions of the same element stimulated all development processes. Zinc enters the active enzyme centers and participates directly in chlorophyll synthesis. The spray of solutions as foliar fertilizers at critical stages of corn growth increases the number of seeds, the diameter and length of stalk in the early ripening hybrids group, compared with the control. It was estimated that lack of zinc affects the formation of seeds. The results of the field experiments showed that corn foliar feeding with 0.01% sodium nitrate increased productivity of the studied hybrids. Symptoms of zinc deficiency develop throughout the whole plant or are localized on the old lower

Ужгородський національний університет, вул. Волошина, 32, Ужгород, 88000, Україна
Uzhgorod National University, Voloshin Str., 32, Uzhgorod, 88000, Ukraine
Tel.: +38-095-607-40-43. E-mail: vanja_tafij@mail.ru

leaves. At first, brownish grey and purple-coloured spots appear on the leaves of the lower and middle layers and then spread over the rest of the plant. The tissue of the areas like these simply dies off. Zinc deficiency had a negative effect on seeds production. From the results of experiments it follows that there are fluctuation of chlorophyll in maize hybrids when germinated in 0.01% and 0.02% salts solutions of zinc nitrate, and that the resistance of the plants to fungus and bacterial infections is strengthened when their seeds are previously treated with nitric acid zinc at 0.01% concentration.

Keywords: *Zea mays*; zinc nitrate; stimulation of growth; pigments; productivity

Вступ

В Україні кукурудза – найважливіша кормова культура, дуже вигідна у виробництві. Особливо за умов впровадження нових гібридів і агротехнологій. Вплив правильного вибору гібриду на урожайність культури сягає 50%, агротехнологічних заходів – 30%, кліматичних умов – 20% (Grzebisz, 2008; Mehdi et al., 2012). Однак в Україні урожайність кукурудзи порівняно з країнами Європи та Америки нижча: потенційна врожайність гібридів кукурудзи реалізується в середньому на 40–45%, а в окремі роки навіть до 34–36%. Тому тільки за умов правильного підбору гібридів, використання якісного насіння та відповідного технологічного супроводу в основних зонах вирощування кукурудзи в Україні можна одержати 8–10 т/га зерна і більше з вологістю 18–25%. Нині конкурентоспроможність вітчизняних гібридів кукурудзи значно зросла завдяки успіхам українських селекціонерів, яким вдалося підвищити потенціал її урожайності (12–15 т/га), забезпечити стійкість до стресових умов і хвороб, вирішити проблему зниження вологості зерна під час збирання (Diter, 2012).

Роль мікроелементів у мінеральному живленні рослин як складової ферментативних систем – біокаталізаторів важко переоцінити. Цинк – основний мікроелемент для кукурудзи (Andeyev et al., 2009). У метаболізмі рослин він виконує важливі функції: входить до складу ензимів, є каталізатором багатьох ферментних систем, бере участь у вуглеводневому та білковому обмінах, впливає на розвиток насіння та фотосинтез (Kots and Peterson, 2005; Genc et al., 2006., Vlasenko et al., 2006; Mousavi et al., 2007; Grzebisz, 2008; Khan et al., 2008; Ciganda et al., 2009; Efe and Yarpuz, 2011), бере участь в утворенні хлорофілу та визначає стійкість зв'язку хлорофілу з білком, запобігаючи передчасному його розпаду, впливає на процеси фосфорилювання (Banziger and Long, 2000). Ефект цинку на ріст рослин здійснюється через контроль синтезу триптофану, який є попередником ауксину. Нестача цинку знижує продуктивність та якість врожаю, знижується накопичення цукрів, збільшується кількість органічних кислот, порушується синтез білка; при цьому зростає вміст небілкових сполук азоту – амідів і амінокислот; дефіцит цинку знижує поглинання амонійного азоту (Pardo et al., 2006). Він – складова багатьох ферментів, виконує важливу роль в окисно-відновних реакціях, бере участь у регулюванні утворення АТФ. Zn підвищує посухо- та жаростійкість рослин, визначає їх стійкість до збудників грибкових і бактеріальних хвороб. За нестачі цинку порушується проникність мембран, рослини дають низький урожай, а за гострої нестачі – гинуть. За поступового зростання концентрації іонів цинку у середовищі вирощування спостерігається поява ознак пригнічення рослин: гальмування ростових процесів, хлороз і некрози листків, відмирання коренів (Hall and Williams, 2003; Hural'chuk, 2006), відбуваються зміни фотосинтетичного апарату кукурудзи, зменшення вмісту основних пігментів фотосинтезу – хлорофілів (Maksymiec et al., 1992; Tarcevskij, 1993; Prasad and Strzalka, 1999). Зниження концентрації хлорофілу в листках може служити індикатором забруднення довкілля (Kosakivs'ka, 2003; Hural'chuk, 2006). Мета наших досліджень – виявити, як різні концентрації цього металу впливають на вміст пігментів, ріст і продуктивність рослин гібридів кукурудзи різних груп стиглості.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт досліджень – дев'ять гібридів кукурудзи, що відрізняються за серією ознак: ДКС 1 – ФАО 430, середньопізній гібрид, тип зерна зубоподібний, висока посухостійкість, холодостійкість та стійкість до сажкових хвороб, фузаріозу стебла та качанів, висока стійкість до вилягання; ДКС 2 – ФАО 390, середньостиглий гібрид, тип зерна зубоподібний, висока посухостійкість, холодостійкість та стійкість до шкідників; ДКС 3 – ФАО 370, середньостиглий гібрид, тип зерна зубоподібний, стійкий до вилягання; ДКС 4 – ФАО 250, середньоранній, висока пластичність, посухостійкість та холодостійкість; ДКС 5 – ФАО 270, середньоранній гібрид, тип зерна зубоподібний, холодостійкий, посухостійкий, стійкий до сажкових хвороб, фузаріозу та вилягання; ДКС 6 – гібрид середньоранній, стійкий до сажкових хвороб та вилягання; Євраліс – середньоранній, стійкий до шкідників та вилягання, холодостійкий, посухостійкий; гібрид Достаток 300 МВ – середньостиглий, ФАО 300, зерно зубоподібне, стійкий до вилягання, вегетаційний період 125 діб; Переяславський 230 СВ – ФАО 230, середньоранній, вегетаційний період 120 діб, зерно кремнисто-зубовидне.

Для виявлення впливу цинку обрано різні варіанти досліджень. Рослини пророщували на фільтр-папері Whattman № 2, змоченому 10 мл 0,01% або 0,02% водними розчинами $Zn(NO_3)_2$ (ч. д. а.). Для кожного гібриду закладено по 25 насінин у чашки Петрі. Рослини вирощували за температури 20 ºС, відносної вологості повітря 80% та освітлення лампами денного світла (16 годин протягом добіи). У контролі замість розчинів $Zn(NO_3)_2$ використовували для обробки дистильовану воду. Повторність кожного варіанта чашок – триразова. Достовірність результатів дослідів перевірена статистично.

Дослідження в польових умовах проводили для оцінювання впливу розчинів $Zn(NO_3)_2$ як фоліарного добрива, що поліпшує ріст і розвиток гібридів. Площа кожної ділянки – 100 м^2. Посів проводили на дернові ґрунти з оптимальним водно-повітряним режимом. Перед закладанням польового досліду визначено pH кожної ділянки, оскільки кукурудза не переносить кислих, перезволожених і засолених ґрунтів. За результатами дослідження ґрунту дослідних ділянок активна кислотність pH (H_2O) – 6,4, обмінна pH (KCl) – 6,5, гідролітична кислотність – 2,6 мг-екв./100 г.

У польових дослідах закладено три дослідні ділянки. На першій посіви гібридів обробляли в періоди 3–5 лист-

ків та 7–9 листків 0,01% розчином $Zn(NO_3)_2$, на другій – 0,02% розчином $Zn(NO_3)_2$. У контролі рослини обприскували дистильованою водою. Ділянки мали просторову ізоляцію, що запобігала випадковому занесенню розчинів (за умов обприскування) вітром на експериментальні ділянки. У рослин на дослідних ділянках визначали кількість зерен, довжину та діаметр качанів рослин досліджуваних гібридів, які обробляли 0,01% розчином нітрату цинку. Урожайність визначали методом підрахунку та зважування з кожної ділянки окремо.

Для визначення суми хлорофілу проводили екстракцію пігментів спиртовим розчинником. Кількість хлорофілу в листі визначали фотоелектрокалориметрично (Nikolaychuk et al., 2012). Результати досліджень обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0. Для порівняння вибірок застосовано однофакторний дисперсійний аналіз, при цьому розбіжності між значеннями характеристик вважали достовірними за $P < 0,05$. У таблиці та на діаграмах наведено середні арифметичні значення та їх стандартні похибки (SE).

Результати та їх обговорення

Кількість хлорофілу оброблених гібридів зростала порівняно з контрольним зразком (рис. 1). Зокрема, гібрид Достаток 300 МВ виявив збільшення вмісту хлорофілу на 0,17 мг у пророщених на 0,02% розчині нітрату цинку, порівняно з контролем, і на 0,7 мг більше пророщених на 0,01%. Гібрид ДКС 4 – на 0,24 мг збільшив вміст хлорофілу у пророщених рослин на 0,01% розчині та на 0,01 мг – на 0,02%. Ці дані узгоджуються зі збільшенням вмісту хлорофілу за впливу цинку, виявленого Gitelson and Merzlyak (1997). Цинк також впливає на кількість пігментів, що беруть участь у всіх фізіологічних процесах рослини (Genc et al., 2006).

Гібрид Переяславський 230 СВ, пророщений на 0,02% розчині, показав кращі результати порівняно з контролем на 0,5 мг. Гібрид ДКС 1, пророщений на 0,01% розчині нітрату цинку, збільшив на 0,45 мг показники вмісту хлорофілу (рис. 1). Гібрид ДКС 2 підвищив вміст головного фотосинтетичного пігменту на 0,10 та 0,02 мг за умов пророщення на 0,01% та 0,02% розчині, відповідно. У гібриді ДКС 3 збільшився вміст хлорофілу на 0,02 мг порівняно з контролем (рис. 2).

У проростках гібриду ДКС 5, вирощених на 0,01% розчині, вміст хлорофілу збільшився на 0,09 мг, а в рослинах, пророщених на 0,02% розчині – на 0,06 мг (рис. 3). Відповідно, в рослинах гібридів ДКС 6 та Євраліс реєстрували збільшення показників на 0,52 та 0,77 мг порівняно з контролем. На основі отриманих результатів можемо стверджувати, що гібриди, пророщені у 0,01% та 0,02% розчинах нітрату цинку, накопичують більше хлорофілу порівняно з контролем. За позакореневого підживлення дев'ять досліджуваних гібридів кукурудзи 0,01% та 0,02% розчином нітрату цинку вміст хлорофілу також збільшився порівняно з рослинами в контролі (рис. 3). Наші досліди узгоджуються з працею Potarzycki (2010), в якій показано, що підживлення рослин нітратом цинку дозволяє зменшувати кількість азотних добрив, внесених у ґрунт. У гібриду Євраліс спостерігали збільшення кількості насінин у середньому на 60 порівняно з контролем. У гібриду Достаток 300 МВ поліпшення продуктивності не виявили (можливо, для гібриду з ФАО 300 тип клімату та ґрунту не був оптимальним, оскільки він добре росте у степовій та лісостеповій зонах). Виділяють групи стиглості гібридів кукурудзи, що різняться залежно від кліматичних умов (табл. 1). У Німеччині, наприклад, розрізняють чотири групи стиглості, в Росії – шість, в Україні – п'ять (Diter, 2012).

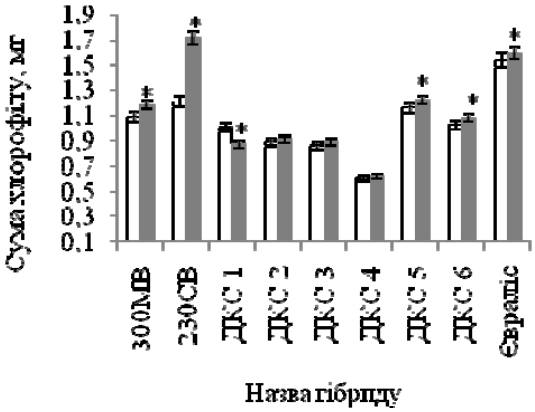


Рис. 1. Вміст суми хлорофілу досліджуваних гібридів: білі стовпчики – контроль, сірі – пророщені на 0,01% водному розчині $Zn(NO_3)_2$; * – $P < 0,05$ порівняно з контролем; n = 3; вертикальною лінією позначено SE

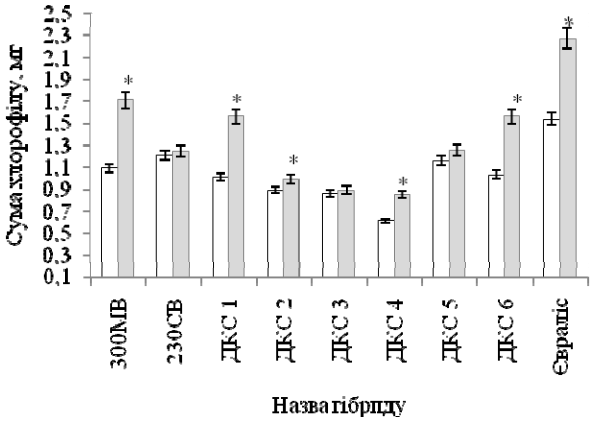


Рис. 2. Вміст суми хлорофілів досліджуваних гібридів: білі ствпчики – контроль, сірі – пророщені на 0,02% водному розчині $Zn(NO_3)_2$; * – $P < 0,05$ порівняно з контролем; n = 3; вертикальною лінією позначено SE

У гібридів ДКС 1 (ФАО 430) середньопізньої групи стиглості та середньостиглому ДКС 2, незначне поліпшення результатів закладання зерен та росту рослин (табл. 2). Натомість ранньостиглий ДКС 5 (ФАО 270) не збільшив ці показники порівняно з контролем.

Маючи тривалий вегетаційний період, кукурудза засвоює поживні речовини до початку воскової стиглості зерна й утворює багато вегетативної маси. У рослин гібридів, які підживлювалися розчинами нітрату цинку слабких концентрацій, спостерігається поліпшення міцності стебла, кольору (у підживлених гібридів він більш насичений), кількості та ваги зерен у качані, а також довжини та діаметра качана. У гібриду Переяславський 230 СВ середньоранньої групи стиглості (ФАО 230) спостерігали збільшення кількості насінин (табл. 2). У контролі отримали 29–31 зернину в ряді, качан довжиною в середньому 178–180 мм. Це пов'язано з тим, що проростання насіння,

обробленого цинком, включає ініціацію низки метаболічних процесів і супроводжується підвищенням активності дихання тканин (Aref, 2012; Buchanan et al., 2015).

В оброблених рослин було у середньому 33–35 зернин у ряді, 470 – у качані. Ефект цинку, який застосовували методом обприскування листків, полягав у збільшенні закладання зерен, розмірів качана та висоти оброблених рослин. Зокрема, рослини середньостиглого гібриду Євраліс, вирощені за підживлення 0,02% водним розчином нітрату цинку, дали приріст кількості насінин на 24% (табл. 2). Наші дані узгоджуються з результатами Khan et al. (2005) та Grzebisz (2008).

Таблиця 1

Розподіл гібридів по групах стиглості в Україні (за Diter, 2012)

Вимоги до температурного режиму	Група стиглості				
	ранньостиглі	середньоранні	середньостиглі	середньопізні	пізньостиглі
Сума активних температур, °С	2200	2400	2600	2800	3000
Сума ефективних температур, °С	900–1000	1100	1150	1200	1300
у тому числі від сходів до викидання волоті	400	450	500	550	600
від викидання волоті до воскової стиглості	400	450	500	550	600
Вегетаційний період, діб	90–105	105–115	115–120	120–130	135–140
Кількість листя, штук	12–14	14–16	17–18	19–20	21–23
Число FAO	100–200	201–300	301–400	401–500	501–600

Таблиця 2

Характеристика качанів кукурудзи різних груп стиглості, підживлених водними розчинами нітрату цинку (n = 100, SE)

Назва гібридів	Група стиглості	Варіанти досліду	Кількість зернин у качані	Висота кріплення, см	Довжина качана, см	Діаметр качана, см
ДКС 1	середньопізня	контроль	583 ± 8,6	100,6 ± 3,3	20,6 ± 1,1	4,8 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	702 ± 7,4*	102,4 ± 3,5	25,4 ± 1,3*	5,1 ± 0,2*
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	710 ± 12,7*	115,1 ± 4,3*	27,2 ± 1,3*	5,5 ± 0,4*
ДКС 2	середньостигла	контроль	582 ± 7,8	83,2 ± 2,8	18,9 ± 0,9	4,6 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	600 ± 9,4	99,7 ± 3,2*	25,1 ± 1,4*	5,6 ± 0,4*
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	615 ± 10,2*	95,2 ± 2,1*	22,5 ± 1,9*	5,3 ± 0,3
ДКС 3	середньостигла	контроль	604 ± 5,9	91,4 ± 1,7	19,3 ± 1,2	4,9 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	625 ± 7,8*	115,9 ± 3,4*	20,7 ± 1,3	5,8 ± 0,6*
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	630 ± 8,3*	107,7 ± 1,9*	27,3 ± 1,9*	5,3 ± 0,4
ДКС 4	середньорання	контроль	598 ± 3,8	100,5 ± 1,2	21,4 ± 1,1	4,1 ± 0,1
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	620 ± 7,9*	113,9 ± 1,8*	30,1 ± 1,9*	4,6 ± 0,3
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	632 ± 8,6*	108,6 ± 4,7*	26,2 ± 0,5	5,5 ± 0,3*
ДКС 5	ранньостигла	контроль	470 ± 3,8	98,4 ± 1,3	22,8 ± 1,2	3,9 ± 0,1
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	490 ± 5,7*	104,1 ± 1,5	24,6 ± 1,6*	4,3 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	482 ± 4,2*	110,2 ± 1,6*	28,4 ± 1,7*	4,7 ± 0,3*
ДКС 6	середньорання	контроль	400 ± 3,4	96,7 ± 1,2	18,3 ± 1,4	3,9 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	418 ± 5,6*	105,8 ± 1,7	25,7 ± 1,9*	4,2 ± 0,3
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	425 ± 7,1*	113,6 ± 1,9*	27,3 ± 1,3	4,8 ± 0,4*
230 СВ	середньорання	контроль	470 ± 6,4	85,3 ± 0,9	17,2 ± 0,7	3,2 ± 0,1
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	485 ± 7,7*	93,5 ± 1,1*	19,1 ± 0,9	3,5 ± 0,1
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	482 ± 6,3	90,4 ± 0,9	21,8 ± 1,4*	3,9 ± 0,2*
300 МВ	середньостигла	контроль	355 ± 3,2	75,7 ± 0,5	14,6 ± 1,3	3,5 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	369 ± 4,7*	87,8 ± 0,7*	18,2 ± 1,5*	4,1 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	365 ± 4,6	85,2 ± 0,9	17,8 ± 0,8	4,6 ± 0,3*
Євраліс	середньорання	контроль	334 ± 4,1	80,4 ± 0,8	16,1 ± 0,7	4,2 ± 0,2
		$Zn(NO_3)_2$, 0,01%	380 ± 5,8	108,5 ± 1,7*	23,9 ± 1,4*	4,9 ± 0,3
		$Zn(NO_3)_2$, 0,02%	395 ± 8,1*	105,3 ± 1,6	20,4 ± 1,3	5,3 ± 0,4*

Примітка: * – різниця порівняно з контролем достовірна за $P < 0,05$.

На основі отриманих результатів можемо стверджувати, що підживлення цинковими добривами добре позначається на продуктивності більшості досліджуваних гібридів. Зокрема, у гібриду Євраліс реєстрували збільшення кількості зернин у качані на 30% порівняно з контролем. Маса 1 000 насінин у його рослин, які були підживлені 0,01% водним розчином нітрату цинку, була на 16% вищою, а у рослин гібридів ДКС 1, ДКС 2, ДКС 3, ДКС 4, ДКС 5, ДКС 6, 230 СВ та 300 МВ на 4, 17, 13, 28, 14, 7, 23 та 25% вищою порівняно з контролем (рис. 4). На дослідній ділянці у гібридів Євраліс та гібридів групи ДКС різної стиглості спостерігали збільшення кількості зернин у середньому в 95% випадків. Спостерігали також приріст ваги врожаю. Найвищу врожайність генетично закладено у середньопізніх та пізньостиглих гібридів. Проте для нашого регіону найкращі результати показують середньоранні та ранньостиглі гібриди. Наприклад, середньостиглий гібрид ДКС 2 за позакореневого підживлення нітратом цинку 0,02% дає приріст ваги 1 000 насінин на 23% (рис. 4). Це пов'язано з ґрунтово-кліматичними особливостями Закарпаття (пізньостиглі гібриди в нас не дозрівають).

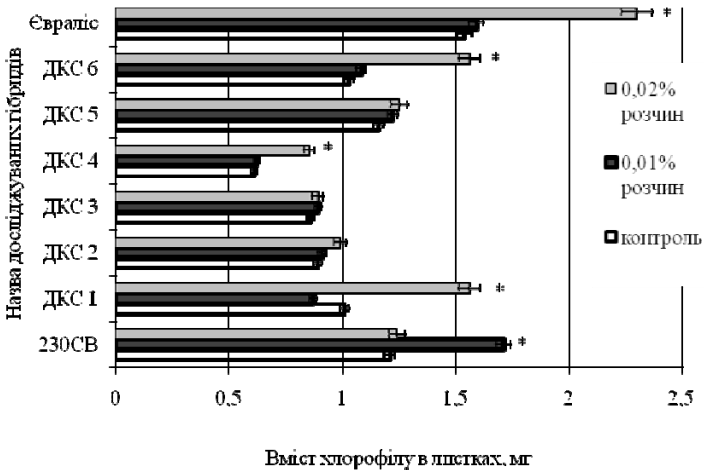


Рис. 3. Вміст хлорофілу в листках гібридів, пророщених на розчині нітрату цинку 0,01% та 0,02% концентрації та в контролі: * – P < 0,05 порівняно з контролем; n = 3; вертикальною лінією позначено SE

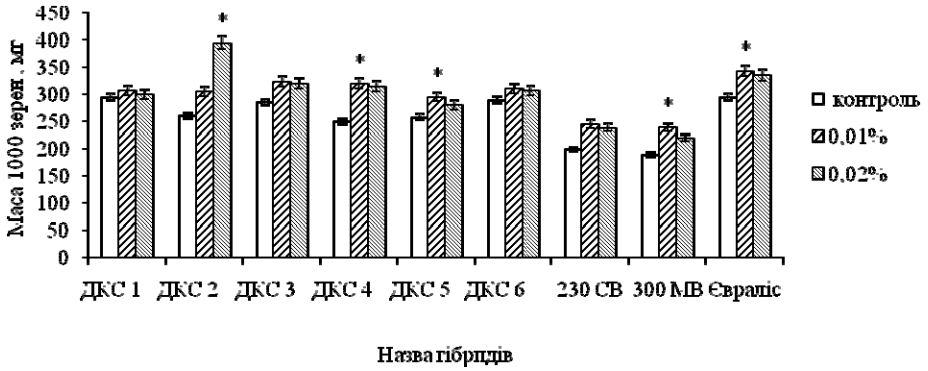


Рис. 4. Маса 1 000 зернин гібридів із ділянок, підживлених водними розчинами $Zn(NO_3)_2$ 0,01% та 0,02% концентрації та в контролі: * – P < 0,05 порівняно з контролем; n = 3; вертикальною лінією позначено SE

Нестача цинку спричинює зменшення продуктивності та якості врожаю. Оптимальне підживлення цинком дає збільшення врожаїв (Mousavi et al., 2007; Efe and Yarpuz, 2011; Yanfang et al., 2014). На основі досліджень можемо рекомендувати господарствам застосовувати водні розчини 0,01% та 0,02% нітрату цинку для передпосівного замочування та як фоліарні добрива для поліпшення продуктивності кукурудзи.

Висновки

За позакореневого підживлення дев'яти досліджуваних гібридів кукурудзи 0,01% та 0,02% розчином нітрату цинку вміст хлорофілу збільшився порівняно з контролем. Замочування насіння розчином нітрату цинку включає ініціацію низки метаболічних процесів у рослин. Тому підживлення цинковими добривами добре позначається на продуктивності більшості взятих гібридів. На основі досліджень можемо рекомендувати господарствам застосовувати водні розчини 0,01% та 0,02% нітрату цинку для передпосівного замочування та як фоліарні добрива для поліпшення продуктивності кукурудзи.

Бібліографічні посилання

Allen, J.F., Forsberg, J., 2001. Molecular recognition in thylakoid structure and function. Trends Plant Sci. 6, 317–326.

Andeyev, I.O., Spiridonova, K.V., Maydanyuk, D.M., Kunakh, V.A., 2009. Henetychni efekty kul'tyvuvannya *in vitro* tkanyn kukurudzy [Genetic effects of tissue culture on maize]. Fiziolohya i Biokhimiya Kul'turnykh Roslyn 41(6), 487–495.

Aref, F., 2012. Effect of different zinc and boron application methods on leaf nitrogen, phosphorus and potassium concentrations in maize grown on zinc and boron deficient calcareous soils. J. Soil Nature 6(1), 1–10.

Baker, A.J.M., 1981. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. J. Plant Nutr. 3, 643–654.

Banziger, M., Long, J., 2000. The potential for increasing the iron and zinc density of maize through plant-breeding. Food Nutr. Bull. 21, 397–400.

Becker, W.M., 1986. The world of the cell. Benjamin/ Cummings, Menlo Park, CA.

Bessonova, V.P., 1992. Vlijanie tjazhelyh metallov na antioksidantnuju sistemu kletok list'ev chiny dushistoj [Influence of heavy metals on antioxidant system of leaves cells of *Lathyrus odoratus* L.]. Fiziologija i Biohimija Kul'turnykh Rastenij 24(2), 147–151 (in Russian).

Bessonova, V.P., 1999. Citofiziologicheskie jeffekty vozdejstvija tjazhelyh metallov na rost i razvitie rastenij [Cytophysiological effects of heavy metals on the growth and development of plants]. ZDU, Zaporozh'e (in Russian).

Bessonova, V.P., 2006. Praktykum z fiziologiji roslyn [Practical work on plant physiology]. Svidler, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Bessonova, V.P., 2006. Vlijanie tjazhelyh metallov na fotosintez rastenij [Influence of heavy metals on the photosynthesis of plants]. DDAU, Dnipropetrovsk (in Russian).

Boochs, F., Kupefer, G., Dockter, K., Kubauch, W., 1990. Shape of the red edge as vitality indicator for plants. Int. J. Remote Sens. 11, 1741–1753.

Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L., 2015. Biochemistry and molecular biology of plants. Wiley, Oxford.
Chandler, R.E., Scott, E.M., 2011. Statistical methods for trend detection and analysis in the environmental sciences (statistics in practice). John Wiley and Sons, New York.
Chen, X.P, Cui, Z.L., Vitousek, P.M., Cassman, K.G., Matson, P.A., Bai, J.S, Meng, Q.F., Hou, P., Yue, S.C., Römheld, V., Zhang, F.S., 2011. Integrated soil-crop system management for food security. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108, 6399–6404.
Ciganda, V., Gitelson, A.A., Schepers, J.S., 2009. Non-destructive determination of corn leaf canopy chlorophyll content. J. Plant Physiol. 166, 157–167.
Diter, S., 2012. Kukurudza. Vy'roshhuvannya, zberigannya ta vy'kory'stannya [Corn. Growing, harvesting, storage and use] Knyga. Kyiv (in Ukrainian).
Dobermann, A., Cassman, K.G., 2002. Plant nutrient management for enhanced productivity in intensive grain production systems of the United States and Asia. Plant Soil 247, 153–175.
Eshhenko, V.O., Kopitka, P.G., Oprishko, V.P., Kostogriz, P.V., 2005. Osnovi naukovih doslidzhen' v agronomiji [Basic research in agronomy]. Dija, Kyiv (in Ukrainian).
Fageria, N.K., Barbosa, M.P., Santos, A.B., 2008. Growth and zinc uptake and use efficiency in food crops. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 39, 2258–2269.
Feil, B., Moser, S.B., Jampatong, S., Stamp, P., 2005. Mineral composition of the grains of tropical maize varieties as affected by pre-anthesis drought and rate of nitrogen fertilization. Crop Sci. 45, 516–523.
Gitelson, A.A., Merzlyak, M.N., 1997. Remote estimation of chlorophyll content in higher plant leaves. Int. J. Remote Sens. 18, 2691–2697.
Grzebisz, W., 2008. Effect of zinc foliar application at an early stage of maize growth on patterns of nutrients and dry matter accumulation by the canopy. Part 2. Nitrogen uptake and dry mattern accumulation patterns. J. Elementol. 13, 17–39.
Hall, J.L., Williams, L.E., 2003. Transition metal transporters in plants. J. Exp. Bot. 393, 2601–2613.
Hrozdinskij, D.M., 2013. Adaptyvna strategija fiziolohichnich procesiv roslin [Adaptive strategy physiological processes of plants]. Naukova Dumka, Kyiv (in Ukrainian).
Hural'chuk, Z.Z., 2006. Fitotoksychnist' vazhkykh metaliv ta stiykist' roslyn do yikh diyi [Phytotoxicity of heavy metals and plant resistance to their action]. Logos, Kyiv (in Ukrainian).
Jakubekova, M., Pretova, A., Obert, B., 2011. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo induced callus of maize (*Zea mays* L.). J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 1(4), 478–487.
Khan, M.A., Abid, M., Hussain, N., Massood, M.U., 2005. Effect of phosphorous levels on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) cultivars under saline conditions. Int. J. Agric. Biol. 3, 511–514.
Khan, M.A., Fuller, M.P., Baluch, F.S., 2008. Effect of soil applied zinc sulphate on wheat (*Triticum aestivum* L.) grown on a calcareous soil in Pakistan. Cereal Res. Commun. 36, 571–582.
Kosakivs'ka, I.V., 2003. Fisiologo-biochimicyni osnovy adaptaciji roslyn do stresiv [Physiological and biochemical bases of plant adaptation to stress]. Stal, Kyiv (in Ukrainian).
Kots, S.J., Peterson, N.V., 2005. Mineralni elementy i dobryva v zhyvlenni roslyn [Mineral elements and fertilizers in plant nutrition]. Logos, Kyiv (in Ukrainian).
Mehdi, S.S., Husain, B., Singh, L., 2012. Influence of seed rate, nitrogen and zinc on fodder maize (*Zea mays*) in temperate conditions of western Himalayas. Indian J. Agron. 57(1), 85–88.
Mel'nychuk, D., Hofman, D., Horodn'oho, M., 2004. Yakist' gruntu ta suchasni stratehiyi udobrennya [Soil quality and modern strategies of fertilization]. Aristey, Kyiv (in Ukrainian).
Mitchell, C.D., Fretz, T.A., 1977. Cadmium and zinc toxicity in white pine, red malp and norway spruce. Soc. Hort. Sci. 102, 25–42.
Mousavi, S.R., Galavi, M., Ahmadvand, G., 2007. Effect of zinc and manganese foliar application on yield, quality and enrichment on potato (*Solanum tuberosum* L.). Asian J. Plant Sci. 6, 1256–1260.
Musienko, M.M., 2005. Fiziologija roslyn [Plant Physiology]. Libid', Kyiv (in Ukrainian).
Nelson, N., Ben-Shem, A., 2004, The complex architecture of oxygenic photosynthesis. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 5, 971–982.
Nikolaychuk, V.I., Belchgazi, V.J., Vakerych, M.M., Kolesnic, A.V., Kichko, K.M., 2012. Fiziologija roslyn. Malyj practycum [Plant Physiology. Small Workshop]. Hoverla, Uzhgorod (in Ukrainian).
Nolan, A.L., Zhang, M.J., McLaughlin, H.J., 2005. Prediction of zinc, cadmium, lead, and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin films, extraction, and isotopic dilution techniques. Environ. Qual. 34, 496–507.
Nuss, E.T., Tanumihardjo, S.A., 2010. Maize: A paramount staple crop in the context of global nutrition. Compr. Rev. Food Sci. F 9(4), 417–436.
Pardo, J.M., Cubero, B., Leidi, E.O., Quintero, F.J., 2006. Alkali cation exchangers: Roles in cellular homeostasis and stress tolerance. J. Exp. Bot. 57, 1181–1199.
Piekielek, W.P., Fox, R.H., 1992. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress N requirements for maize. Agron. J. 84, 59–65.
Potarzycki, J., 2010. The impact of fertilization systems on zinc management by grain maize. Fertilizers Fertilization 39, 78–89.
Schepers, J.S., Blackmer, T.M., Francis, D.D., 1992. Predicting N fertilizer needs for corn in humid regions: Using chlorophyll meters. In: Bock, B.R., Kelley, K.R. (eds.) Predicting N fertilizer needs for corn in humid regions. Bull. Y-226. National Fertilizer and Environmental Research Center; Muscle Shoals, AL, USA. P. 105–114.
Setiyono, T.D., Walters, D.T., Cassman, K.G., Witt, C., Dobermann, A., 2010. Estimating maize nutrient uptake requirements. Field Crops Res. 118, 158–168.
Shiferaw, B., Prasanna, B., Hellin, J., Bänziger, M., 2011. Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. Food Sec. 3, 307–327.
Tarcevskij, I.A., 1993. Katabolizm i stres u roslin [Catabolism and stress in plants]. Nauka, Moscow (in Russian).
Thomas, J.R., Gausman, H.W., 1977. Leaf reflectance versus leaf chlorophyll and carotenoid concentrations for eight crops. Agron. 69, 799–802.
Vlasenko, M.J., Vemiljanova-Zernova, L.D., Mackevich, V.V., 2006. Fiziologija roslin z osnovami biotehnologiji [Plant physiology basics of biotechnology]. Bila Tcerkva (in Ukrainian).
Xue, Y., Yue, S., Zhang, W., Liu, D., Cui, Z., Chen, X., Ye, Y., Zou, C., 2014. Zinc, iron, manganese and copper uptake requirement in response to nitrogen supply and the increased grain yield of summer maize. PLoS ONE 9(4), e93895.

Надійшла до редколегії 29.07.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 308–316.

doi:10.15421/011640

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 598.235.4:591.521(477)

Гнездование большого баклана (*Phalacrocorax carbo*) на техногенных сооружениях в Украине

А.И. Сидоренко, В.Д. Сиохин

НИИ биоразнообразия наземных и водных экосистем Украины, Мелитополь, Украина

Гнездование большого баклана (*Phalacrocorax carbo* Linnaeus, 1758) на техногенных сооружениях является одним из проявлений его стратегии гнездостроительства, помимо наземной и древесной. В Украине установлены следующие техногенные объекты, служащие гнездовыми территориями для баклана: газовые вышки в Азовском море, затопленные корабли и док – мишени для учебного бомбометания, опоры ЛЭП и рукотворные острова на Киевском и Кременчугском водохранилищах, озерах Сасык и Чернино. В настоящее время существуют шесть из них. В большинстве случаев сопутствующим видом является чайка-хохотунья (*Larus cachinnans* Pallas, 1811), активно разоряющая гнезда баклана и поедающая яйца и птенцов. Оценена динамика численности баклана с момента заселения объектов и по настоящее время. Антропогенное вмешательство в колониях происходит не только в тех случаях, когда это предписано регламентными эксплуатационными работами (как на опорах ЛЭП и газовых вышках), но и со стороны посещающих гнездовья рыбаков. Ввиду отсутствия гнездопригодных территорий поблизости в колониях наблюдается ощутимая территориальная конкуренция как с чайкой-хохотуньей, так и между бакланами.

Ключевые слова: стратегия гнездостроительства; рукотворные сооружения; Украина

Nesting of Great Cormorants (*Phalacrocorax carbo*) on man-made structures in Ukraine

A.I. Sidorenko, V.D. Siokhin

Biodiversity Research Institute, Melitopol, Ukraine

In Ukraine the Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo* Linnaeus, 1758) uses a rather wide range of habitats for nesting: islands, trees and shrubs, reedbeds and a variety of man-made structures. In general, the strategy of nesting on man-made structures is uncommon both in Ukraine and Europe, and Cormorants do this only in the absence of other sites suitable for nesting. Special research on Cormorant colonies on technogenic constructions was carried out during the field expeditions by the Research Institute of Biodiversity of Terrestrial and Aquatic Ecosystems of Ukraine in 2002–2003 and 2012–2016. Besides this, we used retrospective and current data from the literature and Internet resources. Most of the field work was carried out by making surveys by boat and on foot. As a result, we found 8 Cormorant colonies on technogenic constructions in Ukraine: gas platforms in the Sea of Azov (near the village Strilkove, Henichesk district of Kherson region); sunken ships – targets for bombing training near the Arabat Spit (these are also known as «ship islands»); electricity pylons of the high-voltage Enerhodar Dnipro Power Line where it crosses the Kakhovka Reservoir; the dock in Yahorlyk Bayk, used in the past as a target for bombing training bombing; artificial island-platforms on Lake Chernine (Kinburn Peninsula); an artificial island on the Sasyk Lagoon (Odessa region); artificial islands, made as navigation markers on the Kremenchuk and Kiev reservoirs. The study found that in most cases the accompanying species was the Caspian Gull (*Larus cachinnans* Pallas, 1811), which actively destroys the Cormorants' nests and eats their eggs and chicks. The number of nests in the colonies varied greatly (5–30 nests on the navigation marker islands and ca. 2 000–2 300 on the «ship-islands» and gas platforms). This is due, primarily, to the area of the breeding territory. The research found that a rigid territorial competition was observed in most of the colonies both with Caspian Gulls and between Cormorants. In addition, we observed anthropogenic interference in the colonies by fishermen and workers conducting routine maintenance work (as happened in the case of electricity pylons and gas platforms). The benefit of this study is that it is the first research in Ukraine conducted at national level on this type of nesting by Cormorants. Moreover, the study examines the history of emergence of these nesting territories and population dynamics of the Great Cormorant from the time of initial settlement of the breeding sites till the present.

Keywords: nesting strategy; artificial constructions; Ukraine

НИИ биоразнообразия наземных и водных экосистем Украины, ул. Гетманская, 20, Мелитополь, 72312, Украина
Biodiversity Research Institute, Het'mans'ka str., 20, Melitopol, 72312, Ukraine
Tel.: +38-096-474-71-93. E-mail: andrey1991akim@mail.ru

Введение

В Украине большой баклан (*Phalacrocorax carbo* Linnaeus, 1758) использует для гнездования достаточно широкий спектр биотопов: острова различного происхождения, деревья и кустарники, заломы тростника, а также разнообразные техногенные сооружения. В целом можно выделить три стратегии гнездования: наземное, древесное и техногенное. Наиболее распространенным в континентальной части страны является древесный тип гнездования, а в Азово-Черноморском регионе Украины – наземный.

Гнездование на рукотворных сооружениях, как в Украине, так и в Европе вообще, для вида является не особо распространенным (Mainwaring, 2015; Klimaszyk and Rzymski, 2016), и баклан гнездится на подобных сооружениях только в условиях отсутствия гнездопригодных территорий. В Европе большой баклан чаще всего использует плотины, маяки, линии электропередач и заброшенные суда. Такая картина наблюдается в Дании (Jepsen and Olesen, 2013), Венгрии (Szinai, 2014), Болгарии (Nikolov et al., 2014), Великобритании (Baker et al., 2010), Франции (Santoul et al., 2004; Collas and Burgun, 2011), Германии (Kieckbusch, 2014), Италии (Volponi, 1999), Латвии (Millers, 2014), Сербии (Šćiban et al., 2014), в Кандалакшском заливе Белого моря (Bianki et al., 2014).

Наиболее часто для строительства гнезд баклан выбирает различные гидросооружения, а также заброшенные или действующие опоры ЛЭП. При этом, если в одних странах (Сербия, Венгрия) число гнезд на опорах ЛЭП единично (не превышает несколько десятков в одной колонии), в других, например, в Болгарии, более половины бакланов в крупнейшей колонии страны (910 гнездящихся пар в 2012 г.), расположенной на оз. Мандра, размещали свои гнезда именно таким способом (Nikolov et al., 2014). Вторыми по популярности среди рукотворных сооружений в Европе являются маяки (Латвия, Кандалакшский залив) и обломки кораблекрушений (Германия, Латвия).

Подобная стратегия присуща и другим видам бакланов, например, берингов баклан (*Phalacrocorax pelagicus* Pallas, 1811) для гнездования использует причалы, пирсы, планширы судов и т.п. в Канаде (Hobson and Wilson, 1985), а заброшенный радар ВВС – на Аляске (Kotzerka et al., 2011), вальбергов (*Ph. neglectus* Wahlberg, 1855) и белогрудый (*Ph. lucidus* Lichtenstein, 1823) бакланы – в Южной Африке (Barlett et al., 2003; Sherley et al., 2012; Crawford et al., 2013, 2015), отмечались случаи гнездования ушастых бакланов (*Ph. auritus* Lesson, 1831) в США на железнодорожной эстакаде (Adkins et al., 2014) и искусственных гнездовых платформах с автомобильными покрышками (Suzuki et al., 2015). Для ушастого баклана в США (на Великих озерах) также характерно гнездование на рукотворных гидросооружениях совместно с другими колониальными птицами (Cuthbert et al., 2002; Stapanian, 2002). Исследования американских орнитологов (Chatwin et al., 2002) выявили, что для этого вида рост случаев гнездования на рукотворных сооружениях произошел из-за активного хищничества в колониях со стороны белоголовых орланов (*Haliaeetus leucocephalus* Linnaeus, 1766). По всей видимости, по схожим причинам такой стратегией руководствуются и другие виды бакланов.

Несмотря на то, что в литературе имеется немало упоминаний о гнездовании большого баклана на техногенных сооружениях, подробной характеристики рукотворных гнездовых территорий большого баклана, как в Европе, так и в Украине, нет. Поэтому, возникла необходимость выявить и охарактеризовать гнездовые территории техногенного характера большого баклана в Украине, описать специфику данного типа гнездования в нашей стране.

Материал и методы исследований

Специальные исследования поселений большого баклана на техногенных сооружениях проведены в ходе полевых экспедиционных выездов сотрудников НИИ биоразнообразия наземных и водных экосистем Украины в 2002–2003 и 2012–2016 гг., помимо этого, использованы ретроспективные и современные данные из литературных источников и Интернет-ресурсов. Большая часть экспедиционной работы проведена методами лодочных и пешеходных маршрутов.

Для наблюдений за птицами применялись бинокли (Etherna и Bushnell 10^x) и подзорная труба (VIXEN Geoma 20-60 x 80). Пространственная характеристика передвижений на территории исследования выполнена при помощи навигатора GARMIN GPSMAP 78s. Треки выездов в виде KML файлов отображались в программе Google Earth с последующей картографической привязкой полученной информации к территории. Фотографирования биотопов и птиц осуществлялось камерами Nicon D80 и Canon EOS 450D. Все фотографии экспортировались в программу FastStone Image Viewer, которая вместе с программным обеспечением фотоаппаратов в режиме Exif метаданных (дата, координаты, условия съемки) давала возможность контролировать геолокационные данные, дату и условия съемки сделанных фотографий.

Результаты и их обсуждение

Анализ литературных данных и собственные исследования позволили выделить восемь поселений большого баклана на техносооружениях Украины (рис. 1): газовые вышки в Азовском море (неподалеку от с. Стрелковое, Генический р-н Херсонской области; № 1), затопленные корабли-мишени возле Арабатской стрелки (№ 2), опоры высоковольтных ЛЭП – переходы через Каховское водохранилище (№ 3), док-мишень в Ягорлыцком заливе (№ 4), острова-платформы на оз. Чернино (Кинбурнский п-ов) – № 5, искусственный остров на оз. Сасык (№ 6), искусственные острова на Кременчугском водохранилище (№ 7) и гидросооружения на Киевском водохранилище (№ 8).

Газовые вышки. Стрелковое газовое месторождение является первым освоенным на море месторождением на территории Украины. На суше оно было введено в эксплуатацию в 1970 г., а в море, после строительства ледостойкой нежилой платформы – в 1981 г. В конце 1970-х гг. на шельфе Азовского моря предполагалось построить первую в СССР ледостойкую железобетонную платформу. Опора такой платформы представляла

собой многогранный железобетонный цилиндр диаметром 8 м с толщиной стенки 1 м. Опора закреплялась 16 вертикальными сваями, которые проходили внутри стенок цилиндрической части и забивались в грунт. При строительстве опорной конструкции для платформы сказалось отсутствие опыта возведения подобных сооружений на шельфе, где имеют место подвижки ледовых полей, которые на Азовском море при северо-восточных ветрах наблюдаются в феврале – марте. И в первую зиму опорная конструкция строящейся платформы не выдержала натиска льда и накренилась (рис. 2). Это послужило хорошим опытом при строительстве последующих стальных морских стационарных платформ Стрелка-2, Стрелка-5 и других (Azhermachev, 2005).

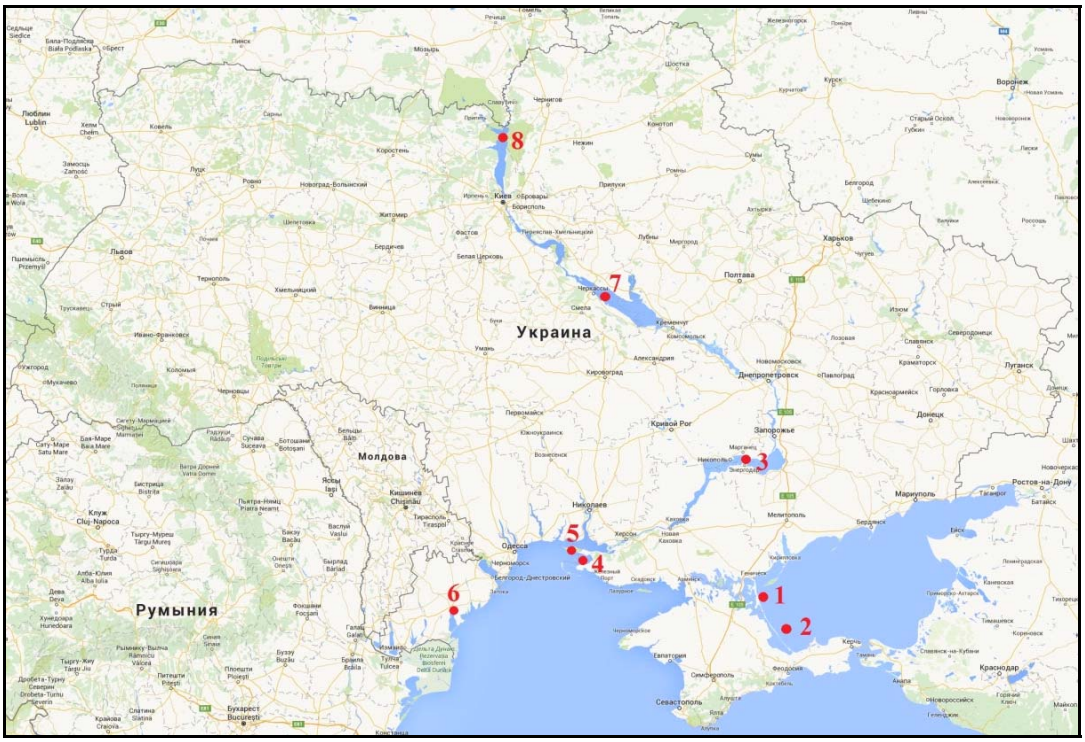


Рис. 1. Гнездование большого баклана на техногенных сооружениях в Украине: нумерация колоний соответствует их описанию в тексте выше

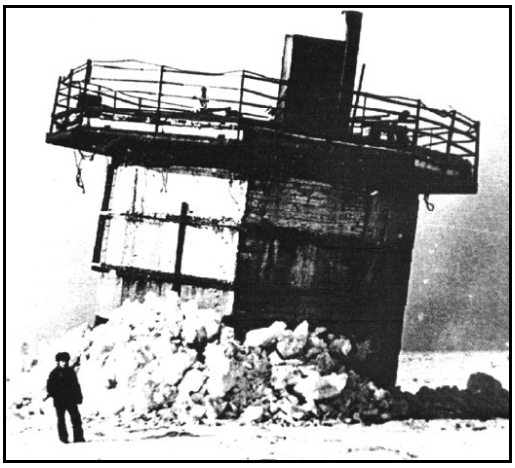


Рис. 2. Наклон ледостойкой платформы под напором льда, конец 1970-х гг. (фото из Azhermachev, 2005)

В настоящий момент на Стрелковом месторождении установлены две морские стальные стационарные платформы (МССП): Стрелка-2 (МСП-112, введена в эксплуатацию в ноябре 1981 г., расположена в 1,6 км от берега; действующая – рис. 3) и Стрелка-5 (МСП-115, введена в эксплуатацию в декабре 1983 г., расположена в 3,3 км от берега; законсервирована). По конструктивному решению они очень близки и состоят из призматического моноблока с развитым в нижней части свайным ростверком (Sincov et al., 2009), двухъярусные сооружения высотой около 15 м. Помимо них, в 1 км от берега расположены остатки экспериментальной, разрушенной, платформы.

Большой баклан начал гнездиться на газовых вышках с 2000 г. В период с начала гнездования по 2008 г. его численность составляла 600–2 260 пар. Во время учетов в 2008 г. она распределялась так: первая вышка – 160 пар, вторая (МСП-112) – 1 600 пар, третья (МСП-115) – 900 пар. В 2009 г. она заметно снизилась (до 1 000 пар), что связано с регламентным обслуживанием газового оборудования и интенсивным уничтожением бакланьих гнезд. В 2012 г., по сведениям сотрудников Генического газового хозяйства, на вышках гнездилось около 200 пар больших бакланов, которые располагались на третьей вышке (рис. 4).

Дальнейшие исследования проведены в мае 2016 г. Согласно нашим данным, численность гнезд баклана была следующей: первая вышка – 30 гнезд, вторая – 80, третья – 209 гнезд. Основная часть гнезд располагалась на законсервированной МСП-115, на второй вышке небольшое количество гнезд объясняется постоянным их уничтожением работниками газового хозяйства.

Во все годы колония баклана была моновидовой, с большой плотностью гнездования. В годы с большими значениями численности отмечался дефицит доступных мест расположения гнезд. Строительный материал приносится с материковых участков Арабатской стрелки.

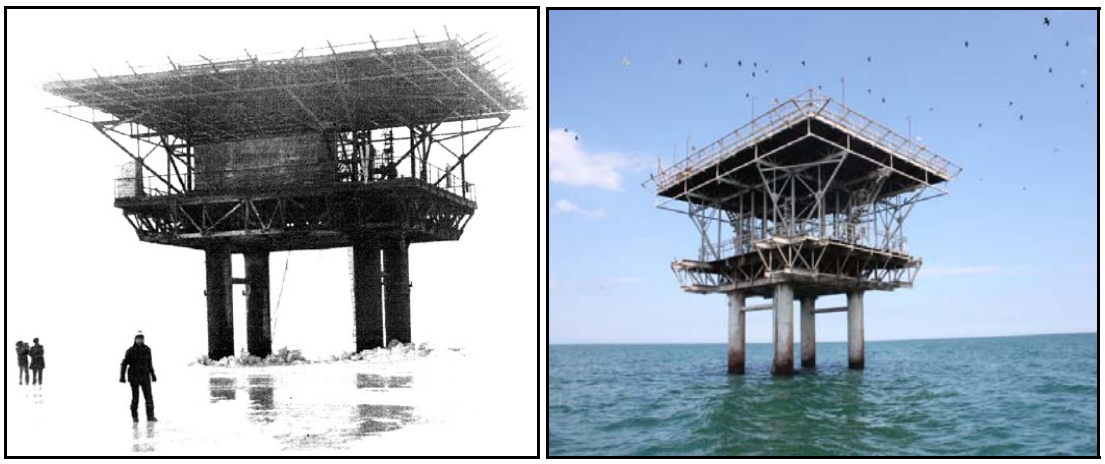


Рис. 3. Платформа Стрелка-2 в 1982 и 2016 гг. Фото автора и из Azhermachev, 2005

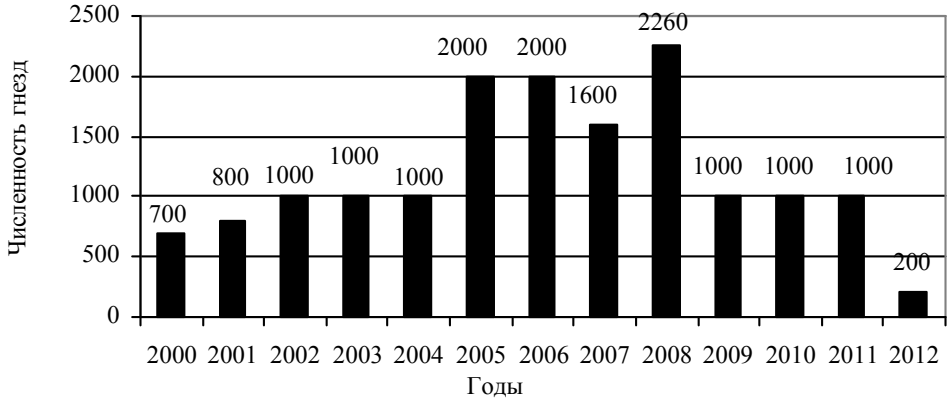


Рис. 4. Динамика численности гнезд большого баклана на газовых вышках в 2000–2012 гг.

Обследование третьей платформы (17.05.2016 г.) показало следующую картину распределения гнезд по ее технологическим узлам. На балках, которые поддерживают нижний ярус платформы, – 28 гнезд, на вентилях, трубах и прочих агрегатах вышки, расположенных в средней ее части, – 40, на балках, которые поддерживают верхний ярус платформы, – 15, непосредственно на верхнем ярусе платформы – 126 гнезд. При осмотре верхнего яруса платформы обнаружено, что гнезда располагаются на периферии, довольно плотно друг от друга, центральная же часть платформы пустая (рис. 5). В 50 гнездах отмечены яйца (1–7), а в еще 76 – птенцы разного возраста (2–5 особей/гнездо).

Обычно на вышках в период гнездования кроме гнездящихся отмечалось значительное количество холостых птиц. В 2007 г. таких птиц было учтено до 4 000 особей, в 2008 г. их численность составляла уже 5 000–5 200, а в 2016 – около 1 500 особей. Очевидно, что вышки для бакланов являются местами отдыха, расположенными около кормовых полей в Азовском море.

На этих технических сооружениях отмечается негативное воздействие больших бакланов на отдельные технологические узлы вышек. Коррозия металлических деталей из-за экскрементов большого баклана разрушила отдельные детали сооружений, что хорошо наблюдается на законсервированной платформе Стрелка-5 (рис. 6). Несмотря на ежегодные регламентные работы, когда гнезда бакланов разрушаются, птицы гнездятся повторно.

Рис. 5. Гнезда баклана на верхнем ярусе газовой платформы Стрелка-5 в 2016 г.

Рис. 6. Разрушение деталей газовой платформы Стрелка-5 из-за воздействия помета баклана

Затопленные корабли в Азовском море. В группу затопленных в 1954–1956 гг. кораблей входили трехпалубный грузо-пассажирский пароход «Курск» (вместимость – 6 254 брт), грузовой рефрижераторный теплоход «Кубань» (3 113 брт), грузовой теплоход «Калинин» (4 156 брт), грузовой пароход «Карл Маркс» (бывш. «Диана», 3 308 брт) и, по неподтвержденным данным, суда «Сталин» и «Роза Люксембург». Данные корабли после списания были посажены на отмель в Азовском море и использовались в качестве полигона для учебного бомбометания летчиками Черноморского флота. Располагались они в 9–10 км в море, в районе 80-го км Арабатской стрелки. В литературе известны как «острова-корабли».

По данным рыбаков, гнездование большого баклана на надстройках кораблей отмечалось с конца 1970-х гг. Вероятно, среди колоний, образованных на современном этапе расселения баклана в Украине (начиная с конца 1970-х гг.), эта была первой, куда птицы переселились из водно-болотных угодий Таманского полуострова.

Проведенные учеты дают возможность оперировать данными о численности птиц на «островах-кораблях» с 1989 г. Наибольшее количество птиц (1 500–1 800 пар) учитывалось в 1990–1993 гг. и в 1999 г. (2 000 гнезд), а с 2000 г. отмечается резкое снижение численности из-за постоянного беспокойства со стороны рыбаков и уменьшения пригодных для гнездования территорий (рис. 7). При этом гнезда, расположенные на нижних надстройках кораблей, регулярно смывало штормами. Дефицит гнездовых территорий обуславливал высокую плотность гнезд, располагавшихся в 10–15 см друг от друга. Еще одной проблемой был дефицит материала для строительства гнезд, который бакланы приносили с Арабатской стрелки (как и в случае с газовыми вышками); при этом неоднократно отмечалось воровство строительного материала из соседних гнезд, что приводило к разрушению части кладок и гибели птенцов.

Помимо большого баклана в 1989–1992 гг. на «островах-кораблях» гнездилось 200–450 пар чаек-хохотуний (*Larus cachinnans*), которые занимались хищничеством, поедая яйца и птенцов баклана. С каждым годом корабли все больше и больше подвергались коррозии, разрушались льдами и штормами. В 2002–2004 гг. оставалась лишь одна небольшая площадка для гнездования, а с 2005 г. «острова-корабли» как гнездовая территория исчезли. По состоянию на 2016 г. остались только их подводные части, расположенные на глубине около 2,8 м.

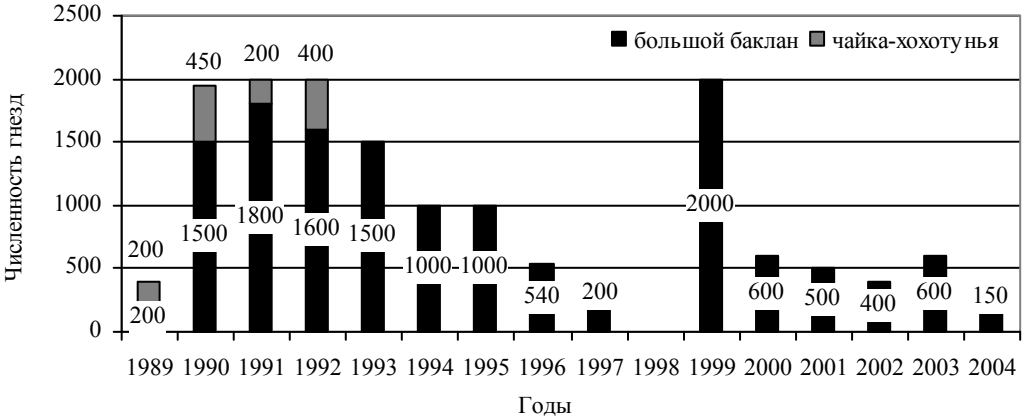


Рис. 7. Динамика численности гнезд большого баклана и чайки-хохотуньи на «островах-кораблях» в 1989–2004 гг.

Интересно, что наши наблюдения на аналогичных затопленных кораблях, поставленных на прикол в юго-западной оконечности Обиточной косы, фактов гнездования баклана на них не обнаружили, хотя большие скопления отдыхающих птиц (500–1 000 особей) как на песчаных косах неподалеку, так и на самих кораблях, наблюдались регулярно. Очевидно, что это связано с наличием более подходящих гнездопригодных территорий на деревьях косы, располагающихся в 2,7 км, в отличие от «островов-кораблей», от которых до Арабатской стрелки было не менее 9 км. Другим фактором, ограничивающим гнездование баклана на кораблях на Обиточной косе, является постоянное беспокойство со стороны охотников.

Опоры переходов ЛЭП через Каховское водохранилище. Линии переходов через Каховское водохранилище построены для передачи электроэнергии от энергогенерирующих предприятий Энергодара к промышленным предприятиям Запорожья и Днепропетровска. На момент постройки они не имели аналогов в мире. Строительство началось с ВЛ 330 кВ, переход которой состоит из семи опор (пять из которых расположены в акватории водохранилища) высотой 90 м (центральная – 100 м), диаметр бетонного фундамента 30 м при его высоте над водой (в зависимости от ее уровня) 2–5 м. Расстояние между опорами – 750–800 м. Линия введена в эксплуатацию в 1977 г., одновременно с выходом на полную мощность Запорожской ТЭЦ (1972–1977 гг.). После введения в эксплуатацию первого энергоблока Запорожской АЭС в 1984 г. построен еще один переход, ВЛ 750 кВ, состоящий из пяти опор (три из которых расположены в акватории). Высота каждой – 126 м, диаметр фундамента – 40 м, расстояние между опорами – 1,2 км (Gorlov et al., in press).

Исследования гнездовых поселений баклана на опорах ЛЭП проведены в 2012 г. Установлено гнездование баклана почти на всех опорах обоих переходов (рис. 8). К сожалению, не было возможности близко обследовать две опоры у правого берега водохранилища, однако активность бакланов и их достаточная численность вокруг них (100–150 особей) позволяет предположить наличие гнездовых поселений и там.

Распределение гнезд на исследуемой территории следующее. Опоры перехода ВЛ 330 кВ – 320, 280, 200 и

100 гнезд, опоры перехода ВЛ 750 кВ – 190 и 150 гнезд. Общая численность составила 1 240 гнезд. Подавляющее число гнезд выстраивались на горизонтальных элементах опор, на бетонном фундаменте птицы не гнездились (рис. 8). Постройки находились в интервале от полуметра над бетонным фундаментом до средней части опоры ВЛ 750 кВ (около 50 м), в большинстве своем располагаясь в высотном интервале до 20–25 м. Строительным материалом для гнездовой платформы служили ветви древесной растительности (тополь, ива), корневища и толстые стебли тростника. Помимо этого, в гнездах присутствовали маховые перья чаек, полиэтиленовые пакеты, куски веревок рыболовецких сетей. На момент обследования (июнь 2012 г.) большинство гнезд уже пустовало, а птенцы (как летные, так и нелетные) находились вне их, сидя на элементах опор. Поэтому общую численность птиц подсчитать не удалось. В единичных гнездах учтено по три птенца, в остальных – один–два.

Следует отметить, что совместно с большими бакланами опоры ЛЭП для гнездования использовали и чайки-хохотуньи, птенцы которой также находятся в пределах бетонного фундамента. Ни одной чайки в гнездах не обнаружено, а численность нелетных молодых особей в пределах первой опоры ВЛ 330 кВ не превышала 70 птиц.

Рис. 8. Особенности расположения гнезд большого баклана на опорах ЛЭП 330 кВ в 2012 г.

По сообщению инспекторов госрыбохраны, большой баклан отмечается здесь на гнездовании ежегодно, как минимум в течение 10 последних лет. В 1990 г. специальной технической комиссией проведено комплексное натурное обследование элементов переходов ВЛ 330 и ВЛ 750 кВ через Каховское водохранилище, основной задачей которого было выяснение степени коррозии элементов опор и проводов, состояние бетонных фундаментов и стабильность других технических характеристик. Среди факторов, вызывающих коррозию металла, в отчете указываются механические, химические и погодно-климатические. Ни о воздействии на металл экскрементов большого баклана, ни о самих птицах в нем не указано вовсе (Gorlov et al., in press). Возможно, в те годы колоний баклана на опорах еще не было.

В настоящее время регламентными работами по обслуживанию линий предписывается очищать металлические конструкции от гнезд птиц; по этой причине все обнаруженные гнезда были свежевыстроенными и имели небольшие размеры.

Кормовым полем для бакланов являются, в первую очередь, плавневые участки левого берега водохранилища, а во вторую – акватория пруда-охладителя Запорожской АЭС. Не замерзающий в холодное время водоем играет важную роль в технологическом процессе производства электроэнергии. Для поддержания чистоты воды и сдерживания роста водной растительности ежегодно (весной и осенью) в водоем выпускают 6 тонн малька (около 100 тыс. ос.) толстолобика белого (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844) и пестрого (*Aristichthys nobilis* Richardson, 1845), карпа (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) и белого амура (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844), выполняющих роль гидромелиораторов (Gorlov et al., in press). При каждом обследовании пруда-охладителя на нем присутствовали бакланы, с максимальной численностью в 1 200 птиц (март 2011 г.).

Подобная картина, правда, в намного меньшем масштабе, наблюдалась в Венгрии (Szinai, 2014). Небольшое количество гнезд из колонии в Варпалоте (медье Веспрем) располагалось на заброшенных опорах ЛЭП. Там птицы обустраивали гнезда на верхушках столбов, используя для гнездования преимущественно горизонтальные элементы опор. Имеются также данные о гнездовании баклана на опорах ЛЭП в Болгарии и Сербии (Nikolov et al., 2014; Šćiban et al., 2014).

Док в Ягорлыцком заливе. Объект представляет собой установленный в Ягорлыцком заливе в июле 1988 г. док, стоящий на грунте. Служил мишенью для учебного бомбометания летчикам Черноморского флота и являлся частью полигона «Свободный порт», закрытого в 1992 г. Расположен в акватории залива на расстоянии 4,3 км от берега и 4,8 км от о-ва Долгий. Длина стенок – 91 м, ширина – 5 м, возвышение над водой – около 15 м.

Первые гнезда баклана на территории Черноморского биосферного заповедника появились в 1989 г. на о-ве Большой Конский, еще через пару лет – на о-вах Долгий и Круглый. В 2000-х гг. в водно-болотных угодьях заповедника к островному типу гнездовых поселений добавился техногенный – большой баклан начал гнездиться в Ягорлыцком заливе на доке (Rudenko et al., 2008). Вероятной причиной начала гнездования на объекте стало значительное сокращение числа бакланов на Конских островах в 2003–2008 гг., связанное с заходом туда волков. Покинув Конские о-ва, гнездовая группировка баклана заняла острова Тендровского, Джарылгачского и Ягорлыцкого заливов, а также упомянутый выше док-мишень.

К сожалению, точных данных о количестве гнезд на доке-мишени нет, поскольку литературные сведения довольно противоречивые. Общая численность баклана на о-вах Круглый, Долгий и на доке (начиная с середины 2000-х гг.) была следующей: 2005 г. – 1500 гнезд, 2006 – 550, 2007 – 1 733, 2008 – 1 500 гнезд (Rudenko et al., 2008). В дальнейшем (2009–2011 гг.) на островах и доке баклан не гнездился, в 2012 г. на всех трех участках учтено 280 гнезд, а уже на следующий год – снова не было учтено гнезд. По имеющимся в Интернете фотографиям дока, сделанным в 2014 г., можно дать лишь приблизительную оценку численности гнезд баклана (около 160–200).

Острова-платформы на Кинбурнском полуострове. Первая попытка гнездования баклана на Кинбурнском п-ове отмечена в 1980 г., когда на участке Черноморского биосферного заповедника «Волыжин лес», на ольхе в колонии серой цапли (*Ardea cinerea* Linnaeus, 1758) гнездилось 11 пар баклана, однако отсутствовавшего в последующие годы (Ardamackaja, 1980). В дальнейшем баклан постепенно расселился по островам Ягорлыцкого залива. Непосредственно на полуострове баклан снова гнездился с 2006 г., когда он стал занимать искусственные острова-платформы, построенные в 1999–2000 гг. для гнездования гаг и других околоводных птиц на оз. Чернино (окр. с. Покровка, Очаковский р-н, Николаевская обл.). Объекты представляли собой затопленные тракторные прицепы с бревнами, на которые сверху были прикреплены маты из тростника.

Наши исследования в период 04.08–15.09.2002 и 18.08–27.09.2003 проведены в негнездовое время. Они показали отсутствие гнездовых построек на платформах. Осенние скопления бакланов здесь насчитывали в этот период около 12 000 особей. По всей видимости, первые попытки гнездования баклана на затопленных платформах относятся к периоду 2004–2005 гг. В 2006–2008 гг. гнезда бакланов разорялись (Petrovych and Redinov, 2008). В последующие годы платформы сильно повреждались льдом и не восстанавливались, однако бакланы продолжали гнездиться на останках платформ, разрушенных зимой льдом. На площади 60 м^2 размещалось 108 гнезд высотой 10–65 см. Строительный материал птицы собирали в местах гнездования, используя для этого старые гнезда, или приносили с суши, участков Покровской косы (в районе заброшенного устрично-мидийного комбината) и о-ва Круглый (Petrovych and Redinov, 2008). В 2013 г. платформы разрушились окончательно, и бакланы гнездились рядом, в небольшой колонии на косе. Впоследствии эта колония была разорена волками (Петрович, письм. сообщ.).

Исследования американских орнитологов на платформах – искусственных гнездовьях для ушастых бакланов показали, что хотя птицы и охотно занимают такие гнездовые территории, полного перехода с древесного на техногенный тип гнездования на опытных участках не происходило (Suzuki et al., 2015).

Остров на оз. Сасык (Кундук). Представляет собой искусственный гранитный остров в окр. с. Траповка Татарбунарского р-на Одесской обл., площадью 1320 м^2, насыпанный при преобразовании оз. Сасык в водохранилище. На острове располагается смешанная колония большого баклана и чайки-хохотуньи. Гнездование известно с 2005 г. Изначально бакланы гнездились на единственном дереве, но после того как оно было срезано ледоходом перешли на наземное гнездование.

Численность баклана в 2005–2013 гг. составляла 5–85 пар, влияния хищников или человеческой деятельности в колонии обнаружено не было.

Наши исследования, проведенные в 2010–2012 гг. (13–30.03.2010; 26–29.04.2010; 10–14.05.2011; 19–22.03.2012; 2–17.04.2012), показывают, что численность гнездящихся бакланов была в пределах 50–70 пар, птиц, не участвовавших в размножении, – 145–230 особей.

Судоходные знаки на Кременчугском водохранилище. Большой баклан на Кременчугском водохранилище впервые появился на гнездовании в 1998 г. (Gavryljuk et al., 2009), когда его колония возникла на прудах около с. Худяки (Черкасский р-н). Она просуществовала недолго: уже зимой 2001–2002 гг. деревья вместе с гнездами были спилены работниками прудов. Во время обследования прудов в мае 2004 г. около 10 пар все еще продолжало гнездиться на одном дереве.

Большая же часть бакланов переселилась на небольшие каменные островки, сооруженные для судоходных навигационных знаков. Таких островков на участке от г. Черкассы до с. Топиловка (Чигиринский р-н) пять. В 2009 г. подтверждено гнездование – на одном из них отмечены нелетающие птенцы (Gavryljuk et al., 2009). Численность бакланов не превышала 20–30 гнезд на каждом из островков. В этих местах гнездования бакланы подвергались целенаправленному преследованию со стороны рыбаков, которые уничтожали их кладки (Gavryljuk et al., 2009). В дальнейшем гнездование на таких островках стало нерегулярным.

Гидросооружения на Киевском водохранилище. Поселение большого баклана на Киевском водохранилище появилось в 2003 г. и насчитывало несколько десятков гнезд (устн. сообщ. А. Сагайдака). В дальнейшем, колония увеличила свою численность и в разные годы составляла из 60–120 гнезд, хотя, по другим данным (Bondarchuk et al., 2008), она насчитывала несколько сотен гнездящихся пар.

Изначально поселение располагалось только на небольшом острове посреди Киевского водохранилища, именуемом Бакланьим, в 3,1 км от левого берега, неподалеку от с. Косачевка. С 2011 г. бакланы начали гнездиться на гидросооружении в районе старого фарватера, в 500 м от острова (5 гнезд). По всей видимости, данные сооружения аналогичны островкам, сооруженным для судоходных знаков, как это было на Кременчугском водохранилище.

В дальнейшем численность баклана на объекте увеличилась и составила 21–28 гнезд. Как и в других поселениях, сопутствующим видом является чайка-хохотунья, которая гнездится на соседнем песчаном острове (Атамась, Костюшин, письм. сообщ.). Вероятно, здесь также присутствует хищничество со стороны чайки-хохотуньи, как это было на идентичных по функциональному назначению островах на оз. Онтарио (Somers et al., 2007), где серебристая чайка (*Larus argentatus* Pontoppidan, 1763) также конкурировала с ушастым бакланом. Несмотря на упоминаемые в литературе случаи гнездования бакланов на искусственных сооружениях, специальных исследований именно этого типа поселений практически нет. Зачастую авторы ограничиваются

констатацией таких фактов и краткой характеристикой сооружений. Многолетняя динамика численности, степень антропогенного влияния или другие аспекты гнездования не приводятся.

Наиболее полным исследованием является отчет 1978 г., подготовленный для Корпуса инженеров армии США, о гнездовании колониальных птиц на искусственных и естественных участках на Великих озерах в США (Scharf, 1978). В отчете характеризуется целый комплекс водно-болотных птиц, включая ушастого баклана. В работе описаны местоположение колоний птиц и их численность, места гнездования, растительность около них и почвенные покровы. Рукотворные гнездовые сооружения на Великих озерах представлены волноломами, плотинами, сваями, доками. Случаи гнездования бакланов единичны, а динамика численности видов прослеживается только в течение двух лет.

В литературе имеются сведения об использовании в качестве присад морских платформ для добычи газа и нефти, вследствие концентрации вокруг них косяков рыб (Baird, 1990; Wiese et al., 2001). Кроме того, такие платформы привлекают птиц горящими факелами газа (Ellis et al., 2013). О гнездовании бакланов на них авторы не упоминают.

Выводы

Стратегия гнездования большого баклана на техногенных сооружениях является довольно интересной из-за слабой изученности и разнообразия самих видов сооружений, выбираемых птицами для строительства гнезд. Данный тип гнездования является не слишком распространенным: в целом, из 108 известных нам колоний, учтенных на территории Украины, начиная 1950-х гг., только восемь (7,4%) можно отнести к этому типу. Численность гнезд в колониях сильно варьирует (5–30 на островках для судоходных знаков и до 2 000–2 300 на «островах-кораблях» и газовых вышках). Это связано, в первую очередь, с площадью гнездовой территории. В большинстве из восьми колоний сопутствующим видом является чайка-хохотунья, которая разоряет гнезда, поедая яйца и птенцов баклана. Только на газовых вышках, островах на Кременчугском водохранилище, и, вероятно, островах-платформах (Кинбурнский п-ов), колонии баклана были моновидовыми. Помимо этого, из-за рукотворности гнездовых территорий, на пяти из них отмечался очень сильный антропогенный пресс. На опорах ЛЭП и газовых вышках уничтожение гнезд баклана предписано регламентными эксплуатационными работами, на других территориях фактор беспокойства исходил от рыбаков.

Библиографические ссылки

Adkins, J.Y., Lyons, D.E., Loschl, P.J., Roby, D.D., Collis, K., Evans, A.F., Hostetter, N.J., 2014. Demographics of piscivorous colonial waterbirds and management implications for ESA-listed salmonids on the Columbia Plateau. Northwest. Sci. 88(4), 344–359.

Ardamackaja, T.B., 1980. Letopis' prirody. Kolonija golenastyh na uchastke Volyzhin Les [Annals of nature. The colony of Ciconiiformes in the area Volyzhin Forest]. Letopis' ChBZ (in Russian).

Azhermachev, G.A., 2005. O vozdejstvii l'da na opory morskih platform pri ego podvizhke [About the impact of ice during its shifts on offshore platforms' supports]. Stroitel'stvo i Tehnogennaja Bezopasnost' 12, 6–9 (in Russian).

Baker, P.J., Thomas, R.L., Newson, S.E., Thompson, V., Paling, N.R.D., 2010. Habitat associations and breeding bird community composition within the city of Bristol, UK. Bird Study 57(2), 183–196.

Baird, P.H., 1990. Concentrations of seabirds at oil-drilling rigs. Condor 92, 768–771.

Bartlett, P.A., Roux, J., Jones, R., Kemper, J., 2003. A new mainland breeding locality for African penguins, bank and crowned cormorants on the Namib Desert coast. Ostrich 74, 222–225.

Bianki, V., Boyko, N.S., Kharitonova, I., 2014. Status of the breeding population of Great Cormorants in Kandalaksha Bay (White Sea) in Russia in 2012 and 2013. – In: Bregnballe, T., Lynch, J., Parz-Gollner, R., Marion, L., Volponi, S., Paquet, J.-Y., Carss, D.N., van Eerden, M.R. (eds.): Breeding numbers of Great Cormorants *Phalacrocorax carbo* in the Western Palearctic, 2012–2013. – IUCN-Wetlands International Cormorant Research Group Report. Scientific report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy, Aarhus University 99, 178–181.

Bondarchuk, J.M., Pshenichnyj, S.V., Kaminskaja, S.V., Panchuk, A.S., Davydenko, I.V., Serebrjakov, V.V., 2008. Sovremennyj status baklana bol'shogo (*Phalacrocorax carbo*) na vnutrennih vodoemah Ukrajiny [The current status of a great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in the inland waters of Ukraine]. Branta 11, 16–22 (in Russian).

Chatwin, T.A., Mather, M.H., Giesbrecht, T.D., 2002. Changes in pelagic and double-crested cormorant nesting populations in the Strait of Georgia, British Columbia. Northwest. Nat. (Olymp. Wash.) 83, 109–117.

Collas, M., Burgun, V., 2011. Development of great cormorant population (*Phalacrocorax carbo sinensis*) in North-East France – synthesis of long term monitoring (1997–2008). Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst. 403, 5.

Kotzerka, J., Hatch, S.A., Garthe, S., 2011. Evidence for foraging-site fidelity and individual foraging behavior of pelagic cormorants rearing chicks in the Gulf of Alaska. Condor 113(1), 80–88.

Crawford, R.J.M., Makhado, A.B., Whittington, P.A., Randall, R.M., Oosthuizen, W.H., Waller, L.J., 2015. A changing distribution of seabirds in South Africa – the possible impact of climate and its consequences. Front. Ecol. Evol. 3, 10.

Crawford, R.J.M., Randall, R.M., Whittington, P.A., Waller, L.J., Dyer, B.M., Allan, D.G., 2013. South Africa's coastal-breeding white-breasted cormorants: Population trends, breeding season and movements, and diet. Afr. J. Mar. Sci. 35(4), 473–490.

Cuthbert, F.J., Wires, L.R., McKearnan, J.E., 2002. Potential impacts of nesting Double-Crested Cormorants on Great Blue Herons and Black-Crowned Night-Herons in the U.S. Great Lakes Region. J. Great Lakes Res. 28(2), 145–154.

Ellis, J.I., Wilhelm, S.I., Hedd, A., Fraser, G.S., Robertson, G.J., Rail, J.-F., Fowler, M., Morgan, K.H., 2013. Mortality of migratory birds from marine commercial fisheries and offshore oil and gas production in Canada. Avian Conserv. Ecol. 8(2), 4.

Gavryljuk, M.N., Borysenko, M.M., Iljuha, O.V., 2009. Baklan velykyj u rajoni Kremenchuc'kogo vodoshovyshha [Great cormorant near Kremenchuk reservoir]. Zoological science in modern society: Materials of All-Ukrainian scientific conference. Kyiv, 89–92 (in Ukrainian).

Gorlov, P.I., Siokhin, V.D., Belashkov, I.D., 2016. Kahovskoe vodohranilishhe v rajone Jenergodara. Bol'shoj baklan

(*Phalacrocorax carbo*) v Ukraine: Chislennost', territorial'noe raspredelenie i ih izmenenija [Kakhovka reservoir in the area of Enerhodar. – In: Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in Ukraine: The number, spatial distribution and their changes]. Vestnik Zoologii, in press (in Russian).

Jepsen, N., Olesen, T., 2013. Cormorants in Denmark. Reenforced management and scientific evidence. Human – Wildlife Conflicts in Europe: Fisheries and fish-eating vertebrates as a model case (Environmental Science and Engineering). Springler-Verlag, Berlin, Heidelberg, P. 165–183.

Hobson, K.A., Wilson, D., 1985. Colony establishment by pelagic cormorants on man-made structures in Southwest Coastal British Columbia. The Murrelet 66(3), 84–86.

Kieckbusch, J., 2014. Status of the breeding population of Great Cormorants in Germany in 2012. – In: Bregnballe, T., Lynch, J., Parz-Gollner, R., Marion, L., Volponi, S., Paquet, J.-Y., Carss, D.N., van Eerden, M.R. (eds.): Breeding numbers of Great Cormorants *Phalacrocorax carbo* in the Western Palearctic, 2012–2013. – IUCN-Wetlands International Cormorant Research Group Report. Scientific report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy, Aarhus University 99, 113–116.

Klimaszyk, P., Rzymski, P., 2016. The complexity of ecological impacts induced by great cormorants. Hydrobiologia 771(1), 13–30.

Mainwaring, M.C., 2015. The use of man-made structures as nesting sites by birds: A review of the costs and benefits. J. Nat. Conserv. 25, 17–22.

Millers, K., 2014. Status of the breeding population of Great Cormorants in Latvia in 2012. – In: Bregnballe, T., Lynch, J., Parz-Gollner, R., Marion, L., Volponi, S., Paquet, J.-Y., Carss, D.N., van Eerden, M.R. (eds.): Breeding numbers of Great Cormorants *Phalacrocorax carbo* in the Western Palearctic, 2012–2013. – IUCN-Wetlands International Cormorant Research Group Report. Scientific report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy, Aarhus University 99, 136–139.

Nikolov, I., Shurulinkov, P., Borisov, B., 2014. Status of the breeding population of Great Cormorants in Bulgaria in 2012. – In: Bregnballe, T., Lynch, J., Parz-Gollner, R., Marion, L., Volponi, S., Paquet, J.-Y., Carss, D.N., van Eerden, M.R. (eds.): Breeding numbers of Great Cormorants Phalacrocorax carbo in the Western Palearctic, 2012–2013. – IUCN-Wetlands International Cormorant Research Group Report. Scientific report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy, Aarhus University 99, 78–81.

Petrovych, Z.O., Redinov, K.O., 2008. Baklan velykyj v RLP «Kinburns'ka kosa» ta na pryleglyh terytoriyah [Great cormorant in Regional Landscape Park «Kinburn Spit» and adjacent territory]. Branta 11, 240–245 (in Ukrainian).

Rudenko, A.G., Ardamackaja, T.B., Jaremchenko, O.A., 2008. Mnogoletnij monitoring poselenij bol'shogo baklana (*Phalacrocorax carbo*) na morskih zalivah severnogo Prichernomor'ja [Long-term monitoring of cormorants' (*Phalacrocorax carbo*) settlements in the bays of the northern Black Sea region]. Branta 11, 43–59 (in Russian).

Santoul, F., Segura, G., Mastrorillo, S., 2004. Environmental determinants of Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) distribution in small man-made waterbodies – a case study of gravel pits in southwest France. Hydrobiologia 528(1), 179–186.

Šćiban, M., Đorđević, I., Stanković, D., Ham, I., Dučić, N., Rudić, B., Grujić, D., Sekereš, O., Manasijević, Z., Rajković, D., Grubač, B., Balog, I., 2014. Status of the breeding population of Great Cormorants in Serbia in 2012. – In: Bregnballe, T., Lynch, J., Parz-Gollner, R., Marion, L., Volponi, S., Paquet, J.-Y., Carss, D.N., van Eerden, M.R. (eds.): Breeding numbers of Great Cormorants *Phalacrocorax carbo* in the Western Palearctic, 2012–2013. – IUCNWetlands International Cormorant Research Group Report. Scientific report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy, Aarhus University 99, 194–197.

Scharf, W.C., 1978. Colonial birds nesting on man-made and natural sites in the U. S. Great Lakes. Technical report D-78-10, by Environmental Lab., U.S. Army Engineer Waterways Exp. St., CE, Wicksburg, Miss., 1–136.

Sherley, R.B., Ludynia, K., Underhill, L.G., Jones, R., Kemper, J., 2012. Storms and heat limit the nest success of Bank Cormorants: Implications of future climate change for a surface-nesting seabird in southern Africa. J. Ornithol. 153(2), 441–455.

Sincov, V.P., Mitrofanov, V.A., Dolgova, E.V., 2009. Sovershenstvovanie opornyh blokov morskih stal'nyh platform dlja dobychi uglevodorodov na Azovo-Chernomorskom shel'fe [Improvement of support blocks of the offshore steel platforms for the production of hydrocarbons on the shelf of the Azov-Black Sea]. Visnyk Donbas'koyi Nacional'noyi Akademiyi Budivnycztva i Arhitektury 78, 172–177 (in Russian).

Somers, C.M., Lozer, M.N., Quinn, J.S., 2007. Interactions between Double-Crested Cormorants and Herring Gulls at a shared breeding site. Waterbirds 30(2), 241–250.

Stapanian, M.A., 2002. Interspecific interactions, habitat use, and management of Double-Crested Cormorants (*Phalacrocorax auritus*) in the Laurentian Great Lakes: An introduction. J. Great Lakes Res. 28(2), 119–124.

Suzuki, Y., Roby, D.D., Lyons, D.E., Courtot, K.N., Collis, K., 2015. Developing nondestructive techniques for managing conflicts between fisheries and Double-Crested Cormorant colonies. Wildlife Soc. B. 39(4), 764–772.

Szinai, P., 2014. Status of the breeding population of Great Cormorants in Hungary in 2013. – In: Bregnballe, T., Lynch, J., Parz-Gollner, R., Marion, L., Volponi, S., Paquet, J.-Y., Carss, D.N., van Eerden, M.R. (eds.): Breeding numbers of Great Cormorants *Phalacrocorax carbo* in the Western Palearctic, 2012–2013. – IUCN-Wetlands International Cormorant Research Group Report. Scientific report from DCE – Danish Centre for Environment and Energy, Aarhus University 99, 121–125.

Volponi, S., 1999. Reproduction of a newly-established population of the Great Cormorant in Northeastern Italy. Waterbirds 22(2), 263–273.

Wiese, F.K., Montevecchi, W.A., Davoren, G.K., Huettmann, F., Diamond, A.W., Linke, J., 2001. Seabirds at risk around offshore oil platforms in the north-west Atlantic. Mar. Pollut. Bull. 42(12), 1285–1290.

Надійшла до редколегії 28.07.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 317–323.

doi:10.15421/011641

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 581.192:582.287.37

Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів штамів грибів порядків Agaricales і Polyporales

О.В. Федотов

Донецький національний університет, Вінниця, Україна

Досліджено динаміку росту та рівня самочинної та індукованої інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) штамів базидіоміцетів за поверхневого періодичного культивування на глюкозо-пептонному середовищі. Матеріал дослідження – міцелій і культуральний фільтрат (КФ) 57 штамів, 5 із яких належать до 5 видів порядку Polyporales s.l., а 52 – до 7 видів порядку Agaricales s.l. Із метою вивчення динаміки росту застосовано ваговий метод визначення накопичення абсолютно сухої біомаси. Інтенсивність процесів ліпідної пероксидації визначали модифікованим спектрофотометричним методом за вмістом продуктів, активних до тіобарбітурової кислоти. Найпродуктивніші за показником накопичення абсолютно сухої біомаси – штами *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. F-610 та *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél. P-er. Найнижчі значення накопичення біомаси зафіксовані для штамів *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. P-14 і P-192 та штаму *P. citrinopileatus* Singer. P-citr. Рівень самочинної та індукованої інтенсивності процесів ПОЛ у міцелії всіх штамів вищий за цей показник у культуральному фільтраті, наростає з часом культивування. Залежності між вмістом продуктів ПОЛ у міцелії та КФ не встановлено. Виявлено групи культур базидіоміцетів, які різняться рівнем умісту ТБК-АП. Самочинна та індукована інтенсивність процесів ПОЛ у міцелії всіх досліджених штамів вища за цей показник культурального фільтрату. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів як у міцелії, так і в культуральному фільтраті наростає з часом культивування, що можна пояснити зростаючою нестачею певних живильних речовин (перш за все вуглецевмісних) та збільшенням кількості та концентрації продуктів метаболізму в середовищі. Співвідношення значень індукованої та самочинної інтенсивності процесів ПОЛ індивідуальне для кожного штаму, не залежить від його систематичного положення. Зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги відносно стаціонарного (самочинного) рівня – ознака розвитку стрес-реакції. При цьому продукти ПОЛ можуть бути як індукторами, так і первинними медіаторами стресу як особливого стану біологічної системи. Відібрані штами з високими показниками росту та рівня процесів ПОЛ – перспективні для застосування в біотехнології та екології.

Ключові слова: базидіоміцети; поверхневе культивування; глюкозо-пептонне середовище

The lipid peroxidation intensity of fungi strains from the orders Agaricales and Polyporales

O.V. Fedotov

Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine

The work is devoted to investigation of the dynamics of growth and level of spontaneous and induced lipid peroxidation intensity of Basidiomycetes strains grown by surface cultivation on a glucose-peptone medium. The materials of the research are mycelium and culture filtrates (CF) of 57 strains (5 belong to 5 species from the order Polyporales s.l., and 52 belong to 7 species of the order Agaricales s.l.). To study the dynamics of growth we used a weighing method for determining the accumulation of absolutely dry biomass. Intensity of lipid peroxidation was determined by a modified spectrophotometric method for content of active to thiobarbituric acid products. It was found that the most productive in absolutely dry biomass accumulation were the strains *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. F-610 and *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél. P-er. The level of spontaneous and induced LPO intensity in mycelia of all strains was higher than this figure in the culture filtrate and increased with the duration of cultivation. Dependencies between the content of lipid peroxidation products in the mycelia and CF were not established. The lowest values were recorded for biomass accumulation by the strains *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. P-14, P-192 and *P. citrinopileatus* Singer. P-citr. Groups of basidiomycete cultures with different levels of TBA-AP were identi-

Донецький національний університет, вул. 600-річчя, 21, Вінниця, 21021, Україна
Donetsk National University, 600th Anniversary Str., 21, Vinnytsia, 21021, Ukraine
Tel.: +38-068-717-87-87. E-mail: o.fedotov@donnu.edu.ua

fied. Spontaneous and induced intensivity of lipid peroxidation in all studied strains of mycelia was higher than the figure in the culture filtrate. The intensity of lipid peroxidation in both mycelia and culture filtrate constantly increased, which can be explained by the growing shortage of certain nutrients (primarily carbon) and increased concentration of metabolic products in the medium. The ratio of spontaneous and induced lipid peroxidation intensity is specific to each strain and is independent of its systematic position. Shifting of prooxidant-antioxidant balance to a relatively stationary level is a mark of stress reaction. LPO-products can be both inductors and primary mediators of stress as a special class of biological systems. Selected strains with high rates of growth and LPO ntensity are promising for applications in biotechnology and ecology.

Keywords: basidiomycetes; surface cultivation; glucose-peptone medium

Вступ

Один із ключових факторів життєдіяльності клітин аеробних організмів – взаємодія активних форм кисню (АФК) й антиоксидантів (Belozerskaya et al., 2007; Zhil'cova et al., 2011). АФК утворюються в системах транспорту та утилізації оксигену, є ланкою багатьох метаболічних процесів і виконують найважливіші регуляторні функції (Vladimirov, 1972; Baraboy et al., 1991; Halliwell, 2006). Приміром, АФК ініціюють реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – складову частину кисневого режиму, де основний субстрат – поліненасичені жирні кислоти. Внаслідок надмірного утворення АФК, що мають високу реакційну здатність, або недостатності клітинних механізмів антиоксидантного захисту виникає дисбаланс прооксидантно-антиоксидантної системи. У результаті цього розвивається окиснювальний стрес, що спричинює значні порушення нормального метаболізму та активізацію низки патогенних процесів (Halliwell, 2006). Зокрема, має місце окисна модифікація клітинних мембран і накопичення токсичних та хімічно активних продуктів окисної модифікації біомолекул (малоновий діальдегід (МДА) тощо). Це викликає численні біосинтетичні та структурні порушення та, як кумулятивний результат, – руйнування клітини (Stalnaya, 1977; Fedotov, 2006; Belozerskaya et al., 2007). Окиснювальний стрес – загальна реакція на дію багатьох факторів: зміну pH, температури та осмотичного тиску; концентрацію компонентів субстрату; висушування та механічні пошкодження; наявність (інтенсивність) світла та іонізуючої радіації тощо (Stalnaya et al., 1977; Vladimirov, 1972).

До руйнування лігноцелюлозного комплексу деревини залучені складні ферментні комплекси прооксидантно-антиоксидантної системи ксилотрофів. Вони генерують позаклітинні хімічно нестабільні АФК, які викликають спонтанні вільнорадикальні ланцюгові реакції руйнування складних та хімічно стійких біополімерів, їх подальший метаболізм (Winquist, 2008; Kapich, 2011). Ці реакції не мають субстратної специфічності, тому перспективне залучення ксилотрофних базидіоміцетів до процесів біоремедіації забруднених середовищ і розкладання відходів низки галузей промисловості та сільського господарства (Chang, 2001; Fedotov, 2007; Winquist, 2008).

Інтенсивність процесів ПОЛ як частини прооксидантно-антиоксидантної системи має закономірні характеристики. Вона відображає загальну стійкість організму та визначає межі його витривалості до зовнішніх впливів. Адаптивна активація процесів ПОЛ може слугувати маркером окиснювального процесу та спричинювати порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у клітині (Baraboy, 1991; Droge, 2002). Є експериментальні дані щодо використання показників інтенсивності ПОЛ у діагностиці певних процесів у біотехнології та екології (Droge, 2002; Fedotov, 2006). Виходячи з вищезазначеного, мета цієї статті – встановити та порівняти динаміку росту та інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів штамів базидіоміцетів за їх поверхневого періодичного культивування на глюкозо-пептонному середовищі.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкти досліджень – 57 штамів із колекції культур шапинкових грибів кафедри фізіології та біохімії рослин Донецького національного університету (Fedotov et al., 2012), що належать до 12 видів відділу Basidiomycota:

– порядку Polyporales s.l.: штами *Daedalea quercina* Fr. Dq-08, *Fomes fomentarius* (L. ex Fr.) Gill. T-10, *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. Gl-2, *Irpex lacteus* Fr. Il-4k, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Ls-08;

– порядку Agaricales s.l.: штами *Agrocybe cylindracea* (DC.) Gillet. 167, 218, 960, *Fistulina hepatica* Schff. ex Fr. Fh-08, *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing. F-03, F-06, F-073, F-1, F-10, F-102, F-104, F-107, F-112, F-2, F-202, F-204, F-vv, F-610, *Pleurotus citrinopileatus* Singer. P-citr., *P. eryngii* (DC.: Fr.) Quél. P-er, *P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. D-140, Hk-35, P-004, P-01, P-035, P-039, P-081, P-082, P-083, P-087, P-088, P-089, P-105, P-107, P-12к, P-191, P-192, P-203, P-206, P-208, P-209, P-210, P-6v, P-кл, P-14, P-4к, P-91, P-94, P-998, P-447, P-2175, *Schizophyllum commune* Fr.: Fr. Sc-10. Систематичне положення досліджуваних видів установлене згідно із сучасними літературними джерелами (Kirk, 2008).

Із метою вивчення динаміки росту та інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів, дослідні штами культивували поверхнево в колбах Ерленмеєра, ємністю 250 мл на глюкозо-пептонному живильному середовищі (ГПС, pH – 6,5 ± 0,2), об'ємом 50 мл такого складу (г/л): глюкоза – 10,0, пептон – 3,0, KH_2PO_4 – 0,6, K_2HPO_4 – 0,4, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5, $CaCl_2$ – 0,05, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,001. Інокулюмом (0,5 ± 0,01 г/л) слугували 10-денні міцеліальні культури штамів на сусло-агарі. Термін культивування за 27,5 °C складав 12 діб. Параметри ферментації зумовлені технологічною та економічною недоцільністю довгострокового культивування та тривалістю фази експоненціального росту продуцентів (Fedotov, 2007; Pirog, 2009).

Матеріал досліджень – гомогенізований міцелій (МГ) і культуральний фільтрат (КФ), який готували таким чином. Міцелій за 5 ± 1 °C відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрування. Отриманий міцелій промивали дистильованою водою, підсушували на фільтрувальному папері, гомогенізували шляхом розтирання в охолодженій до 1 ± 0,5 °C ступці. МГ використовували для приготування водної витяжки та визначення рівня самочинної та індукованої інтенсивності процесів ПОЛ.

Залишок міцелію зважували у відкаліброваних бюксах і висушували за +105 °С до постійної маси для розрахунку вологості та абсолютно сухої біомаси (АСБ) (Dudka et al., 2003; Chayka et al., 2014).

Для встановлення рівня самочинної інтенсивності процесів ПОЛ до 1,5 мл водної витяжки міцелію або 0,5 мл КФ (контроль – дистильована вода) додавали розчини трихлороцтової кислоти (ТХО) та тіобарбітурової кислоти (ТБК) до кінцевих концентрацій в реакційній суміші 0,61 та 0,37 моль/л, відповідно. Суміш кип'ятили 15 хв на водяній бані та швидко охолоджували до +20 °С; центрифугували 15 хв за 1 700 g. Із метою визначення рівня індукованої інтенсивності процесів ПОЛ до вказаних об'ємів водної витяжки міцелію або КФ (контроль – дистильована вода) додавали $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчин сірчанокислого заліза та $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л аскорбінової кислоти. Інкубацію суміші за +40 °С проводили протягом 90 хв. Екстинкцію супернатанта дослідної проби вимірювали проти контрольної на спектрофотометрі за 532 та 590 нм. Розрахунок самочинної (A_c) та індукованої (A_i) інтенсивності ПОЛ міцелію або КФ здійснювали за формулою (Stalnaya et al., 1977; Chayka et al., 2014):

$$A_c(A_i) = \frac{(E_{532} - E_{590}) \cdot 10^6 \cdot V \cdot K}{1{,}56 \cdot 10^5 \cdot P},$$

де E_{532} і E_{590} – показники екстинкції; 10^6 – фактор розмірностей; V – об'єм реакційної суміші (мл); K – коефіцієнт перерахунку на АСБ міцелію; $1{,}56 \cdot 10^5$ – молярний коефіцієнт екстинкції; P – наважка сирого міцелію (г) або об'єм КФ (мл). Кількість продуктів ПОЛ, активних до ТБК (ТБК-АП), виражали в нмоль/г АСБ або нмоль/мл КФ.

Досліди проводили триразово. З метою визначення впливу терміну культивування та речовин-індукторів на активність процесів ПОЛ проведено однофакторний дисперсійний аналіз, порівняння дат здійснювали методом Дункана. Достовірною вважалася різниця за $P < 0{,}05$ (Prisedskiy, 1999).

Результати та їх обговорення

Результати накопичення біомаси (рис. 1) штамами базидіоміцетів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування підтверджують попередньо отримані дані та терміни фаз їх експоненціального росту (Fedotov, 2007; Voloshko et al., 2011; Fedotov et al., 2012). Усі досліджені штами досягають максимуму накопичення біомаси за значеннями АСБ на 12-ту добу культивування.

За показником АСБ у 12-добовому віці штами можна умовно розподілити на три групи.

Перша – 32 штами Dq-08, T-10, Gl-2, Il-4k, Ls-08; 167, Fh-08, F-06, F-10, F-104, F-107, F-112, F-2, F-vv, P-citr., Hk-35, P-01, P-039, P-081, P-082, P-083, P-087, P-088, P-089, P-105, P-192, P-209, P-210, P-14, P-91, P-94 та Sc-10 з повільним ростом, які у запропонованих умовах культивування накопичують АСБ до 4 г/л.

До другої групи належать 20 штамів: 218, 960, F-03, F-073, F-1, F-102, F-202, F-204, P-004, P-035, P-107, P-191, P-206, P-208, P-6v, P-кл, P-4к, P-998, P-447 та P-2175 (з АСБ від 4 до 8 г/л).

Третя група нараховує п'ять штамів: P-12к, P-203, D-140, P-er та F-610 (розташовані в порядку наростання АСБ від 8 до 17 г/л).

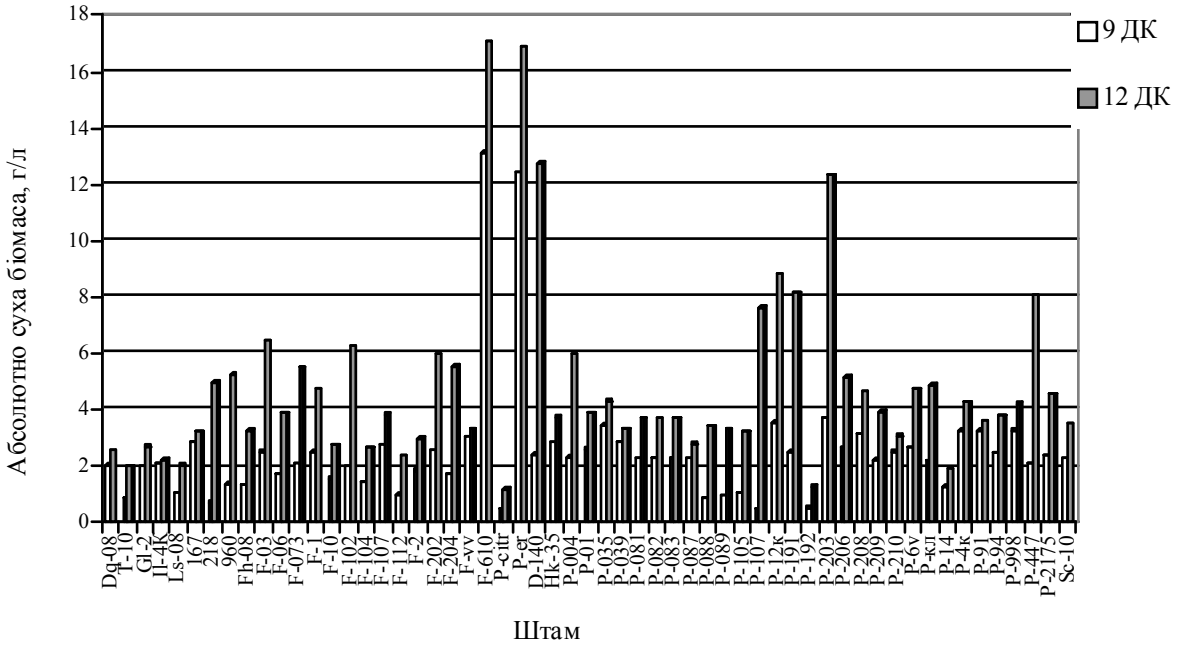


Рис. 1. Накопичення біомаси штамами базидіоміцетів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування (n = 3)

Найпродуктивніші відносно ростового показника штам *F. velutipes* F-610 та штами *P. ostreatus* D-140 і P-203. Найнижчі значення біомаси зафіксовані для штамів *P. ostreatus* P-14 і P-192 та штаму *P. citrinopileatus* P-citr. Досліджені штами мають індивідуальні значення росту – накопичення біомаси в застосованих умовах культивування. Виявлено значні коливання цього показника й у межах одного виду, що пояснюється індивідуальною мінливістю штамів. Швидкість накопичення АСБ для штамів *P. ostreatus* різнилась у 27,6 раза на 9-ту добу культивування та у 14,3 раза – на 12-ту, а для штамів *F. velutipes* – у 13,4 раза на 9-ту добу та 7,2 раза – на 12-ту

добу ферментації. Разом зі встановленням накопичення біомаси визначали самочинну інтенсивність процесів ПОЛ міцелію (рис. 2) та культурального фільтрату (рис. 3) штамів за динамікою росту.

Самочинна інтенсивність процесів ПОЛ міцелію всіх штамів значно вища за цей показник КФ. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів міцелію наростає з віком культури, що можна пояснити зростаючою нестачею певних живильних речовин (перш за все вуглецевмісних), збільшенням кількості та концентрації продуктів метаболізму в культуральній рідині.

За рівнем самочинної інтенсивності процесів ПОЛ 12-денного міцелію досліджувані штами також можна поділити на три умовні групи.

До першої групи з рівнем Ас до 40 нмоль ТБК-АП/г АСБ належать 9 штамів: 5 гриба *F. velutipes* (F-06, F-1, F-104, F-2, F-204) та 4 – *P. ostreatus* (P-004, P-087, P-088, P-192).

Найчисленніша група, зі значеннями Ас від 40 до 80 нмоль/г АСБ, включає 32 штами: Gl-2, Il-4k, Ls-08, 167, 218, F-03, F-073, F-10, F-102, F-107, F-112, F-vv, F-610, D-140, Hk-35, P-01, P-039, P-081, P-082, P-083, P-105, P-107, P-12к, P-203, P-206, P-208, P-209, P-210, P-6v, P-4к, P-91 та P-998.

До третьої умовної групи можна віднести 16 культур із високим вмістом ТБК-АП (понад 80 нмоль/г) штами: Dq-08, T-10, 960, Fh-08, F-202, P-citr., P-er, P-035, P-089, P-191, P-кл, P-14, P-94, P-447, P-2175 та Sc-10.

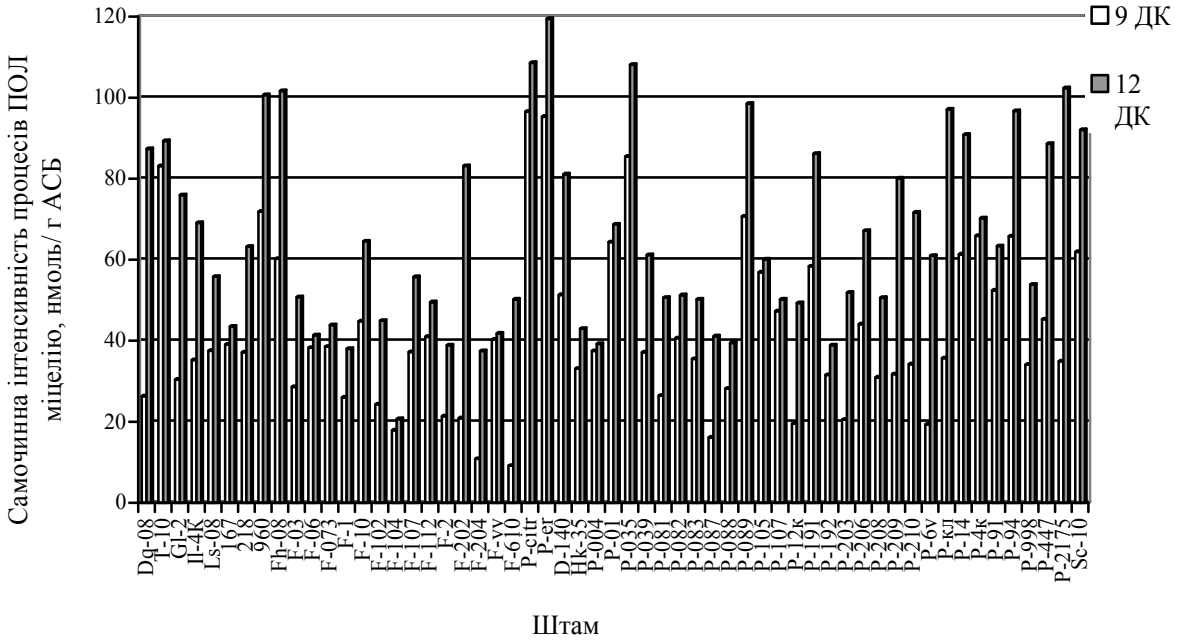


Рис. 2. Самочинна інтенсивність процесів ПОЛ міцелію штамів базидіоміцетів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування (n = 3)

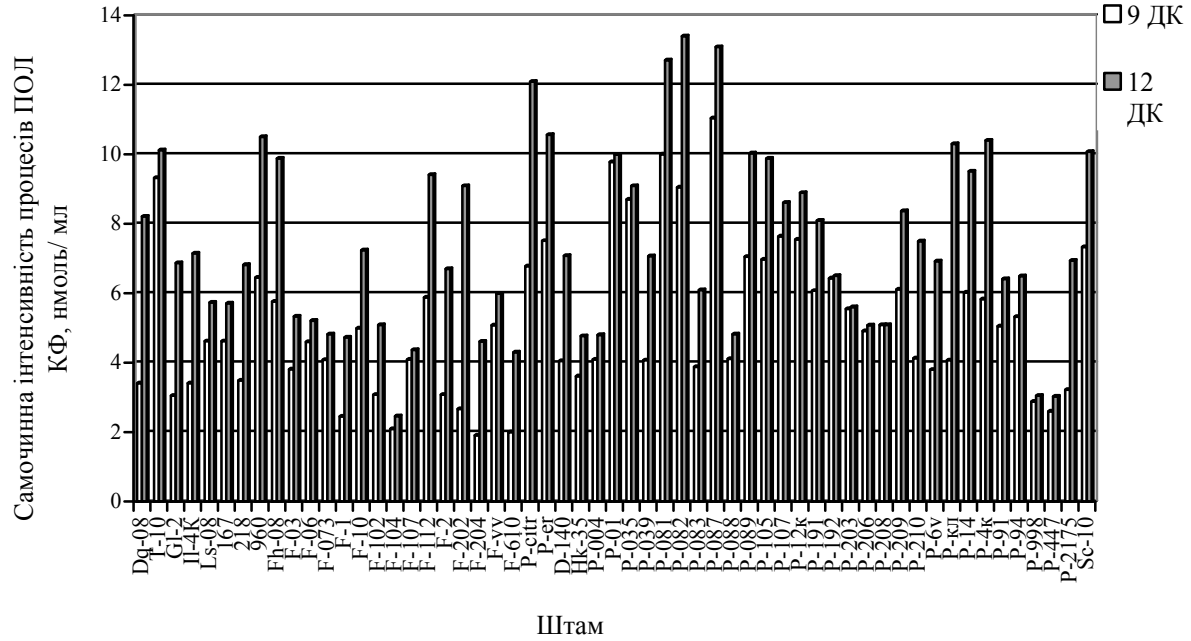


Рис. 3. Самочинна інтенсивність процесів ПОЛ КФ штамів базидіоміцетів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування (n = 3)

Як уже зазначалося, вміст продуктів ПОЛ у культуральному фільтраті досліджуваних штамів значно нижчий за такий у міцелії та має тенденцію до їх збільшення на 12-ту добу культивування. Цьому є декілька причин: по-перше, клітини активно регулюють синтез і потрапляння цих продуктів назовні, по-друге, позаклітинні ензими та хімічно нестабільні АФК викликають спонтанні вільнорадикальні ланцюгові реакції руйнування сполук і їх подальший метаболізм, по-третє, глюкозо-пептонне середовище не містить складних і хімічно стійких біополімерів, перетравлення яких інтенсифікувало б екзогенні процеси ПОЛ. Результати визначення вмісту продуктів ПОЛ в КФ дозволяють виділити культури, де рівень ТБК-АП значно відрізняється від середніх значень. Так, вісім штамів (960, P-citr, P-er, P-081, P-082, P-087, P-кл та P-4к) мають самочинну інтенсивність процесів ПОЛ КФ, яка перевищує позначку в 10 нмоль/мл, а три штами (P-447, P-998 та F-104) – яка не досягає рівня в 3 нмоль/мл.

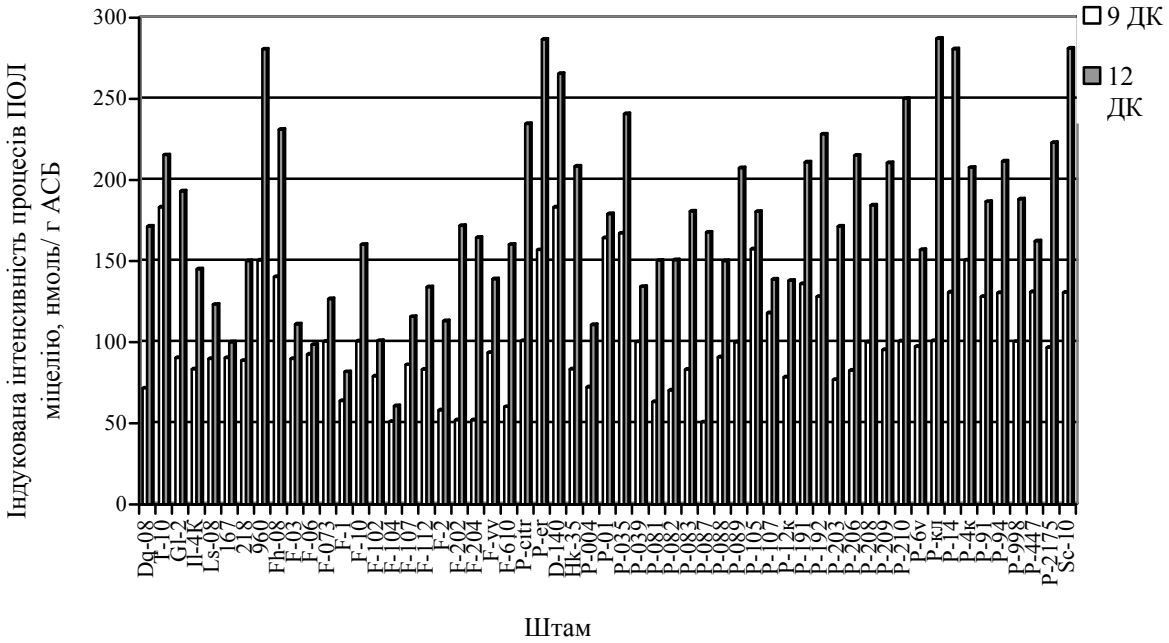


Рис. 4. Індукована інтенсивність процесів ПОЛ міцелію штамів базидіоміцетів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування (n = 3)

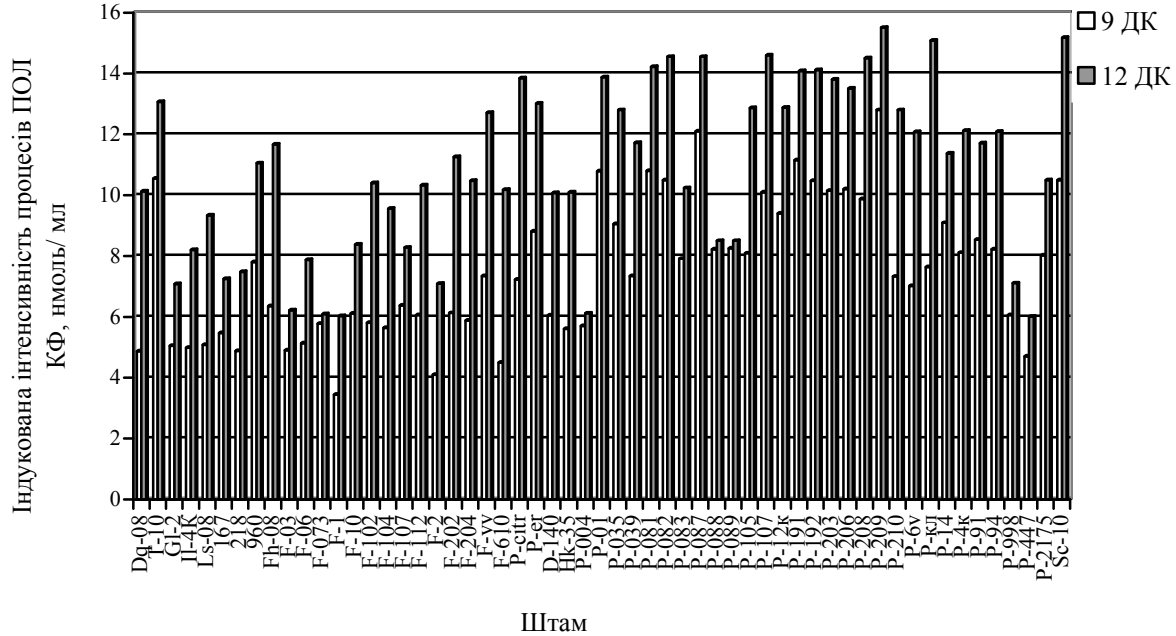


Рис. 5. Індукована інтенсивність процесів ПОЛ КФ штамів базидіоміцетів на 9-ту (9 ДК) та 12-ту (12 ДК) добу культивування (n = 3)

Індукція процесів ПОЛ дозволяє виявити ті або інші токсичні властивості речовин-індукторів чи продуктів ПОЛ, або з'ясувати стійкість (чи реакцію) проби до таких впливів (Fedotov, 2006; Pham-Huy et al., 2008). Результати індукованої інтенсивності процесів ПОЛ міцелію (рис. 4) та КФ (рис. 5) штамів базидіоміцетів виявили різну відповідь мікологічного матеріалу на застосовані дії. В усіх варіантах досліду A_i спостерігалась осібна для кожного штаму акти-

вація процесів ПОЛ. Як наслідок, співвідношення значень індукованої та самочинної інтенсивності процесів ПОЛ індивідуальне для кожного штаму, не залежить від його систематичного положення.

Узагальнюючи наявні літературні дані (Kapich, 2011; Wasser, 2011; Zhil'cova, 2011) та результати наших досліджень, треба зазначити, що існуючі нині уявлення про метаболічні процеси грибів в основному базуються на дослідженнях *in vitro*. Їх постановка у штучних умовах визначає певний природний метаболізм цих організмів. Як наслідок, накопичено значний експериментальний матеріал, який не завжди можна зіставити чи порівняти. Обґрунтоване використання показників прооксидантно-антиоксидантної системи, у тому числі інтенсивності ПОЛ, у діагностиці певних процесів у біотехнології та екології (Baraboy, 1991; Droge, 2002; Fedotov, 2006). Це ще раз підтверджує необхідність продовження дослідження культуральних характеристик різних систематичних груп грибів, які визнані перспективними об'єктами біотехнології.

Висновки

Найпродуктивніші за показником накопичення абсолютно сухої біомаси – штами *F. velutipes* F-610 та *P. eryngii* P-er. Найнижчі значення накопичення біомаси зафіксовані для штамів *P. ostreatus* P-14 і P-192 та *P. citrinopileatus* P-citr.

Виявлені групи культур базидіоміцетів із різним умістом ТБК-АП. Самочинна та індукована інтенсивність процесів ПОЛ у міцелії всіх досліджених штамів вища за цей показник у культуральному фільтраті.

Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів як міцелію, так і культурального фільтрату наростає з часом культивування, що можна пояснити зростаючою нестачею певних живильних речовин (перш за все вуглецевмісних) та збільшенням концентрації продуктів метаболізму у середовищі.

Співвідношення значень індукованої та самочинної інтенсивності процесів ПОЛ індивідуальне для кожного штамму, не залежить від його систематичного положення.

Зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги відносно стаціонарного (самочинного) рівня – ознака розвитку стрес-реакції. При цьому продукти ПОЛ можуть бути як індукторами, так і первинними медіаторами стресу як особливого стану біологічної системи.

Дослідження виконане в рамках програми прикладних досліджень Міністерства освіти і науки України (проект № 0115U000090). Висловлюємо щиру подяку науковим співробітникам відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за співпрацю, надані матеріали Колекції культур шапинкових грибів (ІВК), що має статус Національного надбання України.

Бібліографічні посилання

Baraboy, V.A., Orel, V.E., Karnaukh, I.M., 1991. Perekisnoye okisleniye i radiatsiya [Lipid peroxidation and radiation]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Belozerskaya, T.A., Gessler, N.N., 2007. Aktivnyye formy kisloroda i strategiya antioksidantnoy zashchity u gribov [Reactive oxygen species and antioxidant defense strategy in fungi]. Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya 43(5), 565–575 (in Russian).

Chang, S.T., 2001. A 40-year journey through bioconversion of lignocellulosic wastes to mushrooms and dietary supplements. Int. J. Med. Mushrooms 3, 299–310.

Chayka, O.V., Fedotov, O.V., 2014. Otsinka ekolohichnoho stanu dovkillya z vykorystannyam prooksydantno-antyoksydantnoyi aktyvnosti kul'tur bazydiomitsetiv [The ecology estimation of environment state using prooxidant-antioxidant activity of Basidiomycetes cultures]. Bioresursy i Pryrodokorystuvannya 6, 5–11 (in Ukrainian).

Droge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 82, 47–95.

Dudka, Y.A., Wasser, S.P., Éllanskaya, Y.A., 2003. Metody eksperimental'noy mikologii [Methods of experimental mycology]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Eriksson, K.E.L., Blanchette, R.A., Ander, P., 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer-Verlag, Berlin.

Fedotov, O.V., Chayka, O.V., Voloshko, T.E., Velyhods'ka, A.K., 2012. Kolektsiya kul'tur shapynkovykh hrybiv – osnova mikolohichnykh doslidzhen' ta stratehiyi zberezhennya bioriznomanittya bazydiomitsetiv [Culture Collection of mushrooms – the basis of mycological research and biodiversity conservation strategies Basidiomycetes]. Visnyk Donets'koho Universytetu 1, 209–213 (in Ukrainian).

Halliwell, B., 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant Physiol. 141, 312–322.

Kapich, A.N., 2010. Oxidizability of unsaturated fatty acids and of a non-phenolic lignin structure in the manganese peroxidase-dependent lipid peroxidation system. Enzyme Microb. Technol. 46(2), 136–140.

Kapich, A.N., 2011. Conjugation of lipid peroxidation with degradation of lignin in wood-destroying Basidiomycetes. Microbial biotechnology: Fundamental and applied aspects: Trans. Sc. Papers. 3, 316–335.

Kapich, A.N., 2011. Sopryazheniye perekisnogo okisleniya lipidov s degradatsiyey lignina u derevorazrushayushchikh bazidiomitsetov [Pair of lipid peroxidation degradation of lignin in wood-basidiomycetes]. Mikrobnyye biotekhnologii: Fundamental'nyye i prikladnyye aspekty 3, 316–335 (in Russian).

Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A., 2008. Dictionary of the fungi. CABI, Wallingford.

Kobzeva, T.V., Melnikov, A.R., Karogodina, T.Y., 2014. Stimulation of luminescence of mycelium of luminous fungus *Neonothopanus nambi* by ionizing radiation. Luminescence 29, 703–710.

Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek, J., 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi. Fungal Genet. Biol. 27, 175–185.

Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huyc, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. International Journal of Biomedical Science 4, 89–96.

Pirog, T.P., Ignatova, O.A., 2009. Zahal'na biotekhnolohiya [General biotechnology]. NUHT, Kyiv (in Ukrainian).

Pozdnyakova, N.N., Nikiforova, S.V., Turkovskaya, O.V., 2010. Influence of PAHs on ligninolytic enzymes of the fungus *Pleurotus ostreatus* D1. Cent. Eur. J. Biol. 5(1), 83–94.

Prisedskiy, Y.G., 1999. Statystychna obrobka rezul'tativ biolohichnykh eksperymentiv [Statistical processing of biological experiments results]. Kassiopeya, Donetsk (in Ukrainian).

Stalnaya, I.D., Garishvili, T.G., 1977. Metod opredeleniya malonovogo dial'degida s pomoshch'yu tiobarbiturovoy kisloty [Method for determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid] Sovremennyye Metody v Biokhimii 1, 66–68 (in Russian).

Vladimirov, Y.A., Archakov, A.I., 1972. Perekisnoye okisleniye lipidov v biologicheskikh membranakh [Lipid peroxidation in biological membranes]. Nauka, Moscow (in Russian).

Voloshko, T.E., Fedotov, O.V., 2011. Skryninh shtamiv bazydiomitsetiv za aktyvnistyu antyoksydantnykh oksydoreduktaz [Screening of basidiomycetes strains on the antioxidant activity of oxidoreductases]. Microbiology and Biotechnology 16, 69–81 (in Ukrainian).

Wasser, S.P., 2011. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. Appl. Microbiol. Biotechnol. 89, 1323–1332.

Wasser, S.P., Sytnik, M., Buchalo, A.S., Solomko, E.F., 2002. Medicinal mushrooms: Past, present and future. Ukr. Bot. J. 59(5), 499–524.

Winquist, E., Moilanen, U., Mettala, A., 2008. Production of lignin modifying enzymes on industrial waste material by solid-state cultivation of fungi. Biochem. Eng. J. 42, 128–132.

Zhil'cova, Y.V., 2011. Zavisimost' antioksidantno-prooksidantnogo ravnovesiya v makrofitah ot urovnya antropogennoj nagruzki [Dependence of antioxidant-prooxidant balance in macrophytes from anthropogenic stress level]. Tr. BGU 6, 47–54.

Надійшла до редколегії 04.07.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 324–331.

doi:10.15421/011642

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 631.421+622.882

Пространственно-временная динамика твердости рекультивированных почв, сформированных в результате добычи полезных ископаемых открытым способом

А.В. Жуков, Г.А. Задорожная

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепропетровск, Украина

На основе изучения пространственно-временной динамики твердости почвы обоснованно существование экоморф техноземов как внегоризонтных почвенных образований. Исследования проведены на научно-исследовательском стационаре по изучению процессов рекультивации в г. Орджоникидзе. Измерение твердости техноземов проводилось в полевых условиях с помощью пенетрометра Eijkelkamp по регулярной сетке на глубину до 50 см с интервалом 5 см. Оценка средних показателей и степени вариации произведена с помощью инструментов описательной статистики. Степень сопряженности пространственного распределения показателей почвенного тела в разные годы исследования установлена с помощью корреляционного анализа. Определены показатели варьирования в пространстве и во времени твердости техноземов, сформированных на лессовидных суглинках, серо-зеленых, красно-бурых глинах, а также педоземов. Установлена степень пространственной зависимости твердости техноземов послойно, а также линейные размеры внегоризонтных почвенных структур – почвенных экоморф. Описан характер временной динамики твердости изученных почв. Получены данные, подтверждающие гипотезу о существовании экоморф как внегоризонтных морфологических почвенных образований. Предложен экоморфический подход к изучению морфологического строения техноземов. Даны сравнительные характеристики почвенных экоморф различных типов техноземов. Полученные результаты решают проблему совмещения высших и низших уровней в иерархической системе организации почвы как природного тела, что повышает эффективность анализа отношений морфологических элементов в качестве основы детальной реконструкции процессов рекультивации, становления почв, изучения их режимов и функций.

Ключевые слова: твердость почвы; рекультивация; строение почвы; экоморфы

Spatio-temporal dynamics of the penetration resistance of recultivated soils formed after open cast mining

A.V. Zhukov, G.A. Zadorozhnaya

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

On the basis of studying the spatio-temporal dynamics of soil penetration resistance we proved the existence of the technozem ecomorphs as above horizon soil formations. Research was carried out at a research center for study of recultivation processes in Ordzhonikidze city. Measurement of soils penetration was made in field conditions using an Eijkelkamp penetrometer on a regular grid at depths of up to 50 cm with intervals of 5 cm. Calculation of average values and degrees of variation was performed by means of descriptive statistical tools. The extent of soil penetration spatial dependence was assessed and the existence of ecomorphs was proved by means of geostatistical analysis. The degree of associativity of spatial distribution of indicators of a soil body in different years of research was established by means of correlation analysis. The level of variation in space and in time of technozem penetration generated on loess-like loams, grey-green, red-brown clays, and also pedozems was revealed. The degree of spatial dependence of technozem penetration within soil layers and also the linear sizes of ecomorphs as above horizon soil structures was established. The time dynamics of penetration of various recultozems were described. As a result of research into the spatio-temporal dynamics of penetration of technozems, data confirming the hypothesis of the existence of ecomorphs as above horizon morphological soil formations were obtained. An ecomorphic approach to the study of the morphological structure of technozems is proposed. The comparative characteristics of ecomorphs from various types of

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, пр. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarina Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-056-776-56-66. E-mail: zadorojhnaya_galina@list.ru

technozem are presented. The results obtained solve the problem of combining the higher and lowest levels in the hierarchical system of soil organisation as a natural body, which should raise the efficiency of the analysis of relations of morphological elements as a basis for detailed reconstruction of recultivation processes, soil formation, and study of their regimes and functions.

Keywords: mechanical impedance; recultivation; soils composition; ecomorphs

Введение

Процесс биологического этапа рекультивации земель, нарушенных в результате открытых горных разработок, сводится к формированию устойчивого биогеоценоза, который по своим структурным и функциональным особенностям способен выполнить целевые задачи, ставящиеся в зависимости от типа рекультивации – сельскохозяйственной, лесной, рекреационной, природоохранной (Bekarevich and Masyuk, 1976; Voron, 2010). Экоморфы являются компонентами биогеоценоза и отражают характер их взаимосвязи в целом и с каждым из структурных элементов в отдельности. В основе экоморфического анализа лежит выявление взаимосвязей живых организмов и среды, а также установление степени приспособления отдельных частей экосистемы к наиболее важным ее элементам, что в прикладном аспекте позволяет количественно определять напряженность экологических режимов (Belgard and Travleev, 1980). Наиболее востребованной системой экоморф является концепция, разработанная в 1950 году А.Л. Бельгардом (Belgard, 1950; Chernyishenko and Lyisenko, 2008). Она позволяет осуществлять качественную оценку растительных сообществ и их сравнение между собой, что применяется исследователями достаточно широко (Diduh and Plyuta, 1991; Emshanov, 1996; Matveev, 2003; Zhukov, 2010). Показаны высокие возможности для фитоиндикации пространственной неоднородности эдафических свойств техноземов на мезоуровне (Bondar and Zhukov, 2011).

Для различных компонентов биогеоценоза проблема системы экоморф решена в разной степени. Разработан экоморфический подход зоологической диагностики почв, который базируется на идеях русского генетического почвоведения В.В. Докучаева. Они выражаются в том, что почвы должны диагностироваться на основании тех признаков и свойств, которые отражают их генезис. Информационными каналами этого метода выступают экоморфы животных (Zhukov, 2010). Зоологический метод диагностики рекультивируемых почв предложен в работах Е.В. Андрусевич (Andrusevich, 2014). Упомянутые исследования базируются на функциональной связи эдафических характеристик с особенностями животного населения и растительного покрова почв. Растения и животные, выполняя функцию производителей детрита, способствуют образованию гумуса, необходимого для запуска любого элементарного почвенного процесса, и оказываются его активными участниками. В свою очередь, происходит метаморфизация почвенного материала. Почва как биокостная система приспосабливается к условиям своего существования в системе почвообразовательных факторов путем развития временной и пространственной гетерогенизации, формированием анизотропного строения со специфическим горизонтальным и вертикальным профилями (Soracco, 2010; Medvedev, 2013). Экологический характер преобразований горных пород, которые трансформируются в процессе биологического этапа рекультивации, делает необходимой разработку экоморфического подхода для изучения организации почвоподобных тел, которыми являются техноземы.

При исследовании неоднородности техноземов путем измерения их твердости по регулярной сетке мы обнаружили элементы неоднородности, которые представляют собой связанные области внутри почвенного пространства, ограниченные со всех сторон субстантивной границей. В трехмерном изображении они представляют собой внегоризонтные морфологические элементы строения почвы, не описанные ни в одной из классификаций морфологических элементов почвы (Zhukov and Zadorozhnaya, 2015).

При изучении роли почвенных структур в организации растительности дерново-литогенных почв на лессовидных суглинках установлен сложный характер взаимодействия растительного покрова и морфологической организации почвы. Названия почв даны по Л.В. Етеревской с соавт. (Eterevska et al., 2008). С помощью геостатистического анализа (Diggle and Ribeiro, 2000; Moncavyo et al., 2006; Ramirez-Lopez et al., 2008) и построения матрицы географических расстояний (Ter Braak, 1986; Legendre and Fortin, 1989; Peres-Neto and Jackson, 2001) определено, что генератором этих взаимодействий является растительный покров, который оказывает упорядочивающее воздействие на почвенное тело. В свою очередь, структурированность почвенного тела создает разнообразие экологической ниши растительного сообщества, в рамках которой протекают динамические перестройки (Zhukov and Zadorozhnaya, 2015). Связующим звеном между структурой растительности и эдафическими свойствами являются фитоиндикационные шкалы (Diduh and Plyuta, 1991; Matveev, 2003; Zhukov, 2010; Didukh, 2011). Разрешение проблемы взаимосвязи внегоризонтных морфоструктур технозема и организации растительности мы видим в выяснении роли твердости рекультивационных почв в объяснении пространственной вариации фитоиндикационных шкал.

Понимание экологического контекста в процессах трансформации горных пород при их рекультивации требует разработки целостной концепции структурной и функциональной организации биогеоценоза как процессионного блока, который является движителем преобразований горной породы в почвоподобное тело и в почву как конечный результат восстановительной динамики. Проблема экоморф, которая решена для биотических компонентов биогеоценоза, требует своего решения для почв, почвоподобных тел и горных пород, которые трансформируются в процессе рекультивации. Цель работы – на основе изучения пространственно-временной динамики твердости обосновать существование экоморф техноземов как внегоризонтных почвенных образований.

Материал и методы исследований

Материал собирали в июне 2012 г. и июне 2013 г. на четырех вариантах техноземов участка рекультивации

Никопольского марганцеворудного бассейна в г. Орджоникидзе. Опытный полигон представляет собой регулярную сетку с размером ячеек 3 м и состоит из 7 трансект по 15 проб. Соответственно, размер полигона составляет 42 × 18 м. Твердость почвы измеряли в полевых условиях с помощью ручного пенетрометра Eijkelkamp на глубину до 50 см с интервалом 5 см (Grunwald et al., 2001; Cecilia et al., 2012; Bets, 2013; Zhukov and Zadorozhnaya, 2013; Moiseev, 2013). Основной рабочей частью прибора является плунжер, навинченный на нижний конец штока, который с помощью рукоятки сквозь измеряющую пружину вталкивается в исследованную почву. При этом измеряющая пружина сжимается пропорционально величине сопротивления деформации почвы. Средняя погрешность результатов измерений прибора составляет ± 8%. Измерения твердости техноземов сделаны конусом поперечного сечения 2 см² в каждой ячейке полигона.

Оценка средних показателей (x), стандартной ошибки (SE) и коэффициента вариации (CV) произведена с помощью инструментов описательной статистики. Для определения уровня пространственной зависимости показателей механического импеданса техноземов применялся геостатистический анализ данных (Veronese Junior et al., 2006; Webster and Oliver, 2007; Valbuena Calderon et al., 2008). Уровень пространственной зависимости (SDL, spatial dependence level, пространственное отношение) рассчитан по формуле:

$$SDL = \frac{C_0}{C_0 + C_1} \times 100,$$

где C_0 – наггет-эффект, C_1 – частичный порог.

Показатели C_0, C_1 и радиус влияния (R) получены на основе моделирования вариограмм пространственной изменчивости твердости почвы (Legendre and Fortin, 1989; Webster and Oliver, 2007).

Степень сопряженности пространственного распределения показателей почвенного тела в разные годы исследования установлена с помощью корреляционного анализа.

Результаты и их обсуждение

Среди изученных техноземов наименьшими значениями твердости почвы по профилю обладает педозем. Средние значения его твердости увеличиваются с глубиной и достигают значений 6,95 ± 0,31 МПа в 2012 году и 6,34 ± 0,24 МПа в 2013 г. на уровне 50 см вглубь от поверхности. Дерново-литогенные почвы на лессовидных суглинках, красно-бурых и серо-зеленых глинах обладают большими значениями твердости по профилю. Исключение составляют данные твердости дерново-литогенной почвы на серо-зеленых глинах верхних слоев (0–10 см от поверхности), где значение изучаемого свойства ниже, чем в соответственных слоях педозема (табл. 1).

Коэффициенты вариации твердости педозема наиболее высоки и колеблются в пределах 36,4–46,2% для данных 2012 г. и 28,7–37,0% − 2013 года. Подобной динамикой и схожими значениями CV обладают данные твердости дерново-литогенной почвы на красно-бурых глинах. Показатели твердости литоземов, образованных на серо-зеленых глинах и лессовидных суглинках, варьируют менее существенно. Дерново-литогенная почва на серо-зеленых глинах характеризуется наличием локальных максимумов коэффициента вариации на уровне 5–10 см ниже поверхности в данных 2012 г., однако ниже этого уровня вариативность данных этого субстрата сравнительно низка, как и дерново-литогенной почвы на красно-бурых глинах. Описанные закономерности характерны для показателей, полученных в оба года исследования.

Таблица 1

Описательные статистики твердости техноземов Никопольского марганцеворудного бассейна (n = 105)

Расстояние от поверхности, см	Педозем		Дерново-литогенная почва на лессовидных суглинках		Дерново-литогенная почва на серо-зеленых глинах		Дерново-литогенная почва на красно-бурых глинах	
	x ± SE, МПа	CV, %	x ± SE, МПа	CV, %	x ± SE, МПа	CV, %	x ± SE, МПа	CV, %
2012 г.								
0–5	3,01 ± 0,12	40,7	4,14 ± 0,17	42,2	2,16 ± 0,82	38,8	3,26 ± 0,09	29,6
5–10	4,16 ± 0,15	36,4	6,03 ± 0,22	38,7	3,63 ± 0,18	53,5	4,57 ± 0,17	39,4
10–15	4,95 ± 0,18	38,1	7,04 ± 0,24	35,2	5,25 ± 0,21	41,2	5,58 ± 0,19	35,4
15–20	5,17 ± 0,21	40,6	7,72 ± 0,25	33,1	6,28 ± 0,22	35,4	6,31 ± 0,22	36,5
20–25	5,52 ± 0,22	41,6	8,20 ± 0,26	32,7	6,80 ± 0,21	31,7	6,96 ± 0,25	37,3
25–30	5,69 ± 0,23	42,3	8,50 ± 0,27	32,2	7,35 ± 0,23	31,9	7,39 ± 0,27	38,7
30–35	5,95 ± 0,25	42,7	8,73 ± 0,30	35,1	7,67 ± 0,25	33,8	7,79 ± 0,29	38,2
35–40	6,24 ± 0,27	44,0	9,01 ± 0,31	34,8	8,21 ± 0,28	34,5	8,24 ± 0,31	40,0
40–45	6,60 ± 0,29	45,7	9,43 ± 0,33	36,8	8,81 ± 0,30	35,0	8,42 ± 0,33	41,1
45–50	6,95 ± 0,31	46,2	9,75 ± 0,35	36,9	9,33 ± 0,31	34,5	8,06 ± 0,35	42,7
2013 г.								
0–5	2,20 ± 0,09	41,4	2,70 ± 0,12	48,7	1,74 ± 0,08	46,1	2,09 ± 0,10	49,2
5–10	3,55 ± 0,13	38,1	5,11 ± 0,21	41,3	3,35 ± 0,12	36,7	3,94 ± 0,15	39,6
10–15	4,27 ± 0,16	37,8	6,80 ± 0,20	30,5	4,60 ± 0,13	29,7	4,89 ± 0,18	38,4
15–20	4,68 ± 0,18	38,4	7,43 ± 0,19	26,0	5,65 ± 0,16	29,0	5,31 ± 0,19	38,0
20–25	4,74 ± 0,17	35,9	7,85 ± 0,18	24,0	6,10 ± 0,17	28,7	5,43 ± 0,22	42,2
25–30	5,17 ± 0,21	40,9	8,15 ± 0,18	22,5	6,31 ± 0,15	24,1	5,90 ± 0,22	38,9
30–35	5,69 ± 0,25	44,4	8,37 ± 0,19	23,7	6,42 ± 0,15	24,5	6,18 ± 0,24	39,9
35–40	5,92 ± 0,25	42,7	8,50 ± 0,19	22,9	6,52 ± 0,16	24,6	6,45 ± 0,23	37,3
40–45	6,07 ± 0,25	42,7	8,71 ± 0,19	22,6	6,77 ± 0,17	25,1	6,79 ± 0,21	33,1
45–50	6,34 ± 0,24	39,3	8,90 ± 0,18	21,1	7,09 ± 0,16	23,6	7,04 ± 0,22	32,6

Для определения уровня зависимости взаиморасположения показателей твердости техноземов и установления факта существования почвенных экоморф необходим геостатистический анализ данных (табл. 2). При интерпретации SDL следует учитывать, что если его уровень находится в пределах 0–25%, то речь идет о сильной пространственной зависимости; если в пределах 25–75% – зависимость переменной является умеренной; если превышает 75% – переменная рассматривается как слабо пространственно зависимая (Cambardella, 1994; Moncayo, 2006). Согласно результатам наших исследований, данные твердости педозема, собранные в 2012 г., обладают высокой степенью пространственной зависимости в слоях 0–20 см от поверхности; ниже 20 см уровень SDL уменьшается и она характеризуется как умеренная. Анализ данных, собранных в 2013 г., показал, что высокой степенью пространственной зависимости характеризуются показатели твердости поверхностного (0–5 см) слоя педозема; данные твердости этой почвы в нижерасположенных слоях показывают умеренный SDL. В педоземе обговариваемый показатель наиболее вариативен, его значения изменяются в пределах 0,7–73,3%. Среди всех изученных техноземов самыми высокими значениями пространственной зависимости обладают данные твердости дерново-литогенной почвы на лессовидных суглинках за оба года исследования. Наиболее низкое пространственное отношение показали данные распределения показателей твердости дерново-литогенной почвы на серо-зеленых глинах, собранные в 2012 г., и дерново-литогенной почвы на красно-бурых глинах – в 2013 году.

Таблица 2

Геостатистические параметры пространственного варьирования твердости техноземов Никопольского марганцеворудного бассейна (n = 105)

Расстояние от поверхности, см	Педозем		Дерново-литогенная почва на лессовидных суглинках		Дерново-литогенная почва на серо-зеленых глинах		Дерново-литогенная почва на красно-бурых глинах	
	SDL	*R*	SDL	*R*	SDL	*R*	SDL	*R*
2012 г.								
0–5	0,68	3,03	15,13	6,83	32,84	6,05	2,09	4,49
5–10	0,41	4,04	7,88	6,22	55,87	8,24	6,60	4,31
10–15	0,26	3,51	1,20	7,08	36,92	5,92	13,07	3,52
15–20	0,21	4,30	0,16	4,10	68,77	4,31	12,81	3,34
20–25	53,57	4,45	0,14	6,64	71,74	4,31	13,09	3,79
25–30	73,26	5,59	17,82	9,69	72,34	12,23	17,13	4,06
30–35	50,72	4,12	26,59	6,77	50,84	10,70	15,61	4,30
35–40	44,72	5,00	48,59	5,05	72,34	12,23	18,96	4,11
40–45	36,60	4,56	56,00	5,50	37,89	15,89	21,29	4,19
45–50	51,71	5,86	57,14	6,71	42,99	15,48	18,92	4,04
2013 г.								
0–5	1,22	4,67	15,52	9,02	22,39	6,99	61,86	7,79
5–10	57,14	4,83	4,98	4,05	13,33	6,02	34,66	7,14
10–15	56,25	3,88	6,80	4,00	17,65	5,23	29,48	7,20
15–20	30,30	3,80	2,12	3,03	46,33	3,71	36,24	7,51
20–25	41,38	5,78	1,69	6,01	42,53	5,32	41,78	8,02
25–30	43,01	4,66	29,82	6,80	30,05	3,50	59,39	7,41
30–35	40,68	7,88	35,00	8,94	49,26	7,38	74,02	8,03
35–40	41,94	7,84	35,14	8,01	22,33	14,84	69,06	7,58
40–45	44,12	8,32	28,33	6,05	19,57	14,32	61,27	6,77
45–50	31,53	7,51	45,18	6,39	21,10	15,40	66,29	6,01

Примечание: SDL – уровень пространственной зависимости (%), R – радиус влияния (м).

Достоверная пространственная зависимость полученных переменных предполагает наличие неоднородности почвенного покрова изученного участка по признаку твердости. Это означает, что вокруг любой произвольной вертикальной оси может быть очерчена область, в пределах которой наблюдается взаимное влияние грунтовых масс, что ведет к дифференциации процессов преобразования и перемещения веществ и возникновения неоднородности ее свойств (Salvador-Blanes et al., 2006; Serafim et al., 2008; Crus et al., 2010; Martins et al., 2010). Чем ближе находятся обсуждаемые грунтовые массы, тем сильнее должно быть их взаимное влияние. С удалением взаимосвязь ослабевает, так как ее заглушает влияние масс, расположенных ближе. Геостатистический анализ позволяет определить расстояния, в пределах которых имеет место указанное выше взаимодействие. Этот показатель называется радиусом влияния. Его величина варьирует по слоям и показывает средние линейные размеры морфологических структур, которые являются элементами неоднородности. Данные твердости педозема 2012 г. исследования демонстрируют вариацию этого показателя от 3,03 до 5,86 м, данные 2013 г. – от 3,80 до 8,32 м. С углублением прослеживается некоторое увеличение показателя радиуса влияния в педоземе. В трехмерном изображении это внегоризонтные морфологические элементы строения почвы с несколько расширяющимся основанием. Среди техноземов такой закономерностью характеризуется и дерново-литогенная почва на серо-зеленых глинах, однако здесь это явление более ярко выражено. В оба года исследования данные радиуса влияния в этом субстрате резко увеличиваются с глубиной и доходят до значений 15,40–15,48 м, что соответствует росту линейных размеров оснований экоморф дерново-литогенной почвы на серо-зеленой глине. Самый стабильный радиус влияния

имеют данные, полученные при анализе данных твердости дерново-литогенной почвы на красно-бурых глинах. Существенного изменения его величины по профилю не обнаружено ни при исследованиях в 2012 г., ни в 2013 году. Экоморфы дерново-литогенной почвы на лессовидных суглинках имеют изменчивую форму, радиус влияния данных несколько раз уменьшается и увеличивается с глубиной и колеблется в пределах 4,10–9,69 м в 2012 г. и 4,00–8,94 м в данных 2013 года.

Анализируя временные изменения строения педозема, можно отметить, что устойчивыми являются мера вариации свойства и общие закономерности их пространственного поведения, но не топография размещения элементов неоднородности, которая во времени в большей или меньшей степени меняется. Корреляционный анализ между значениями твердости техноземов в разные годы исследования тоже обнаруживает отличия в формировании неоднородности их разных типов (табл. 3).

Таблица 3

Коэффициенты корреляции Пирсона твердости педозема в 2012 и 2013 гг. (n = 105)

Годы		2013									
		0–5	5–10	10–15	15–20	20–25	25–30	30–35	35–40	40–45	45–50
		Педозем									
2012	0–5	0,04	0,02	0,00	0,08	–0,05	–0,09	–0,03	0,05	0,01	–0,03
	5–10	0,19	0,13	0,05	0,17	0,09	0,02	0,11	0,13	0,01	0,00
	10–15	0,24*	0,20*	0,07	0,18	0,06	0,09	0,15	0,11	0,05	0,02
	15–20	0,24*	0,17	0,00	0,09	–0,06	0,00	0,12	0,06	0,01	–0,02
	20–25	0,33*	0,25*	0,04	0,10	–0,05	0,01	0,10	0,08	0,06	0,02
	25–30	0,25*	0,14	–0,04	0,05	–0,09	–0,02	0,10	0,12	0,07	0,06
	30–35	0,33*	0,16	0,00	0,10	–0,03	–0,01	0,11	0,10	0,07	0,06
	35–40	0,34*	0,16	0,02	0,08	–0,02	–0,02	0,09	0,06	0,05	0,05
	40–45	0,32*	0,16	0,04	0,10	0,01	0,01	0,12	0,07	0,05	0,04
	45–50	0,35*	0,18	0,05	0,10	0,01	0,02	0,10	0,06	0,05	0,04
		Дерново-литогенная почва на лессовидных суглинках									
	0–5	0,21*	0,24*	0,16	0,13	0,15	0,19	0,24*	0,27*	0,33*	0,30*
	5–10	0,03	0,01	–0,02	–0,01	–0,01	0,02	0,08	0,10	0,18	0,21*
	10–15	0,03	–0,02	–0,02	–0,02	–0,03	0,01	0,01	0,05	0,13	0,14
	15–20	–0,01	–0,00	–0,01	–0,00	–0,00	–0,01	–0,01	0,00	0,07	0,12
	20–25	–0,01	–0,01	–0,04	–0,07	–0,07	–0,07	–0,04	–0,03	0,02	0,05
	25–30	0,03	–0,00	–0,03	–0,03	–0,01	0,02	0,04	0,08	0,14	0,18
	30–35	0,03	0,04	0,02	–0,00	0,03	0,05	0,03	0,09	0,14	0,18
	35–40	0,07	0,03	0,00	–0,02	0,03	0,05	0,03	0,09	0,15	0,19
	40–45	0,09	0,02	–0,02	–0,06	0,01	0,04	0,01	0,05	0,10	0,15
	45–50	0,07	0,03	0,00	–0,04	0,04	0,06	0,01	0,05	0,09	0,15
		Дерново-литогенная почва на серо-зеленых глинах									
	0–5	0,29*	0,19*	–0,01	–0,01	0,04	–0,07	0,02	–0,04	–0,06	–0,07
	5–10	0,36*	0,31*	0,09	0,17*	0,09	–0,02	–0,02	0,00	0,03	–0,01
	10–15	0,41*	0,23*	0,06	0,17*	0,07	–0,05	–0,05	0,02	0,04	0,00
	15–20	0,32*	0,19*	0,10	0,20*	0,05	–0,09	–0,05	–0,03	0,06	0,05
	20–25	0,19*	0,09	0,00	0,06	–0,01	–0,19*	–0,05	–0,15*	0,06	0,09
	25–30	0,17*	0,09	0,00	0,01	–0,02	–0,20*	–0,12*	–0,18*	0,02	0,01
	30–35	0,16*	0,11	0,03	0,01	0,01	–0,16	–0,16*	–0,15*	0,01	–0,02
	35–40	0,20*	0,11	0,04	0,03	0,05	–0,13	–0,16*	–0,18*	–0,03	–0,03
	40–45	0,18*	0,12	0,07	0,05	0,09	–0,09	–0,11*	–0,15*	0,02	0,02
	45–50	0,16	0,12	0,09	0,08	0,09	–0,05	–0,15*	–0,14*	0,02	0,03
		Дерново-литогенная почва на красно-бурых глинах									
	0–5	–0,10	–0,06	–0,21*	–0,21*	–0,27*	–0,23*	–0,26*	–0,25*	–0,26*	–0,35*
	5–10	–0,28*	–0,22*	–0,37*	–0,35*	–0,35*	–0,38*	–0,38*	–0,32*	–0,32*	–0,44*
	10–15	–0,30*	–0,28*	–0,36*	–0,29*	–0,31*	–0,37*	–0,37*	–0,46*	–0,37*	–0,43*
	15–20	–0,23*	–0,22*	–0,28*	–0,22*	–0,21*	–0,28*	–0,30*	–0,40*	–0,28*	–0,38*
	20–25	–0,23*	–0,27*	–0,30*	–0,23*	–0,20*	–0,26*	–0,20*	–0,30*	–0,19	–0,25*
	25–30	–0,20*	–0,24*	–0,28*	–0,23*	–0,19	–0,29*	–0,20*	–0,30*	–0,16	–0,22*
	30–35	–0,17	–0,21*	–0,25*	–0,19	–0,17	–0,27*	–0,17	–0,26*	–0,14	–0,21*
	35–40	–0,21*	–0,22*	–0,26*	–0,19	–0,17	–0,27*	–0,19	–0,29*	–0,16	–0,23*
	40–45	–0,20*	–0,22*	–0,25*	–0,18	–0,17	–0,27*	–0,18	–0,29*	–0,16	–0,23*
	45–50	–0,21*	–0,23*	–0,26*	–0,18	–0,17	–0,27*	–0,18	–0,29*	–0,15	–0,22*

Примечание: 0–5, …, 45–50 – расстояние от поверхности (см); * – статистически значимые корреляции (P < 0,05).

В педоземах достоверная положительная корреляционная связь наблюдается между распределением данных изучаемого признака слоя 0–5 см, полученных в 2013 г., с распределением твердости на уровне 10–50 см от поверхности, измеренного в 2012 году (P < 0,05). Распределение значений твердости слоя 5–10 см 2013 г. обнаруживает положительную связь с распределением значений в слоях 10–15 и 20–25 см 2012 года. Достоверности связи между

распределением изучаемых значений в слое 5–10 см от поверхности в 2013 г. с данными остальных слоев данных 2012 г. не наблюдается, однако коэффициенты корреляции достаточно высоки, что подчеркивает тенденцию к положительной зависимости. Иначе говоря, строение верхних слоев педозема детерминировано строением почвенного профиля на уровне 10–50 см предыдущего года. Похожие результаты показал корреляционный анализ временных изменений данных твердости дерново-литогенной почвы на серо-зеленых глинах. Формирование строения верхнего (0–5 см) слоя почвы зависит от строения практически всего почвенного профиля, наблюдавшегося в предыдущем году. Также выявлены положительные корреляционные связи распределения показателей твердости 2013 г. в слоях 5–10 и 15–20 см от поверхности с распределением изучаемого показателя на глубину до 20 см в данных 2012 года. Следы информации о прошлогоднем строении почвы на уровне 25–50 см несет в себе слой 30–40 см, однако корреляционные связи в этом случае отрицательные.

Анализ временных изменений строения дерново-литогенных почв на красно-бурых глинах и лессовидных суглинках тоже выявил достоверные корреляционные связи между почвенным строением, однако связи эти иного рода. Наблюдается достоверная корреляционная зависимость строения большинства слоев профиля дерново-литогенной почвы на лессовидных суглинках, обнаруженного в 2013 г. от распределения показателей твердости в поверхностном слое (0–5 см от поверхности), зафиксированных в 2012 году. Положительная корреляция с распределением данных слоя 0–5 см в 2012 г. наблюдается у распределения показателя твердости в слоях 0–10 и 35–50 см 2013 года ($P < 0,05$). В толще почвы 15–30 см достоверной зависимости не наблюдается, однако коэффициенты корреляции по своему значению близки к достоверным. Формирование элементов неоднородности дерново-литогенной почвы на красно-бурых глинах идет под устойчивым влиянием отрицательных обратных связей со строением данного почвенного слоя, обнаруженным в предыдущий год. Наибольшее влияние на распределение данных твердости в 2013 г. в этих субстратах имеет строение верхних слоев почвы исследованного участка, имевшего место в предыдущем году.

В результате нашего исследования установлено, что в педоземе, как и в других вариантах техноземов, существуют внегоризонтные морфологические образования – почвенные экоморфы. Линейные размеры экоморф педозема схожи с таковыми других вариантов техноземов участка рекультивации Никопольского марганцеворудного бассейна, однако, имеют своеобразную форму – тенденцию к увеличению диаметра с глубиной. Топография размещения элементов неоднородности со временем изменяется, строение верхних слоев педозема детерминировано строением почвенного профиля предыдущего года.

В почвоведении существует проблема, суть которой в несогласованности путей выделения элементов организации на субпрофильних уровнях организации и уровнях почвенно-покровных. Авторы отмечают, что в существующей классификации критерии проведения границ между элементами организации на обозначенных уровнях организации сильно разнятся между собой. При изометричности элементов организации почвы низших уровней на горизонтном уровне организации латеральная протяженность элементов организации оказывается на многие порядки более высокой, чем по вертикальной оси. При этом отдельные горизонты в почвенном покрове нередко имеют разную латеральную протяженность. Такая постановка вопроса определяет необходимость выбора некоторого исходного почвенного тела внегоризонтного уровня, от которого можно перейти как на низшие, так и на высшие уровни организации (Zaharchenko and Zaharchenko, 2006).

Почвенные экоморфы – это цельные части почвенного тела, имеющие индивидуальные параметры, характер взаимодействия, выходящие по размерам за пределы горизонтов. Обоснование их существования, по нашему мнению, решает проблему стыковки высших и низших уровней организации почвы как природного тела. Учитывая результаты исследований, опубликованных нами ранее (Zhukov and Zadorozhnaya, 2015), а также мнение других авторов о формировании растительных условий в зависимости от твердости почвы (Lipiec and Hatano, 2003; Hamza and Anderson, 2005; Carrara et al., 2007; Medvedev, 2013), можно говорить, что почвенные экоморфы образуют единый функциональный комплекс с растительным сообществом. Твердость почвы взаимосвязана с ее плотностью, влажностью: в зависимости от топографии размещения участков с разной твердостью идет формирование преимущественных потоков влаги в почве, неравномерное ее смачивание, формирование трещин в местах избыточного напряжения и многообразность условий для формирования корневых систем растений, что безусловно влияет на формирование пестроты растительного покрова и урожайность (Grunwald et al., 2001; Hamza and Anderson, 2005; Ramirez-Lopez et al., 2008; Serafim et al., 2008; Cecilia et al., 2012). Путем варьирования такого свойства почвы как твердость в экосистеме создается разнообразие экологических ниш, что способствует поддержанию биоразнообразия и устойчивости экосистем. Результаты наших исследований повышают эффективность анализа отношений морфологических элементов в качестве основы детальной реконструкции процессов рекультивации, становления почв, изучения их режимов.

Выводы

Педозем характеризуется наименьшим уровнем твердости в сравнении с данными других вариантов техноземов участка рекультивации Никопольского марганцеворудного бассейна. Наиболее высокие значения твердости зарегистрированы в дерново-литогенной почве на лессовидных суглинках.

В поверхностных слоях педозема наблюдается высокая пространственная зависимость данных твердости. С продвижением по профилю зависимость данных уменьшается до уровня умеренной. Среди всех изученных техноземов самыми высокими значениями пространственного отношения обладает распределение данных твердости дерново-литогенной почвы на лессовидных суглинках. Наиболее низкой пространственной зависимостью обладает распределение показателей твердости дер-

ново-литогенной почвы на серо-зеленых глинах и дерново-литогенной почвы на красно-бурых глинах.

Распределение показателей твердости верхних слоев педозема зависит от строения почвы на уровне 10–50 см, наблюдавшегося в предыдущем году. Аналогичными временными взаимосвязями обладает строение дерново-литогенной почвы на серо-зеленых глинах. Формирование элементов неоднородности литоземов на лессовидных суглинках и красно-бурых глинах происходит под влиянием строения верхнего почвенного слоя, имевшего место в предыдущем году.

Обнаружены внегоризонтные почвенные морфологические образования – почвенные экоморфы, которые в педоземе имеют тенденцию к увеличению линейных размеров с глубиной. Подобная и еще в большей степени выраженная закономерность наблюдается в строении экоморф дерново-литогенной почвы на серо-зеленых глинах. В дерново-литогенной почве на красно-бурых глинах диаметр экоморф относительно стабилен на протяжении всего изученного слоя почвы. Экоморфы дерново-литогенной почвы на лессовидных суглинках, напротив, имеют изменчивую форму, радиус влияния данных твердости несколько раз уменьшается и увеличивается с глубиной.

Библиографические ссылки

Andrusevich, K.V., 2014. Ekomorficheskaya harakteristika mezofaunyi dernovo-litogennyih pochv na sero-zelenyih glinah uchastka rekultivatsii Nikopolskogo margantsevo-rudnogo basseyna [Ecomorphical characteristics of mesofauna in the sod-lithogenic soils on the grey-green clays at the nicopol manganese ore basin]. Scientific Notes of Taurida National V.I. Vernadsky University. Series Biology and Chemistry 27(2), 11–20 (in Russian).

Bekarevich, N.E., Masyuk, N.T., 1976. Ratsionalnoe ispolzovanie nasyipnogo sloya pochvyi na uchastkah rekultivatsii v chernozemnoy zone [Rational use of a bulk layer of soil on recultivation fields in chernozem region]. In: Osvoenie narushennyih zemel [Development of the destroyed lands]. Nauka, Moscow, 112–150 (in Russian).

Belgard, A.L., 1950. Lesnaja rastitel'nost' jugo-vostoka USSR [The forest vegetation of the south east of the Ukraine]. Kiev University Press, Kiev (in Russian).

Belgard, A.L., Travleev, A.P., 1980. Rol' pochvennoj fauny v identifikacii jedafotopov [The role of the soil fauna in edaphotopes indication]. In: Problemy i metody biologicheskoj diagnostiki i indikacii pochv [Problems and methods of biological soil diagnostic and indication]. Moscow State University, Moscow, 155–163 (In Russian).

Bets, T.J., 2013. Prostranstvennaja neodnorodnost' tverdosti pochv i ee svjaz' s jelektricheskoj provodimost'ju pochvy i produktivnost'ju podsolnechnika [Spatial variability of the soil mechanical impedance and its connection with electricrical conductivity and productivity of sunflower]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University 3(2), 30–44 (in Russian).

Bondar, G.A., Zhukov, A.V., 2011. Jekologicheskaja struktura rastitel'nogo pokrova, sformirovannogo v rezul'tate samozarastanija dernovo-litogennyh pochv na lessovidnyh suglinkah [Plant cover ecological structure formed as a results of self-growing of the sod-lithogenic soils on loess-like clays]. Visnik of the Dnipropetrovsk State Agrarian University 1, 54–62 (in Russian).

Cambardella, C.A., Moorman, T.B., Novak, J.M., 1994. Parkin. Field scale variability of soil properties in central Iowa soils. Soil Sci. Soc. Am. 58, 1501–1511.

Cecilia, M., Jesus, H.C., Cortes, C.A., 2012. Soil penetration resistance analysis by multivariate and geostatistical methods. Eng. Agric. Jaboticabal. 32(1), 91–101.

Chernyishenko, V.S., Lyisenko, J.J., 2008. Jekomorficheskij analiz A.L. Bel'garda kak teoreticheskaja osnova dlja matematicheskogo prognozirovanija dinamiki populjacij [A.L. Belgard's ectomorph analisis as a theoretical basis for mathematical prediction of populations dynamics]. Ecology and Noospherology 19, 19–30 (in Russian).

Crus, J.S., Assis, R.N., Matias, S.S.R., Camacho-Tamayo, J.H., Tavares, R.C., 2010. Analise espacial de atributos fisicos e carbono organico em argissolo vermelho-amarelo cultivado com cana-de-acucar. Scienc. Agrotec. 34(2), 271–278.

Diduh, Y.P., Plyuta, P.G., 1991. Gradientniy analiz eklogichnih parametriv roslinnih ugrupovan dolini r. Vorskli (URSR) [Gradient analysis of the plant community ecologica; parameters in river Vorskla valley (UkrSSR)]. Ukr. Bot. J. 48(4), 18–23 (in Ukrainian).

Didukh, Y.P., 2011. The ecological scales for the species of Ukrainian flora and their use in synphytoindication. Phytosociocentre Kyiv.

Diggle, P.J., Ribeiro, J.R., 2000. Model based geostatistics. Associacao Brasileira de Estatistica. Sao Paulo.

Emshanov, D.G., 1995. Pogranichnost', amficenoticheskie javlenija v lesnyh jekosistemah i ocherednye zadachi ih izuchenija [Marginality and amphicoenotic phenomenon in the forest ecosystems and further task of their investigation]. Ecology and Noospherology 1, 99–109 (in Russian).

Eterevska, L.V., Momot, G.F., Lehtsier, L.V., 2008. Rekul'tyvovani g'runty: Pidhody do klasyfikacii' ta systematyky [Reclaimed soils: Approaches to classification and taxonomy]. Gruntoznavstvo 9(3), 147–150 (in Ukrainian).

Grunwald, S., McSweeney, K., Rooney, D.J., Lowery, B., 2001. Soil layer models created with profile cone penetrometer data. Geoderma 103, 181–201.

Hamza, M.A., Anderson, W.K., 2005. Soil compaction in cropping systems: A review of the nature, causes and possible solutions. Soil Till. Res. 82(2), 121–145.

Legendre, P., Fortin, M.J., 1989. Spatial pattern and ecological analysis. Vegetatio 80, 107–138.

Lipies, J., Hatano, H., 2003. Quantification of compaction effects on soil physical properties and crop growth. Geoderma 116(1–2), 107–136.

Martins, A.L.S., Moura, E.G., Camacho-Tamayo, J.H., 2010. Spatial variability of infiltration and its relationship to some physical properties. Ing. Investig. Bogota 30(2), 116–123.

Matveev, N.M., 2003. Optimizacija sistemy jekomorf rastenij A.L. Bel'garda v celjah fitoindikacii jekotopa i biotopa [The system of the A.L. Belgard ecomorphes optimization for the sake of the ecotope and biotope phytoindication]. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ecol. 11(2), 105–113 (in Russian).

Medvedev, V.V., 2009. Tverdost' i tverdogrammy v issledovanijah po obrabotke pochv [Soild and soildgram in research on the treatment of soil]. Eurasian Soil Sci. 3, 325–336 (in Russian).

Medvedev, V.V., 2013. Vremennaja i prostranstvennaja geterogenizacija raspahivaemyh zemel' [Time and spatial heterogenization of soil plouger up]. Gruntoznavstvo 14, 5–22 (in Russian).

Moiseev, K.G., 2013. Raschet plotnosti dernovo-podzolistyh supeschanyh pochv po diagrammam tverdosti [Sod-podsol sands soils density calculation on the basis of the soil penetration resistance diagrams]. Eurasian Soil Sci. 10, 1228–1233 (in Russian).

Moncavyo, F.H., Villegas, H.A., Betancur, J.H., Tafur, L.E., 2006. Variabilidad especial de las propiedades quimicas y fisicas en un Typic Udivitrands, arenoso de la Region Andi-

na Central Colombiana. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 59, 3217–3235.
Peres-Neto, P.R., Jackson, D.A., 2001. How well do multivariate data sets match? The advantages of a Procrustean superimposition approach over the Mantel test. Oecologia 129, 169–178.
Ramires-Lopez, L., Reina-Sanchez, A., Camacho-Tamayo, J.H., 2008. Variabilidad espacial de atributos fisicos de un Typic Haplustox de los Llanos Orientales de Colombia. Eng. Agric. Jaboticabal 28(1), 55–63.
Salvador-Blanes, S., Cornu, S., Couturier, A., King, D., Macaire, J.J., 2006. Morphological and geochemical properties of soil accumulated in hedge-induced terraces in the Massif Central, France. Soil Till. Res. 85(1–2), 62–77.
Serafim, M.E., Vitorino, A.C.T., Peixoto, P.P.P., Souza, C.M.A., Carvalho, D.F., 2008. Intervalo hidrico otimo em um latossolo vermelho distroferrico sob diferentes sistemas de producao. Eng. Agríc. Jaboticabal 28(4), 654–665.
Soracco, C.G., Lozano, L.A., Sarli, G.O., Gelati, P.R., Filgueira, R.R., 2010. Anisotropy of saturated hydraulic conductivity in a soil under conservation and no-till treatments. Soil Till. Res. 109, 18–22.
Ter Braak, C.J.F., 1986. Canonical correspondence analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. Ecology 67, 1167–1179.
Valbuena Calderon, C.A., Martines, L.J., Giraldo Henao, R., 2008. Variabilidad espacial del suelo y su relacion con el rendimiento de mango (*Mangifera indica* L.). Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal 30(4), 1146–1151.
Verones Junior, V., Carvalho, M.P., Dafonte, J., Freddi, O.S., Vidal Vazquez, E., Ingaramo, O.E., 2006. Spatial variability of soil water content and mechanical resistance of Brazilian ferralsol. Soil Till. Res. 85, 166–177.
Voron, Y.A., 2010. Svojstva sozdavaemoj pochvy pri poslojnoj gornotehnicheskoj i biologicheskoj rekul'tivacii [Propeties of soil created by means of layerwise mine-technical and and biological recultivation]. Scientific Bulletin of National Mining University 5, 23–28 (in Russian).
Webster, R., Oliver, M.A., 2007. Geostatistics for environmental scientists. John Wiley and Sons. Hoboken.
Zaharchenko, A.V., Zaharchenko, N.V., 2006. Opyt trehmernogo otrazhenija poverhnostej pochvennyh gorizontov v naturnyh issledovanijah [Experience of the 3D morphometry of the soil horizons surfaces in fields investigations]. Eurasian Soil Sci. 2, 153–160 (in Russian).
Zhukov, A.V., Zadorozhnaya, G.A., 2013. Prostranstvennaja izmenchivost' tverdosti pedozemov [The spatial variability of pedozem mechanical impedance]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University 3(1), 34–49 (in Russian).
Zhukov, A.V., Zadorozhnaya, G.A., 2015. Fenomen pochvennoj jekomorfy [The phenomenon of soil ecomorphes]. V All-Ukrainian Congress of Ecologists. Collection of scientific abstracts. VNTU. Vinnitsia. P. 190 (in Russian).
Zhukov, A.V., Zadorozhnaya, G.A., 2015. Rol' vnegorizontnyh pochvennyh morfostruktur v organizacii rastitel'nosti dernovo-litogennyh pochv na ljossovidnyh suglinkah (Nikopol'skij margancevorudnyj bassejn) [The role of the horizon-over morphological structures in vegetation organization of the sod-lithogenic soils on loess-like clays (Nikopol Manganese Ore Basin)]. The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series: Biology 24, 171–186 (in Russian).
Zhukov, O.V., 2010. Ekomorfy Bel'garda – Akimova ta ekologichni matryci [Belgard – Akimov's ecomorfes and ecological matrix]. Ecology and Noospherology 21(3), 109–111 (in Ukrainian).

Надійшла до редколегії 20.01.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 332–337.

doi:10.15421/011643

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 579.266:579.222.2

Використання фумарату бактеріями *Desulfuromonas sp.*

О. Чайка, Т. Перетятко, С. Гудзь, А. Галушка

Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

Досліджено використання фумарату бактеріями *Desulfuromonas sp.* за різних умов культивування та сульфідогенну активність мікроорганізмів у середовищах з елементною сіркою та різними донорами електронів. Найвищу сульфідогенну активність бактерій *Desulfuromonas sp.* виявлено у середовищі з натрій лактатом і натрій піруватом. За наявності елементної сірки бактерії найкраще ростуть у середовищі з натрій лактатом, малатом і фумаратом. Бактерії *Desulfuromonas sp.* за відсутності у середовищі елементної сірки здатні використовувати фумарат як донор і акцептор електронів. За росту бактерій у середовищі з фумаратом у культуральній рідині нагромаджується сукцинат і в малій кількості – ацетат. Наявність останнього, можливо, пов'язана з особливостями функціонування циклу трикарбонових кислот у бактерій роду *Desulfuromonas*. Одночасне внесення двох акцепторів електронів (фумарату та елементної сірки) супроводжувалось інгібуванням сіркоредукції. За внесення у середовище з фумаратом додаткового джерела карбону (натрій лактату) та акцептора електронів (елементної сірки) спостерігали зростання сульфідогенної активності у п'ять разів.

Ключові слова: сірковідновлювальні бактерії; сукцинат; фумаратредуктаза; гідрогеназа; фумаратне дихання

Utilization of fumarate by sulfur-reducing bacteria *Desulfuromonas sp.*

O. Chayka, T. Peretjatko, S. Gudz, A. Halushka

Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

The main goal of the work was to study the utilization of fumarate by sulfur-reducing bacteria *Desulfuromonas sp.* under different growth conditions and accumulation of hydrogen sulfide by bacteria in the media with sulfur and different electron donors. Sulfur-reducing bacteria *Desulfuromonas sp.*, isolated from soil in Yazivske sulfur deposit, were used in the reasearch. Bacteria were grown in the medium Postgate C without sulfates. The content of hydrogen sulfide was determined by formation of methylene blue. The content of organic acids (fumarate, succinate, lactate, acetate) was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The biomass of cells was determined by the photoelectrocolorymetry method using KFK-3. The highest level of accumulation of hydrogen sulfide by bacteria *Desulfuromonas sp.* was found in media with sodium lactate and sodium pyruvate. The maximal concentration of hydrogen sulfide was 1.9 mM. Maximal accumulation of biomass was observed in the media with malate, lactate and fumarate with the presence of elemental sulfur. Sulfur-reducing bacteria *Desulfuromonas sp.* are able to utilize fumarate as an electron donor and acceptor in the absence of elemental sulfur in the medium. After the incubation of *Desulfuromonas sp.* in the medium with fumarate chromatographic analysis of culture liquid has shown that fumarate is converted to succinate and small quantities of acetate The presence of acetate is, probably, due to the particularaties of the functioning of citric acid cycle in bacteria of the genus *Desulfuromonas*. Consequently, the results indicate that the fumarate serves as a donor and acceptor of electrons.The simultaneous introduction of two electron donors – fumarate and elemental sulfur – was accompanied by inhibition of sulfur reduction. After an additional source of carbon (sodium lactate) and electron acceptor (elemental sulfur) was added to the medium with fumarate a fivefold increase of sulfidogenic activity was observed. Thus, regulation of respiration in bacteria *Desulfuromonas sp.* is directed to the primary utilization of the most energetically favorable electron acceptors.

Keywords: reducing bacteria; succinate; fumarate reductase; hydrogenase; fumarate respiration

Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevskoho Str. 4, Lviv, 79005, Ukraine
Tel.: +38-067-336-47-44. E-mail: O-Chajka@i.ua

Вступ

Бактерії здійснюють анаеробне дихання, за якого замість кисню термінальними акцепторами електронів слугують фумарат, нітрат, полісульфід чи інші окиснені неорганічні та органічні сполуки (Kroger et al., 2002). Для більшості мікроорганізмів використання фумарату як акцептора електронів при диханні – лише додатковий механізм, що дозволяє здобути більшу кількість енергії за анаеробних умов (Lancaster and Simon, 2002). Фумаратне дихання характерне для багатьох факультативно анаеробних (*Escherichia coli*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp.*) і облігатно-анаеробних бактерій (*Clostridium formoaceticum*, *Desulfovibrio gigas*, *Propionibacterium sp.*, *Vibrio succinogenes*, *Wolinella succinogenes*) (Hedderich et al., 1999).

Для сульфатвідновлювальних бактерій ключовий фермент фумаратного дихання – фумаратредуктаза (сукцинат : хіноноксидоредуктаза) (EC 1.3.5.1), яка може виконувати функцію сукцинатдегідрогенази під час окиснення сукцинату, а також хінон: фумаратредуктази під час фумаратного дихання (Lemos, 2002; Zaunmüller et al., 2006).

Lancaster and Simon (2002) показали, що фумаратредуктаза такого типу наявна у більшості сульфат- і сірковідновлювальних бактерій, зокрема, *Desulfovibrio desulfuricans*, *D. vulgaris* і в інших протеобактеріях. У бактерій *Geobacter sulfurreducens* виділено фермент, який діє як термінальна фумаратредуктаза та сукцинатдегідрогеназа у циклі трикарбонових кислот (Butler et al., 2006).

Gebhardt et al. (1985) показали, що сірковідновлювальні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* містять сукцинатдегідрогеназу (EC 1.3.99.1), яка за наявності НАДН$^+$, може відновлювати фумарат до сукцинату. Використовуючи базу даних NCBI (www.ncbi) у бактерій *Desulfuromonas acetoxidans* DSM 684, ідентифікували амінокислотну послідовність фумаратредуктази (чи сукцинатдегідрогенази), яка має подібність із фумаратредуктазою *W. succinogenes* на 28%, *Desulfovibrio sp.* – 29%, *Geobacter sulfurreducens* – 82%.

Найкраще досліджено механізм відновлення фумарату мезофільними бактеріями *W. succinogenes*, які використовують молекулярний гідроген або форміат як донор електронів (Hedderich et al., 1999). У відновлені фумарату беруть участь два інтегровані в мембрану ферменти: фумаратредуктаза та гідрогеназа (чи форміатгідрогеназа). Під час окиснення гідрогену чи форміату електрони транспортуються від гідрогенази через цитохром *b* і хінон до фумаратредуктази, створюючи електрохімічний градієнт (Kroger et al., 2002).

Шляхи відновлення фумарату в сірковідновлювальних бактерій роду *Desulfuromonas* не з'ясовані, тому мета цієї статті – з'ясувати деякі закономірності використання фумарату сірковідновлювальними бактеріями *Desulfuromonas sp.*

Матеріал і методи досліджень

У дослідженні використали сірковідновлювальні бактерії *Desulfuromonas sp.*, виділені з території Язівського сіркового родовища (Chayka et al., 2010). Бактерії вирощували у модифікованому середовищі Постгейта С (г/л): KH_2PO_4 – 0,5, NH_4Cl – 1,0, $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,06, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,05, натрій лактат (40%) – 12 мл, дріжджовий екстракт – 1,0, натрій лимоннокислий – 0,3, аскорбінова кислота – 1,0, елементна сірка – 1,0, вода дистильована до 1 л; pH = 7,5 (Postgate, 1984). Середовище стерилізували за 1 атм протягом 30 хв і розливали у пробірки (25 мл), закривали стерильними гумовими корками, так щоб у них не залишилося повітря. Біомасу клітин визначали турбідиметрично на фотоелектроколориметрі, використовуючи КФК – 3 (λ = 340 нм, кювета 3 мм). Вміст гідроген сульфіду визначали за утворенням метиленової сині (Sugiyama, 2002).

Вміст органічних кислот (фумарату, сукцинату, лактату, ацетату) визначали методом високоефективної рідинної хроматографії (HPLC). Хроматографічна система складалася з двох помп VarianProStar 210, хроматографічної колонки Polaris 5 C18-A, 250 × 4,6 мм у модулі колонок VarianProStar 500, спектрофотометричного детектора з фотодіодною матрицею VarianProStar 335. Як рухому фазу використовували 0,2% розчин трифтороцтової кислоти (AppliChem) у воді (отриманій із допомогою системи очищення води AdronaCrystalCreBio з ультрафільтром Milipore). Хроматографічне розділення здійснювали у 0,2% розчині трифтороцтової кислоти протягом 8 хв. Потік розчинника становив 1,5 мл/хв (Kerem et al., 2004). Хроматограми записували за довжини хвилі 212 нм. Температура колонки становила 35 ºС.

Результати представлені як середнє значення з поправкою на стандартну похибку (M ± m). Досліди повторювали тричі з трьома паралельними постановками для кожного варіанта. Статистичне опрацювання результатів проводили, використовуючи програму Origin 6.1.

Результати та їх обговорення

У попередніх дослідженнях ми встановили, що бактерії *Desulfuromonas sp.* добре ростуть у середовищі з фумаратом за відсутності елементної сірки (Chayka et al., 2010). При цьому фумарат повністю забезпечує клітини органічним карбоном. За наявності елементної сірки *Desulfuromonas sp.* як джерело карбону використовують етанол, натрій ацетат, натрій лактат, натрій піруват, сукцинат, фумарат, малат. Дослідження сульфідогенної активності бактерій *Desulfuromonas sp.* у середовищах з елементною сіркою та різними донорами електронів показало, що максимальне нагромадження гідроген сульфіду відбувається на 6–12-й добі культивування. Найвищу сульфідогенну активність бактерій *Desulfuromonas sp.* виявлено у середовищі з натрій лактатом і натрій піруватом (рис. 1). Максимальна концентрація гідроген сульфіду становила 1,9 мМ. Бактерії *Desulfuromonas sp.* найкраще ростуть у середовищі з натрій лактатом, малатом і фумаратом за наявності елементної сірки (рис. 2).

Досліджувані бактерії можуть використовувати фумарат як акцептор електронів і, одночасно, як джерело карбону. Тому в наступних експериментах дослідили деякі закономірності використання фумарату бактеріями *Desulfuromonas sp.* за наявності у середовищі додаткових донорів і акцепторів електронів.

За анаеробного дихання бактерії використовують акцептори електронів із різними значенням окисно-

відновного потенціалу. Значення окисно-відновного потенціалу термінального акцептора електронів визначає місце виходу електрона з дихального ланцюга, а отже, кількість АТФ, що утворюється в результаті окисного фосфорилювання. Чим вище значення окисно-відновного потенціалу акцептора, тим більше енергії отримує мікроорганізм унаслідок дихання. У природних умовах, де зазвичай одночасно присутні декілька можливих акцепторів електронів, факультативні анаероби спочатку використовують найвигідніші з них (із найвищими значеннями окисно-відновного потенціалу), облігатні – лише низькопотенціальні акцептори. Послідовність використання різних акцепторів електронів у кожного мікроорганізму детермінована генетично, контролюється складними регуляторними механізмами (Kozlova, 2008). Окисно-відновний потенціал окисно-відновної пари фумарат / сукцинат вищий за окисно-відновний потенціал окисно-відновної пари S_0/HS^-, тому за одночасної наявності у середовищі фумарату та елементної сірки бактерії спочатку відновлювали фумарат.

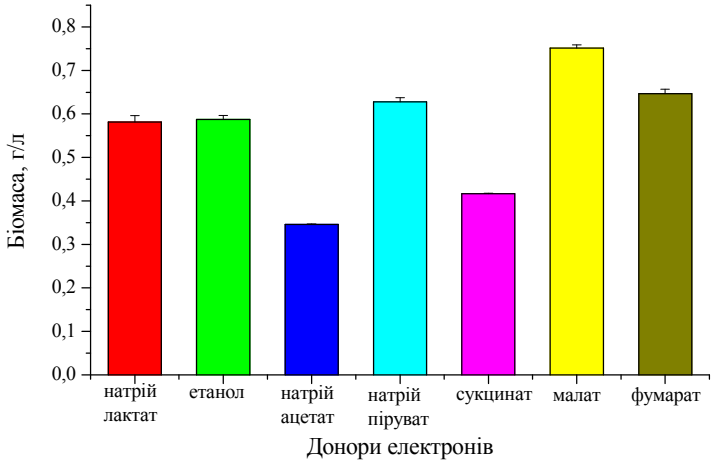


Рис. 1. Нагромадження біомаси бактеріями *Desulfuromonas sp.* за наявності у середовищі елементної сірки та різних донорів електронів (M ± m, n = 3)

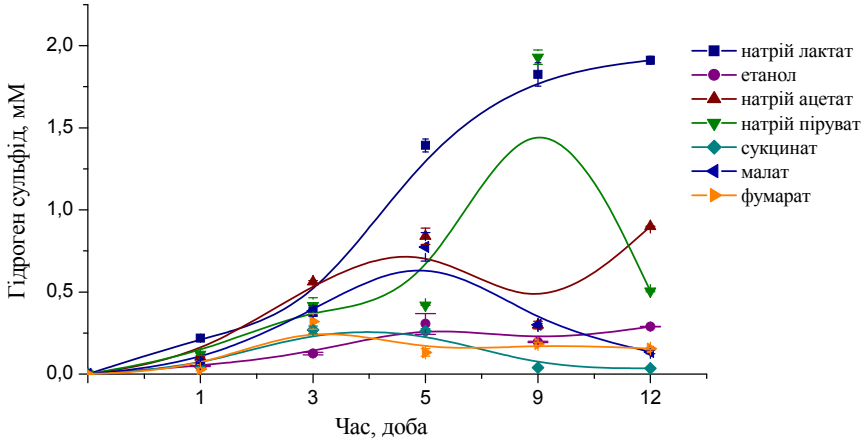


Рис. 2. Нагромадження гідроген сульфіду бактеріями *Desulfuromonas sp.* за наявності у середовищі елементної сірки та різних донорів електронів (M ± m, n = 3)

Хроматографічний аналіз культуральної рідини після вирощування *Desulfuromonas sp.* у середовищі з фумаровою кислотою показав, що бактерії нагромаджують сукцинат і, в незначних кількостях, ацетат (рис. 3). За цих умов у середовищі виявлено 0,9 г/л ацетату, як проміжної сполуки окисненя фумарату у циклі трикарбонових кислот (ЦТК). Бактерії *D. acetoxidans* здійснюють анаеробне окиснення ацетату за участі модифікованого ЦТК (Thauer, 1988). Ці мікроорганізми містять сукциніл-КоА: ацетат-КоА-трансферазу замість ацетил-КоА-синтетази та сукциніл-КоА-синтетази, які є у більшості аеробних і анаеробних мікроорганізмів (Thauer, 1988). Сукциніл-КоА: ацетат-КоА-трансфераза забезпечує утворення сукцинату з сукциніл-КоА і активацію ацетату (Thauer, 1988; Gebhardt et al., 1985). За внесення у середовище культивування фумарату та елементної сірки бактерії відновлюють фумарат до сукцинату. За цих умов вміст гідроген сульфіду незначний (0,15 мМ) (рис. 4). Отже, одночасне внесення двох акцепторів електронів, фумарату та елементної сірки, супроводжується інгібуванням сіркоредукції.

Бактерії *D. acetoxidans* окиснюють лактат до ацетату, який перетворюється через ацетил-КоА у модифікованому ЦТК до CO_2 (Gebhardt et al., 1985; Thauer, 1988). У процесі росту бактерій *Desulfuromonas sp.* у середовищі

з натрій лактатом і елементною сіркою спостерігається повне використання лактату та нагромадження ацетату в концентрації 1 г/л. За наявності у середовищі натрій лактату (як донора електронів) і фумарату після 14 діб культивування бактерії *Desulfuromonas sp.* нагромаджують сукцинат (рис. 5) і в малих кількостях ацетат. За цих умов спостерігається повне відновлення фумарату до сукцинату та повне використання лактату. Одержані результати вказують на те, що досліджувані бактерії здатні використовувати фумарат як акцептор електронів за наявності у середовищі лактату. Наявність малої кількості ацетату, можливо, вказує на те, що лактат окиснюється до ацетату (проміжний продукт), який перетворюється через ацетил-КоА на ЦТК.

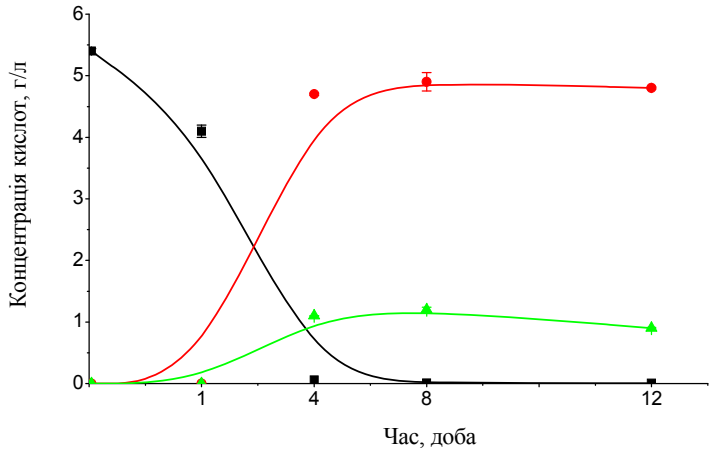


Рис. 3. Використання фумарату (—■—), нагромадження сукцинату (—●—) та ацетату (—▲—) бактеріями *Desulfuromonas sp.* (M ± m, n = 3)

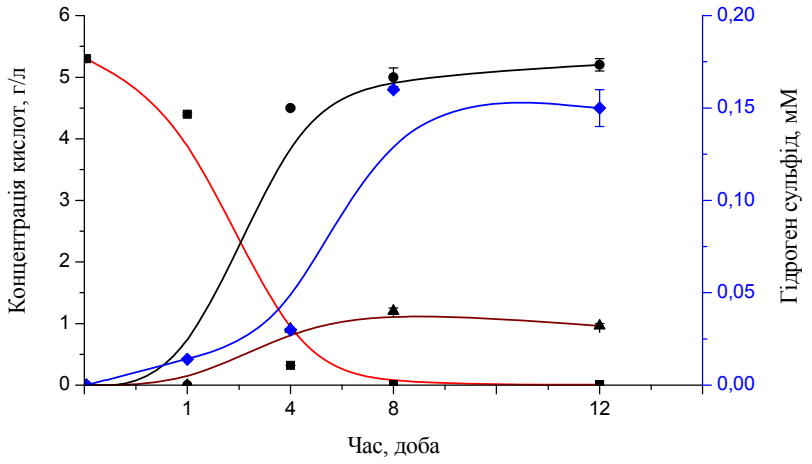


Рис. 4. Використання фумарату (—■—), нагромадження сукцинату (—●—), ацетату (—▲—) та гідроген сульфіду (—♦—) бактеріями *Desulfuromonas sp.* у середовищі з фумаратом і елементною сіркою (M ± m, n = 3)

Хроматографічний аналіз культуральної рідини після вирощування *Desulfuromonas sp.* у середовищі з фумаратом, натрій лактатом і елементною сіркою показав, що бактерії нагромаджують сукцинат і, в малих кількостях, ацетат (рис. 6). За цих у мов відбувається повне відновлення фумарату до сукцинату та повне використання лактату. Однак у середовищі із фумаратом, натрій лактатом і елементною сіркою бактерії уп'ятеро більше продукують гідроген сульфіду, ніж у середовищі із фумаратом і елементною сіркою (рис. 4 і 6).

Відновлення фумарату мікроорганізмами з використанням різних донорів електронів відбувається за участі двох інтегрованих у мембрану ферментів – фумаратредуктази та гідрогенази, які пов'язані між собою менахіном (Hedderich et al., 1999). Нагромадження сукцинату в результаті відновлення фумарату свідчить про те, що бактерії використовують фумарат як акцептор електронів (Kozlova, 2008). За використання фумарату бактеріями *Desulfuromonas sp.* як донора електронів відбувається його окиснення в циклі трикарбонових кислот до вуглекислого газу, при цьому у середовищі нагромаджується незначна кількість ацетату. Отримані результати вказують на те, що досліджувані бактерії використовують фумарат як акцептор і як донор електронів за анаеробних умов. Зазвичай у природних умовах одночасно виявляється декілька потенційних акцепторів електронів (Kozlova,

2008). Мікроорганізмам енергетично вигідніше спершу використати акцептори електронів із вищим окисно-відновним потенціалом. Дослідження використання фумарату *Desulfuromonas sp.* за наявності інших акцепторів електронів показало, що бактерії спершу використовують акцептори електронів із вищим окисно-відновним потенціалом. Така властивість мікроорганізмів – адаптивна відповідь на мінливі умови навколишнього середовища.

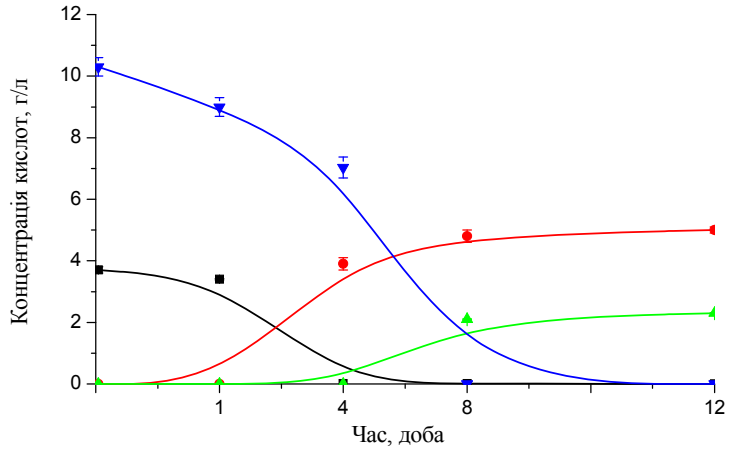


Рис. 5. Використання фумарату (—■—), нагромадження сукцинату (—●—) та ацетату (—▲—) бактеріями *Desulfuromonas sp.* у середовищі з фумаратом і натрій лактатом (M ± m, n = 3)

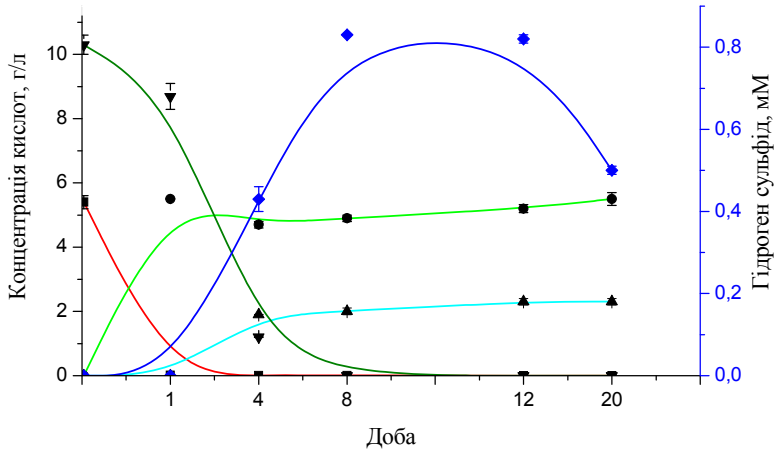


Рис. 6. Використання фумарату (—■—) та нагромадження сукцинату (—●—), ацетату (—▲—) та гідроген сульфіду (—♦—) бактеріями *Desulfuromonas sp.* у середовищі з фумаратом, натрій лактатом (—▼—) і елементною сіркою (M ± m, n = 3)

Висновки

Досліджено сульфідогенну активність бактерій *Desulfuromonas sp.* у середовищах з елементною сіркою та різними донорами електронів. Найвищу сульфідогенну активність бактерій *Desulfuromonas sp.* виявлено у середовищі з натрій лактатом і натрій піруватом. Бактерії найкраще ростуть у середовищі з малатом, натрій лактатом і фумаратом за наявності у середовищі елементної сірки.

Дослідження закономірностей використання фумарату бактеріями *Desulfuromonas sp.* за різних умов культивування показало, що за росту бактерій у середовищі з фумаратом у культуральній рідині нагромаджується сукцинат і незначна кількість ацетату. Наявність останнього, можливо, пов'язана з особливостями функціонування циклу трикарбонових кислот у бактерій роду *Desulfuromonas sp*. Фумарат у концентрації 6 г/л пригнічує сульфідогенну активність досліджуваних бактерій. За внесення у середовище з фумаратом додаткового джерела карбону (натрій лактату) та акцептора електронів (елементної сірки) спостерігали зростання сульфідогенної активності уп'ятеро. Таким чином, регуляція дихання у бактерій *Desulfuromonas sp.* спрямована на те, що спершу відновлюються енергетично найвигідніші акцептори електронів.

Бібліографічні посилання

Butler, J.E., Glaven, R.H., Esteve-Nunez, A., Nunez, C., Shelobolina, E.S., Bond, D.R., Lovley, D.R., Butler, J.E., 2006. Genetic characterization of a single bifunctional enzyme for fumarate reduction and succinate oxidation in *Geobacter sulfurreducens* and engineering of fumarate reduction in *Geobacter metallireducens*. J. Bacteriol. 188(2), 450–455.

Gebhardt, N.A.,Thauer, R.K., Linder, D., Kaulfers, P.-M., Pfennig, N., 1985. Mechanism of acetate oxidation to CO_2 with elemental sulfur in *Desulfuromonas acetoxidans*. Arch. Microbiol. 141, 392–398.

Hedderich, R., Klimmek, O., Kroger, A., Dirmeier, R., Keller, M., Stetter, K.O., 1999. Anaerobic respiration with elemental sulfur and with disulfides. FEMS Microbiol. Rev. 22, 353–381.

Kerem, Z., Bravdo, B., Shoseyov, O., Tugendhaft, Y., 2004. Rapid liquid chromatography – ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must. J. Cromatogr. A. 1052, 211–215.

Kozlova, I.P., Radchenko, O.S., Stepura, L.G., Kondratyuk, T.O., Pilyashenko-Novokhatnyy, A.I., 2008. Geoximichna diyalnist mikroorganizmiv ta yiyi prykladni aspekty [The geochemical activity of microorganisms and its practical aspects]. Naukova Dumka, Kyiv (in Ukrainian).

Kröger, A., Biel, S., Simon, J., Gross, R., Unden, G., Lancaster, C., Roy, D., 2002. Fumarate respiration of *Wolinella succinogenes*: Enzymology, energetics and coupling mechanism. Biochim. Biophys. Acta 1553, 23–38.

Lancaster, C., Roy, D., Simon, J., 2002. Succinate: Quinone oxido-reductases from e-proteobacteria. Biochim. Biophys. Acta 1553, 84–101.

Lemos, R.S., Fernandes, A.S., Pereira, M.M., Gomes, C.M., Teixeira, M., 2002. Quinol:fumarate oxidoreductases and succinate:quinone oxidoreductases: Phylogenetic relationships, metal centres and membrane attachment. Biochim. Biophys. Acta 1553, 158–170.

Postgate, J.R., 1984. The sulfate-reducing bacteria. 2nd ed. Cambridge University, Cambridge.

Sugiyama, M., 2002. Reagent composition for measuring hydrogen sulfide and method for measuring hydrogen sulfide. United States Patent, №6340596.

Thauer, R.K., 1988. Citric-acid cycle, 50 years on modifications and an alternative pathway in anaerobic bacteria. Eur. J. Biochem. 176, 497–508.

Zaunmüller, T., Kelly, D.J., Glöckner, F.O., Unden, G., 2006. Succinate dehydrogenase functioning by a reverse redox loop mechanism and fumarate reductase in sulphate-reducing bacteria. Microbiology 152, 2443–2453.

Chayka, O., Peretjatko, T., Gudz, S., 2010. Sirkovidnovlyuval'ni bakteriyi vodoym Yazivs'koho sirkovoho rodovyshcha [Sulfur reducing bacteria of Yazivske sulfur deposit]. Nauk. Visn. Uzhhorod. Univ. Ser. Biol. 28, 52–55 (in Ukrainian).

Надійшла до редколегії 07.08.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 338–346.

doi:10.15421/011644

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 616.98:579.873.21+614.48

Біологічні властивості дисоціативних L- та інших форм *Mycobacterium bovis*

О.А. Ткаченко[1], П.О. Давиденко[1], В.В. Зажарський[1], В.В. Бригадиренко[2]

[1]*Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпропетровськ, Україна*
[2]*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна*

Селекційовано расу змінених форм мікобактерій з особливими властивостями, що можуть виявитися перспективними для конструювання протитуберкульозної вакцини. Встановлено, що персистенція досліджуваних мікроорганізмів (27-ма субкультура некислотостійких паличок і L-форм) в організмі морських свинок триває дев'ять (період досліду) і більше місяців. Проте із суспензії, приготовленої із макроскопічно незмінених органів дослідних тварин, виділено кислотостійкі елементарні тільця (зерна) та типові морфологічні форми палички, які на щільному живильному середовищі утворили на третю добу помаранчеву культуру. Інокуляція виділених кислотостійких мікобактерій (культура-ревертант) морським свинкам (1 мг/см^3) не супроводжувалася розвитком алергічного стану (алергічна реакція на ППД-туберкулін (протеїн пурифайд дериват – сухий очищений білок) для ссавців та ААМ (алерген з атипових мікобактерій) через 30, 60 і 90 діб негативна), проте з органів евтанізованих через три місяці дослідних тварин виділено кислотостійкі мікобактерії, які на третю добу утворювали культуру помаранчевого кольору. Багаторазові пасажі через штучне живильне середовище (щільне), тривале перебування (20 місяців) за низької плюсової температури змінили генетичний баланс, що забезпечило виживання бактерій внаслідок втрати одних (характерних для патогенного мікроорганізму) та набуття інших (зокрема атипових) властивостей, частково притаманних іншим мікобактеріям. У той же час персистенція в організмі морських свинок типових морфологічних кислотостійких форм (палички), які реверсували з L-форм, не супроводжується розвитком захворювання. Вони зберігають здатність утворювати пігменти та утворюють колонії (культура-ревертант) на щільному живильному середовищі починаючи з першої генерації (з біологічного матеріалу морських свинок) на другу добу культивування. Втрата сенсибілізувальної здатності у мікобактерій, багаторазово пасажованих і персистуючих в організмі морських свинок, може свідчити (звичайно, тільки певною мірою) про втрату імуногенної здатності, оскільки відомо, що розвиток алергічної (туберкулінової) реакції та її інтенсивність свідчать про імунологічну перебудову макроорганізму (розвиток інфекційного процесу) з набуттям специфічної стійкості. Виявлено залишкову вірулентність досліджуваних змінених форм *Mycobacterium bovis* із можливим формуванням специфічного протитуберкульозного імунітету без розвитку необхідного рівня, який виявлявся діагностикумом алергічного стану, та утворення виразки на ділянці уведення зависі мікобактерій. Бактеріоскопія мазків-відбитків з органів евтаназованих (через 80 діб) тварин виявила некислотостійкі палички, зерна-тільця. У контролі маса тіла тварин тенденційно збільшується, а бактеріоскопічні дослідження (мазки-відбитки) виявляються негативними. Мікобактерії з новими, генетично закріпленими властивостями володіють здатністю стимулювати доброякісний інфекційний процес без розвитку алергії. Можливо, згасання активності генів, відповідальних за патогенні властивості, які визначаються окисно-відновними процесами (дегідрогеназна, каталазна активність тощо) та генами, які перебували в неактивному стані, інтенсифікують метаболічні процеси синтезу пігменту з пригніченням дії факторів (токсинів) патогенності. Не встановлено залежності між швидкістю розмноження (строки утворення колоній) та патогенністю, оскільки вихідна материнська культура (третя генерація) досліджуваних змінених форм *M. bovis* володіла високою вірулентністю та формувала колонії на другу-третю добу, не утворюючи пігменту та не володіючи вираженою дегідрогеназною та каталазною активністю. У статті розглянуто штами *M. bovis*, відмінні за біологічними властивостями від патогенних штамів.

Ключові слова: дисоціативні форми *Mycobacterium bovis*; ліпіди; середовище; температура

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ, 49027, Україна
Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Voroshilov Str., 25, Dnipropetrovsk, 49027, Ukraine
Tel.: +38-050-58-76-372. E-mail: zazharsky@yandex.ru

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагарина, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-050-93-90-788. E-mail: brigad@ua.fm

Biological properties of dissociative L- and other forms of *Mycobacterium bovis*

A.A. Tkachenko[1], P.O. Davydenko[1], V.V. Zazharskiy[1], V.V. Brygadyrenko[2]

[1]*Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine*
[2]*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine*

A race of modified forms of mycobacteria with special properties that can be promising for the construction of TB vaccines was selected It was found that the persistence of the researched microorganisms (27th subculture of acid-fast bacillus and the L-form) persisted for nine months (the period of research) and longer in the bodies of guinea pigs. However, from the suspension prepared from macroscopically unchanged organs of the experimental animals we found acid-proof elementary bodies (grains) and bacilli of typical morphological forms, which formed an orange culture on the nutrient medium on the third day after suspension seeding. The inoculation of guinea pigs with isolated acid-proof mycobacteria (culture-revertant) (1 mg/cm^3) was not accompanied by the development of allergic condition (allergic reaction to the tuberculin and AAM was negative at 30, 60 and 90 days); however, acid-proof bacilli, which formed an orange culture, were isolated on the the third day from experimental animals which had been subjected to euthanasia. Multiple passages through the artificial culture medium (dense), prolonged exposure (20 months) at low plus temperature changed the genetic balance, ensuring their survival as a result of the loss of some (specific to the pathogen) and the acquisition of new properties (especially atypical)which are partly inherent in other mycobacteria. At the same time, the persistence in the body of guinea pigs of typical morphological acid-proof forms (bacilli) that reverse from L-forms was not accompanied by the development of the disease. They are chromogenic and retain the ability to form colonies (culture-revertant) on dense nutrient medium from the first generation (from biological material of the guinea pigs) on the second day of cultivation. The loss of sensitization ability of *Mycobacterium bovis* which were passed many times and persistent in the body of guinea pigs can probably testify to the loss of immunogenic capacity, since the development of allergic (tuberculin) reaction, as well as its intensity, indicates an immunological restructuring of the microorganism (the development of an infection) with the parallel acquisition of the specific resistance. We observed a residual virulence of the researched modified forms of *M. bovis* with the possible formation of specific antiTB immunity without development of the necessary level, which was the indicator of allergic condition and ulceration of the site where the suspension of mycobacteria was introduced. Microscopy of smears of organs of the euthanized animals (after 80 days) revealled acid-nonproof bacilli, seeding cells. In the control, the weight of the animals tended to increase while the bacterioscopic research (smears) proved negative. Mycobacteria with new, genetically fixed properties have the ability to stimulate benign infectious process, without the development of allergies to the level required for the detection by PPD- for mammals AAM. However, it should be noted that perhaps the extinction of the activity of genes responsible for the pathogenic properties, which are determined by redox processes (dehydrogenase, catalase activity, etc.) and genes which were in a dormant state, activate metabolic processes of pigment synthesis with inhibition of the action of pathogenic factors (toxins). We did not find a relationship between the rate of reproduction (duration of colony formation) and pathogenicity because the original parent culture (third generation) of the investigated modified forms of *M. bovis* had a high virulence and formed colonies on the second or third day without forming pigment and did not express dehydrogenase and catalase activity. In this article we discuss strains of *M. bovis* which differ in biological properties from pathogenic strains.

Keywords: dissociative forms of *Mycobacterium bovis*; lipids; medium; temperature

Вступ

Мікобактерії взагалі й *Mycobacterium bovis* зокрема володіють генетично закладеною здатністю суттєво змінюватися як фенотипічно, так і генотипно: втрачаючи деякі антигени з одночасною появою інших, які для мікобактерій взагалі не нові (O'Reilly et al., 1995; Glickman et al., 2001; Anaelom et al., 2010; Perez-Lago et al., 2014). При цьому зміни можуть відбуватися за дії факторів довкілля та незалежно від них, що підтверджує лабільність закладеного в бактеріальній клітині геному з «дрімаючими» й активними та активувальними генами (rpf) (Yuan et al., 1996; Voskuil et al., 2003; Tufariello et al., 2004; Downing et al., 2005; Sherman et al., 2005).

Саме вони визначають ту чи іншу здатність мікобактерій на певній стадії розвитку, зберігаючи високу ймовірність реверсії у вихідну чи конверсії у наступну нову форму, з чітко вираженими постійними генетично закріпленими або тимчасовими (фенотипічними) ледь помітними властивостями: змінюється морфологія мікобактерій, культуральні, біохімічні та інші властивості, ліпідний склад (Krauss et al., 2003; Pavlik et al., 2004; Davies, 2006; De la Rua-Domenech, 2006). Зважаючи на такі механізми, мікобактерії (зокрема *M. bovis*) залишають багато нез'ясованих питань, пов'язаних у першу чергу з морфологією мікробної клітини, її біологічною активністю, здатністю набувати атипових властивостей. Важливі у цьому напрямі дослідження L- та інших форм *M. bovis* дисоціантів зі втраченою (зниженою або втраченою) сенсибілізувальною здатністю, які розмножуються за температури 3 ºС у динаміці пасажів через щільне середовище, оскільки праць такого спрямування у доступній нам літературі не знайдено. Тому мета цієї статті – з'ясувати біологічні властивості L- та інших форм дисоціантів *M. bovis*, культивованих за температур 3 і 37 ºС.

Матеріал і методи досліджень

Експерименти виконували в навчально-дослідній лабораторії кафедри епізоотології Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету з використанням змінених форм одного штаму *Mycobacterium bovis*, одержаних у 118-му пасажі через середовище Левенштейна – Йєнсена (pH – 7,1–7,2) за температури культивування 37 ºС та витриманих із початковим ростом поодиноких колоній (118-та субкультура) за температури 3 ºС упродовж 20 місяців. Досліджували ізольовані колонії в динаміці послідовних 60 пересівів. Аналізували швидкість росту культури, пігментоутворення за зміни pH середовища, морфологічні ознаки, тинкторіальні (мазки фарбували за методом Ціля – Нільсена) властивості змінених форм мікроорганізмів, культиво-

ваних за 3 і 37 ºС, ріст культури різних генерацій мікобактерій на простих живильних середовищах, на середовищі з умістом 0,5 і 1,0 мг/см^3 саліциловокислого натрію.

Загальновідомими методами досліджували дегідрогеназну та каталазну активності змінених мікобактерій вихідних культур і їх ревертантів, виділених з органів морських свинок, в організм яких інокульовано досліджувані *M. bovis*.

Для з'ясування кількісного та якісного вмісту вільних жирних кислот хроматографічним методом дослідили мікобактерії вихідних вірулентних культур (2, 59, 100), культивованих за 37 ºС, та дисоціативних форм, культивованих за 3 і 37 ºС (Haddad et al., 2004; Thoen et al., 2014). Із метою встановлення у тривалому досліді сенсибілізувальної здатності з використанням симультанної проби (ППД для ссавців та ААМ) та інших особливостей мікобактерій, пасажовані мікроорганізми, накопичені на щільному середовищі за температури 3 ºС, інокулювали (разово в дозі 1 мг/см^3) чотирьом морським свинкам, з яких дві евтаназували через три, а інших – через дев'ять місяців від початку досліду, з наступним бактеріологічним дослідженням біологічного матеріалу від них і повторною інокуляцією виділеної культури (ревертант) дослідним морським свинкам.

Можливість викликати інфекційний процес туберкульозу досліджуваними мікобактеріями вивчали шляхом дворазової інокуляції (1 мг/см^3 з інтервалом через 1,5 місяця) свинкам мікобактерій, культивованих за 3 і 37 ºС. Реакцію макроорганізму на введені мікобактерії оцінювали кожні 10 діб. Визначали масу тіла, строки формування виразки в ділянці уведення зависі мікобактерій, розвиток підвищеної чутливості сповільненого типу (симультанна проба з ППД для ссавців кожні 30 діб) та патолого-анатомічні зміни (через три місяці від початку другого уведення зависі мікроорганізмів). Для контролю в дослідах використовували *M. bovis* патогенного материнського штаму.

У дослідженнях застосовували методики, передбачені відповідними положеннями (Haddad et al., 2004; Thoen et al., 2014).

Результати та їх обговорення

Вивчаючи ріст мікобактерій на щільному яєчному середовищі однієї пробірки за температури 3 ºС після 118-разового пасажування через середовище з pH 7,1–7,2 відмітили, що за 20-місячний термін впливу цього температурного режиму культивування характер культури та кількісний склад колоній суттєво змінився. До розміщення культури в умовах низької температури зафіксовано п'ять дрібних колоній, після – наліт, одна велика шорстка колонія та десять дрібних. Мікроскопією мазків, приготовлених з окремих колоній, які сформувалися в умовах культивування 37 та 3 ºС, виявлено кислотостійкі короткі, товсті та тонкі, прямі та вигнуті із заокругленими кінцями та вираженою зернистістю палички, які розміщувалися скупченнями. Провівши посів на живильне середовище зависі мікобактерій, приготовленої з ізольованих колоній, та культивуючи *M. bovis* за температури 3 ºС на 12-ту добу, виявили слабкий ріст окремих поодиноких дрібних правильної форми гладеньких сіро-білих колоній (визначених нами як друга генерація субкультури), які у подальшому формували суцільний ріст по лінії посіву (рис. 1).

Рис. 1. Культура *M. bovis* другої генерації за 3 ºС

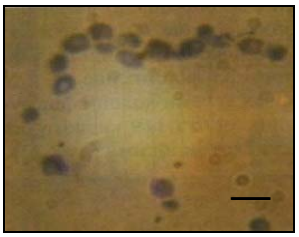


Рис. 2. L-форми *M. bovis* другої генерації: бар – 1 мкм

Мікроскопією мазків, приготовлених із культури, встановлено некислотостійкі овали (L-форми) з різною оптичною щільністю поверхні та поодинокі кислотостійкі елементарні тільця (рис. 2). У контролі *M. bovis* 100-ї субкультури патогенного штаму за температури 3 ºС росту не виявили.

Висіявши на середовище шести пробірок зависі мікобактерій, приготовану з одержаної культури другої генерації, й культивуючи її за температури 3 і 37 ºС, первинний ріст вологих кремових колоній виявили на 11- і 25-ту добу спостереження, відповідно. Мікроскопією мазків, виготовлених із виявлених колоній (за 3 і 37 ºС), встановлено як некислотостійкі овали з різною оптичною щільністю поверхні (L-форми), так і кислотостійкі елементарні тільця.

Необхідно зазначити, що, за більшістю літературних даних, трансформовані в L-форми *M. bovis*, як і інші види мікобактерій, не культивуються на щільних живильних середовищах. Для цього використовуються спеціальні напіврідкі середовища за присутності осмотичних факторів. Окремі повідомлення свідчать (Tkachenko et al., 2010), що такі форми збудника розмножуються і на щільних середовищах, утворюючи колонії, що підтверджено нашими дослідженнями.

Вивчення патогенних і сенсибілізувальних властивостей одержаних культур за температур 3 і 37 ºС на морських свинках свідчило, що мікобактерії не викликають туберкульозних патолого-анатомічних змін, не сенсибілізують організм тварин щодо ППД для ссавців.

Провівши сім прямих пасажів досліджуваних мікроорганізмів через щільне живильне середовище та культивуючи *M. bovis* за температур 3 і 37 ºС, ріст культури за 3 ºС відмітили на п'яту добу, а за 37 ºС – на четверту добу. За цих умов мікобактерії у першому випадку продукували помаранчевий, у другому – кремовий пігмент. Мікроскопія мазків, приготовлених із культур (рис. 3), виявила некислотостійкі довгі та короткі, товсті

та тонкі, вигнуті та прямі, із заокругленими кінцями зернисті палички та кислотостійкі елементарні тільця та L-форми за 3 ºС, L-форми та інші утвори – за 37 ºС культивування. Стосовно останніх необхідно зазначити, що в материнській культурі на ранніх етапах морфогенезу ниткоподібні некислотостійкі мікобактерії звільняли кислотостійкі зерна, з яких утворювались типові клітини *M. bovis*, на що ми звернули увагу ще у 2008 році (Tkachenko et al., 2008). Із часом (через 60–80 пасажів) некислотостійкі форми цього самого варіанта збудника ниткоподібні мікроорганізми (рис. 3) звільняють некислотостійкі структурні елементи – зерна, з яких формуються L-форми (на початку видовжені) із різною оптичною щільністю поверхні.

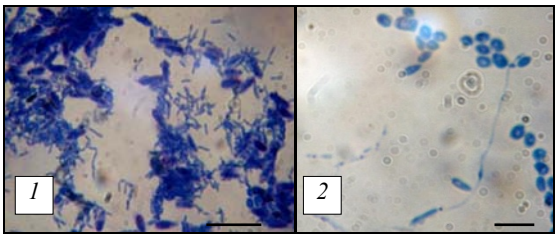


Рис. 3. L- та інші форми *M. bovis*, культивовані за температури 3 ºС (*1*) і 37 ºС (*2*): бар – 1 мкм

Вивчення патогенних, сенсибілізувальних властивостей досліджуваних субкультур мікобактерій десятої генерації, одержаних за різних температур культивування, свідчило, що морські свинки залишаються живими, не реагуючи на ППД для ссавців упродовж тримісячного досліду. Здійснивши ще десять пасажів мікобактерій досліджуваних субкультур через щільне живильне середовище, встановили суттєве пришвидшення формування колоній, порівняно з десятою генерацією, тільки за температури культивування 37 ºС (з 4 до 2 діб). Мікроскопія мазків, приготовлених із культур, свідчила, що за температури культивування 3 ºС генеруються некислотостійкі, довгі та короткі, тонкі вигнуті та прямі із заокругленими кінцями зернисті палички, L-форми (овали) та ледь червонуваті поодинокі елементарні тільця, за 37 ºС – некислотостійкі, переважно короткі, зернисті, вигнуті та прямі палички, L-форми та кислотостійкі елементарні тільця.

Наступні дослідження мікобактерій, пасажованих за різних температур (15-ї генерації), провели на простих живильних середовищах (МПА та МПБ). У контролі патогенні *M. bovis* (100-та субкультура досліджуваного варіанта), на середовищі Левенштейна – Йєнсена за 37 ºС росли на 23-тю добу, а за 3 ºС росту культури не виявлено упродовж тримісячного спостереження. На МПА та МПБ мікобактерії патогенного штаму не росли, а змінені мікроорганізми проявляли ріст на тругутретю добу досліду. На агарі відмічено суцільний ріст по лінії посіву світло-сірої культури, яка мала тенденцію до збільшення в часі. У бульйоні на початку росту культури відмічено світло-сіру плівку на поверхні, слабке помутніння з наступним утворенням осаду. Через три тижні, за наявності плівки та помутніння, рівень осаду збільшився в 4–6 разів.

Мікроскопією мазків, приготовлених із тижневих культур (3 ºС) на МПА, виявлено некислотостійкі короткі та довгі, товсті прямі та вигнуті із заокругленими кінцями зернисті палички, некислотостійкі зерна та L-форми, за 37 ºС – некислотостійкі елементарні тільця та L-форми. У культурі МПБ за 3 ºС – некислотостійкі короткі та довгі товсті, прямі та вигнуті зернисті із заокругленими кінцями палички та некислотостійкі зерна, за 37 ºС – кислото- та некислотостійкі зерна та L-форми.

Через три тижні мікроскопією мазків, приготовлених із плівки та осаду МПБ, виявили у першому випадку (за 3 і 37 ºС) практично однаковий, порівняно з тижневою культурою, за морфологією й тинкторіальними властивостями малюнок. Проте в осаді (за 3 ºС) палички різної форми та довжини виявилися некислотостійкими, у плівці кислото- та некислотостійкими, а за 37 ºС – тільки кислотостійкими. Важливі дані одержані за одночасного пасажу L-форм через щільне середовище Левенштейна – Йєнсена за різних температур культивування. Вивчаючи під імерсією мазки, приготовлені із дещо помаранчевого кольору субкультури першої генерації, в умовах культивування за температури 3 ºС відмічено (рис. 4) наявність L-форм (видовжені овали, із деяких виштовхуються зерна) та зернистих паличок (короткі та більш довгі). В умовах термостата (культивування жовтуватої субкультури, яка легко емульгувалася) зареєстровано тільки L-форми з різною оптичною щільністю поверхні (практично круглої форми) та поодинокі зернисті палички. У третій генерації, в умовах холодильника, субкультуру формували L-форми (видовжені овали), палички й зерна; у четвертій в умовах термостата – L-форми (круглі) та поодинокі паличкоподібні утворення.

П'яту субкультуру культивували за 3 ºС. Вона характеризувалася видовженими L-формами, паличкоподібними та зернистими некислотостійкими елементами. Сьома субкультура (термостат) формувалася практично винятково L-формами (круглими) та поодинокими товстими зернистими короткими та довгими паличками.

У мазку сьомої субкультури, одержаної за 3 ºС, виявлені видовжені L-форми, з яких звільняються зернисті форми та короткі палички. У дев'ятій субкультурі (термостат) у полі зору мікроскопа зафіксовані тільки L-форми, круглої форми та злегка червонуваті, поодинокі, елементарні тільця.

Мазок із восьмої субкультури (3 ºС) характеризувався наявністю тих самих форм мікобактерій, що й у сьомій.

У мазку, приготованому з 12-ї субкультури, що одержана в термостаті, виявлені L-форми та елементарні тільця (зерна) з ледь червонуватим відтінком. У субкультурі 10-ї (3 ºС) та 18-ї (37 ºС) генерацій суттєвих змін, порівняно з попередніми дослідженнями мазків, не виявлено. Хоча в мазку як першої, так і другої культур, зафіксовано зернисті палички. У 12-й субкультурі (3 ºС) виявлено видовжені L-форми, з яких звільняються некислотостійкі зерна та палички, як короткі, так і довгі, та поодинокі ледь червонуваті елементарні тільця; у 19-й субкультурі (термостат) – L-форми, довгі, короткі зернисті палички та елементарні тільця з червонуватим відтінком. 20-та (3 ºС) та 21-ша (37 ºС) генерації характеризувалась тими самими морфологічними формами мікобактерій, що і 12- і 19-та.

Узагальнюючи динаміку морфологічних ознак, тинкторіальних властивостей і характер росту культур змінених форм *M. bovis* (у тому числі L-форм), робимо незаперечний висновок, що за умов низької температури (3 ºС) у

часі генеруються, на фоні стабільності культури, некислотостійкі зерна, зернисті палички, зі зменшенням їх кількості в часі порівняно з вихідною культурою, L-форми.

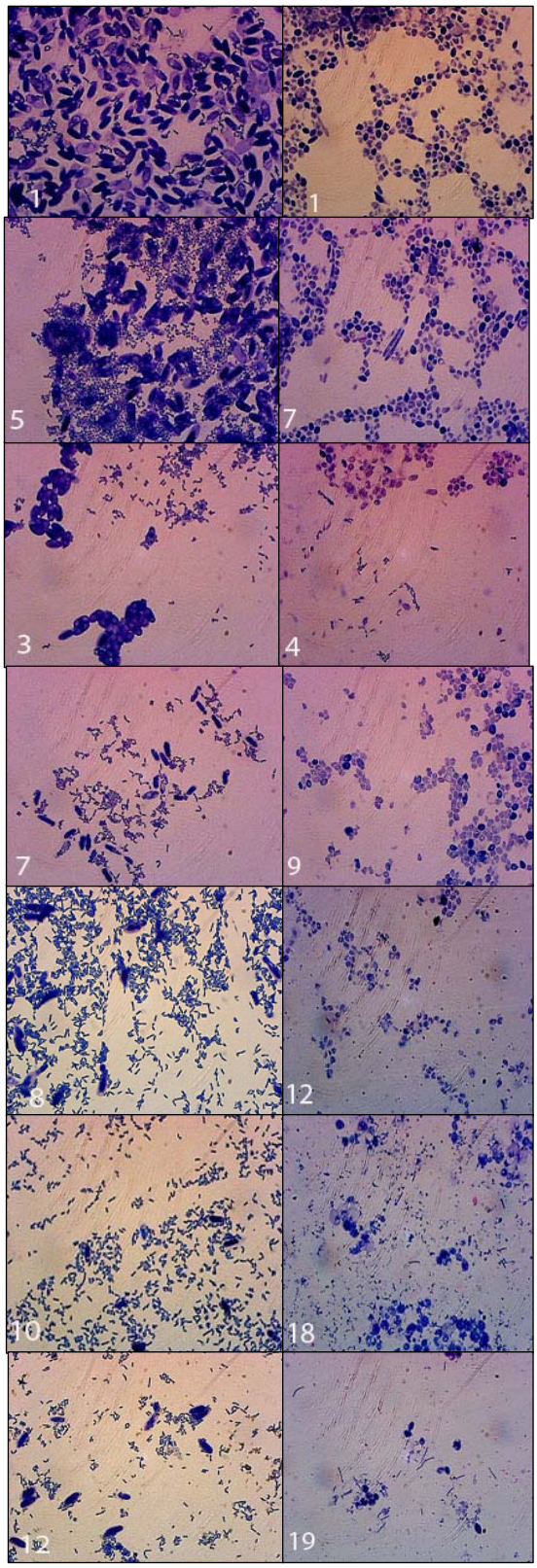


Рис. 4. L- та інші форми *M. bovis*, пасажовані через щільне живильне середовище: зліва – за температури 3 ºС, справа – за 37 ºС: бар – 1 мкм; цифрами на фотографіях позначено номер субкультури

В умовах термостата на фоні зменшення кількості та зміни морфології L-форм з'являються некислотостійкі зерна, короткі та ниткоподібні палички та поодинокі червонуваті елементарні тільця, які, напевно, змінюють характер росту культури. Якщо за відсутності елементарних тілець культура у вигляді суцільного росту по лінії висіву зависі досліджуваних мікроорганізмів інтенсивно росла, то з появою елементарних тілець (через 4–5 діб культивування) вона начебто провалювалася під власним тиском у середовище: із часом культура витончувалася, а через 2–4 тижні середовище «стікало», що свідчить про незвичайні, особливі властивості цих форм *M. bovis*.

Водночас, наші (Tkachenko et al., 2008, 2010) попередні дослідження неодноразово свідчили, що швидкість розмноження досліджуваного штаму мікобактерій, зниження ступеня вірулентності, зміна якісного та кількісного складу вільних жирних кислот суттєво залежать від pH середовища. Тому в цьому напрямі необхідними виявилися дослідження впливу вмісту протонів у середовищі на пігментоутворення, морфологію та тинкторіальні властивості форм мікобактерій за температури культивування 3 ºС (за 37 ºС пасажовані мікобактерії на цьому етапі досліджень втратили здатність рости на середовищі).

Пересіявши досліджувані мікроорганізми та оцінивши характер росту культур до 26-ї (середовище з pH 7,1–7,2) і наступних (з 27-ї по 37-му) генерацій, відмітили, що злегка помаранчевого кольору культура *M. bovis* (рис. 5) на середовищі з pH 6,5 із часом (через 2–3 тижні) набувала інтенсивнішого забарвлення, на середовищі із pH 7,1–7,2 – залишалася майже такою самою (ставала злегка помаранчевою) упродовж трьох місяців культивування.

Вивчаючи під імерсією мазок, приготовлений з культури 26-ї генерації мікобактерій, виявили (рис. 6) переважну більшість некислотостійких зернистих форм, інколи (рідко) кислотостійкі палички та, досить рідко, товсті (15–20 мкм) темно-сині палички з однією щільністю поверхні. Перший пересів таких різних форм із 26-ї генерації на середовище з pH 6,5 супроводжується появою значної кількості синіх овалоподібних форм (із темними зернами в центрі) з різною оптичною щільністю поверхні, дрібних зерен, інколи з червоним відтінком, які розташовуються тільки навколо та поблизу овалів (синіх). що свідчить про «виштовхування» зерен з овалів. Подібне виявлено в мазку, приготовленому з культури 33-ї та 37-ї генерації: проте відмічено також незначну кількість синіх утворень, які набули форми товстих овалоподібних зернистих паличок. На та поблизу них (або «виштовхуються» з них) розташовані дрібні некислотостійкі (дуже рідко кислотостійкі) зернисті форми (0,1–0,2 мкм). Типових форм паличок збудника туберкульозу в цій та попередній генераціях (навіть некислотостійких) не виявлено.

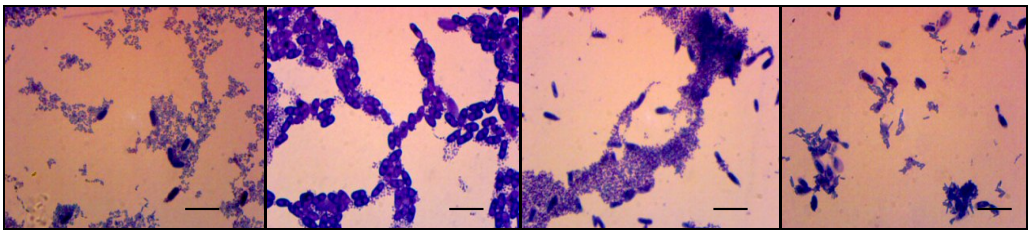
Провівши ще 10 пересівів, установили, що у перші п'ять (41–45-й) ріст культури відмічався з четвертої доби, як правило, у вигляді кремового нальоту по лінії посіву з наступним формуванням окремих великих сухих колоній помаранчевого кольору (рис. 7). У той же час 45-та субкультура виявилася слизовою та в'язкою. У мазку, приготовленому із субкультури цього пересіву

під імерсією мікроскопа, виявлено некислотостійкі зернисті та некислотостійкі великі (у 12 разів більші за палички) видовжені овали з однією щільністю поверхні, з яких «виштовхуються» короткі палички (рис. 8).

У наступні п'ять пересівів (рис. 9) культура залишалася слизовою, а її ріст характеризувався через одну–шість діб зміною пігменту (із помаранчевого на жовтуватий).

а *б*

Рис. 5. Культура L- та інших форм *M. bovis*:
а – на середовищі з pH 7,1–7,2, *б* – на середовищі з pH 6,5



26 *27* *33* *37*

Рис. 6. L- та інші форми M. bovis: 26 – 26-та генерація (pH середовища 7,1–7,2), 27, 33, 37 – відповідно 27-, 33- та 37-ма генерації (pH середовища 6,5); бар – 1 мкм

Рис. 7. Культура змінених *M. bovis*: 45-й пасаж за 3 °С

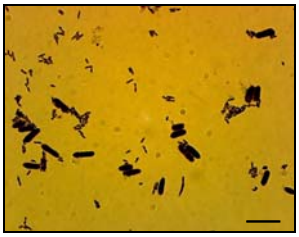


Рис. 8. L- та інші форми *M. bovis*:
45-й пасаж за 3 °С, бар – 1 мкм

У полі зору мазка, приготовленого з культури 50-го пересіву, виявлено практично такі самі форми мікроорганізмів: на фоні некислотостійких зернистих овалів (L-форми) зареєстровано також некислотостійкі зерна, які звільняються з них і розташовуються між ними (рис. 10). На 60-му пересіві встановлено культуру та морфологічні форми мікобактерій, ідентичні 50-й субкультурі. Отже, культивування дисоціативних форм *M. bovis* за низьких температур (3 ºС) на середовищі з різним pH супроводжується, на фоні стабільності утворення пігменту за pH < 7, стабільністю морфологічних форм мікобактерій.

Рис. 9. Культура *M. bovis* дисоціативних форм 118-го варіанту: 50-й пасаж за 3 °С

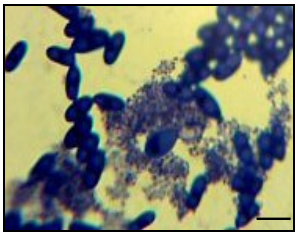


Рис. 10. *M. bovis* дисоціативних форм 118-го варіанту:
50-й пасаж за 3 °С, бар – 1 мкм

Необхідними виявились дослідження можливих морфологічних змін за тривалого збереження культури. Тому мікроскопію мазків, приготовлених із незміненої за виглядом і формою 27-ї субкультури, витриманої за температури 3 ºС, провели через 15 місяців. Установлено (рис. 11) некислотостійкі короткі та більш довгі зернисті палички та кислотостійкі елементарні тільця (зернисті форми).

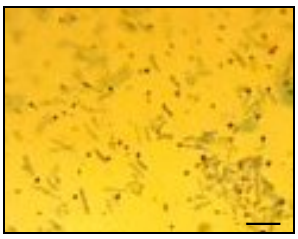


Рис. 11. Елементарні тільця та некислотостійкі форми паличок *M. bovis*: культивування за температури 3 ºС упродовж 15 місяців, бар – 1 мкм

Дослідивши на четверту добу помаранчево-червонуватий суцільний по лінії посіву ріст культури (рис. 12) четвертої генерації, морфологію та тинкторіальні властивості L-форм на середовищі Левенштейна – Йєнсена без саліциловокислого натрію за 3 ºС виявили некислотостійкі утворення (рис. 13) з червонуватою оболонкою та темними зернами всередині овальної видовженої форми (швидше паличкоподібні). З деяких із них звільняються злегка червонуваті зерна та палички.

Рис. 12. Культура L-форм *M. bovis* (контроль)

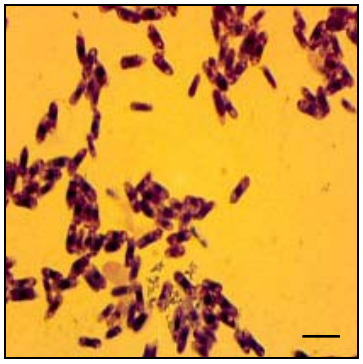


Рис. 13. L- та інші форми *M. bovis*: бар – 1 мкм

Культура, одержана на середовищі з умістом 1 мг/см^3 саліциловокислого натрію, сформувалася на шосту добу: слизова сіро-жовтуватого кольору по лінії посіву (рис. 14). Мікроскопія мазка (рис. 15), приготовленого з культури, свідчила про наявність мікроорганізмів, як і в контролі та за вмісту 0,5 мг/см^3 саліциловокислого натрію, проте з чіткіше вираженим забарвленням у червоний колір усієї клітини крім темних зерен усередині.

Рис. 14. Культура L-форм *M. bovis*: 1,0 мг/см^3

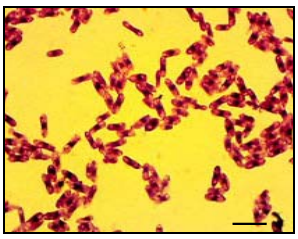


Рис. 15. Культура L-форм *M. bovis*: бар – 1 мкм

За 37 ºС культивування на середовищі без саліциловокислого натрію ріст культури відмічено на 15-ту добу, а з його вмістом росту не виявлено.

У той же час у вихідних змінених форм, а також їх культур-ревертантів (виділених з органів морських свинок, яким інокульовано досліджувані варіанти вихідних мікроорганізмів – кислотостійкі палички) виявлено підвищення окисно-відновних реакцій (дегідрогеназна та каталазна активності) з одночасною втратою вірулентності мікобактерій, у тому числі у культур-ревертантів.

Отже, результати експериментів свідчили, що L- та інші форми набули властивостей атипових мікобактерій.

Аналізуючи результати досліджень вмісту вільних жирних кислот у *M. bovis* типових вірулентних і змінених авірулентних форм, відмітили появу нової коротколанцюгової ундеканової кислоти в останніх. При цьому її синтез за 3 ºС виявився в 15,6 раза інтенсивнішим, ніж за 37 ºС. У той же час за 3 ºС культивування не синтезувалися до рівня, щоб їх можна було ідентифікувати використанним методом, лауринова й арахінова кислоти, які виявлялися у вірулентних мікобактеріях. За 37 ºС культивування авірулентних мікобактерій не виявлено тільки одну з них (лауринову кислоту). Це свідчить про глибокі зміни метаболізму мікробної клітини, які, безперечно, зумовлені необхідністю її виживання в умовах низьких плюсових температур, що супроводжувалися розмноженням і утворенням колоній.

Вміст вільних жирних кислот змінених мікобактерій суттєво змінився порівняно з *M. bovis* вірулентної материнської культури. Скелетні вільні жирні кислоти (пальмітинова, олеїнова, стеаринова) у мікобактеріях дисоціативних форм залишалися у високій концентрації, що свідчить про незалежність їх вмісту від зміни властивостей мікобактерій, їх біологічної активності. Тобто зміна культуральних, тинкторіальних, вірулентних, біохімічних та інших властивостей і морфологічних ознак не викликає суттєвої зміни вмісту скелетних вільних жирних кислот. У той же час співвідношення коротко- та довголанцюгових вільних жирних кислот у вірулентних субкультур (100+124 / 2) й авірулентних мікобактерій (L- та інших форм) становило 9,94 : 1, 5,51 : 1 (3 ºС) та 5,31 : 1 (37 ºС) відповідно. Це суперечить загальноприйнятим уявленням, оскільки у вірулентних мікобактерій не змінених морфологічних форм відмічається значно нижчий вміст коротколанцюгових вільних жирних кислот порівняно з довголанцюговими. Оскільки дослідження дисоціативних форм, одержаних в умовах низьких температур, проведені вперше, можливо, така закономірність співвідношення коротко- та довголанцюгових кислот притаманна саме багаторазово пасажованим і генетично модифікованим мікобактеріям, що визначається особливістю їх метаболізму. Порівнюючи

аналогічні дані досліджень для *M. bovis*, пасажованих за температури 37 ºС вірулентних мікобактерій вихідної материнської культури (друга субкультура), відмітили, що співвідношення аналізованих кислот принципово відрізняється від попередніх (1,84 : 1). Проте у мікобактерій 59-ї субкультури співвідношення цих кислот дорівнювало 4,89 : 1. Це свідчить про поступову зміну співвідношення синтезу кислот у процесі пасажів через штучне живильне середовище.

Вміст ненасичених вільних жирних кислот, які характеризують адаптивні процеси метаболізму мікробної клітини, виявився у пальмітоолеїнової та олеїнової – нижчим у дисоціативних форм мікобактерій, у лінолевої та ліноленової – значно вищим, ніж у вірулентних мікроорганізмів материнської культури.

Можливо, саме ці особливості вмісту ненасичених жирних кислот у дисоціативних форм мікобактерій (L- та інші форми) визначають ступінь вірулентності, який могли б характеризувати довголанцюгові кислоти, оскільки зниження вмісту ненасичених кислот, які, за даними Л.М. Моделя (Model, 1952), відповідають за гальмування лейкопротеаз. Тобто їх низький вміст підвищує активність захисних факторів макроорганізму, що, відповідно, забезпечує нейтралізацію довголанцюгових вільних жирних кислот і, можливо, визначає загальну авірулентність досліджуваних форм мікобактерій, у яких вміст ненасичених жирних кислот практично такий самий за високого вмісту довголанцюгових вільних жирних кислот у патогенних мікобактерій: співвідношення ненасичених до довголанцюгових кислот становить 4,63 : 1, у авірулентних – 3,34 : 1 (3 ºС) та 2,69 : 1 (37 ºС).

Необхідно зазначити, що у другій генерації материнської культури досліджуваного штаму аналізовані показники складали 1 : 1,26, тобто вміст довголанцюгових вільних жирних кислот суттєво перевищував вміст ненасичених кислот. Проте вже в 59-й субкультурі аналізоване співвідношення становило 2,38 : 1, що свідчить про послідовні, тенденційні зміни синтетазних систем мікробної клітини, зумовлені, беззаперечно, її пристосуванням до зміни умов довкілля. Через це порушуються не тільки хімічні, а й фізичні зв'язки компонентів клітини (ліпіди, протеїни, вуглеводи), що викликає появу комплексів із новими якостями та властивостями, й, напевно, зміну генотипу.

Але чи постійні такі явища в досліджуваних дисоціативних формах *M. bovis*?

Персистенція досліджуваних мікроорганізмів (27-ма субкультура некислотостійкі палички та L-форми) в організмі морських свинок триває дев'ять (період досліду) і більше місяців. Проте із суспензії, приготовленої з макроскопічно незмінених органів дослідних тварин, виділені кислотостійкі елементарні тільця (зерна) і типові морфологічні форми паличок, які на щільному живильному середовищі утворювали на третю добу після висіву суспензії помаранчеву культуру.

Інокуляція виділених кислотостійких мікобактерій (культура-ревертант) морським свинкам (1 мг/см^3) не супроводжувалася розвитком алергічного стану (алергічна реакція на туберкулін та ААМ через 30, 60 і 90 діб негативна), проте з органів евтанізованих через три місяці дослідних тварин виділені кислотостійкі мікобактерії, які на третю добу утворювали культуру помаранчевого кольору.

Очевидно, багаторазові пасажі через щільне штучне живильне середовище, тривале перебування (20 місяців) в умовах низької температури змінили генетичний баланс, що забезпечило їм виживання внаслідок втрати одних (характерних для патогенного мікроорганізму) та набуття нових властивостей, частково притаманних іншим мікобактеріям, зокрема, атипових. У той же час персистенція в організмі морських свинок типових морфологічних кислотостійких форм (палички), які реверсували з L-форм, не супроводжується розвитком захворювання. Вони залишаються пігментотвірними та зберігають здатність утворювати колонії (культура-ревертант) на щільному живильному середовищі починаючи з першої генерації (з біологічного матеріалу морських свинок) на другу добу культивування.

Втрата сенсибілізувальної здатності у мікобактерій, багаторазово пасажованих і персистуючих в організмі морських свинок, може свідчити, звичайно, тільки певною мірою, про втрату імуногенної здатності, оскільки відомо, що розвиток алергічної (туберкулінової) реакції та її інтенсивність свідчать про імунологічну перебудову макроорганізму (розвиток інфекційного процесу) з набуттям специфічної стійкості. Проте результати експерименту свідчили, що один із різноманітних показників клінічного прояву інфекційного процесу – зміна маси тіла морських свинок, в організм яких інокулювали 1 мг/см^3 досліджуваних мікобактерій, має певну закономірність динаміки: на 10- та 20-ту добу досліду маса тіла підвищилася на 25 і 45 г відповідно, на 35-ту добу вона знизилася порівняно з 20-ю добою на 35 г із наступним підвищенням на 50 г на 46-ту добу. Однак через 50 діб, на друге введення 1 мг/см^3 таких форм мікобактерій, подібне зниження маси тіла відмічене через 15–20 діб із наступним вирівнюванням попередньої позитивної динаміки аналізованого показника. Це може свідчити про залишкову вірулентність досліджуваних змінених форм *M. bovis* із можливим формуванням специфічного протитуберкульозного імунітету без розвитку необхідного рівня, який виявлявся діагностикумом алергічного стану та утворення виразки на ділянці уведення зависі мікобактерій.

Бактеріоскопія мазків-відбитків з органів евтаназованих через 80 діб тварин виявила некислотостійкі палички, зерна-тільця. У контролі маса тіла тварин тенденційно збільшувалася, а бактеріоскопічні дослідження (мазки-відбитки) виявилися негативними. Очевидно, мікобактерії з новими, генетично закріпленими властивостями володіють іншою здатністю стимулювати доброякісний інфекційний процес, без розвитку алергії необхідного рівня, щоб вона виявлялася ППД для ссавців та ААМ.

Можливо, згасання активності генів, відповідальних за патогенні властивості, які визначаються окисно-відновними процесами (дегідрогеназна, каталазна активності тощо) та генами, які активізувалися (перебували в «дрімаючому» стані), активізують процеси синтезу пігменту з пригніченням дії токсинів патогенності.

Ми не встановили залежності між швидкістю розмноження (строки утворення колоній) і патогенністю, оскільки вихідна материнська культура (третя генерація)

досліджуваних змінених форм *M. bovis* володіла високою вірулентністю та формувала колонії на другу–третю добу, не утворюючи пігменту та не володіючи вираженою дегідрогеназною та каталазною активністю (Manachenko et al., 1994).

Отже, селекційована раса змінених форм мікобактерій з особливими властивостями може виявитися перспективною для конструювання протитуберкульозної вакцини.

Висновки

Селекційна раса змінених форм *M. bovis*: L-форми за пасажів через щільне середовище за температури 3 ºС, змінюючись морфологічно, переходить у некислотостійкі паличкові, кокові форми, за 37 ºС – у некислотостійкі (інколи кислотостійкі) елементарні тільця (зерна); за температури 3 ºС ріст на щільному селективному живильному середовищі помаранчевої культури відбувається на другу–третю добу культивування (інколи на 24-ту годину), за 37 ºС – жовтуватої культури в такі самі строки, але після 20 пересівів відбувається слабкий ріст культури за цієї температури, який із часом припиняється; на МПА та МПБ *M. bovis* ростуть (3 і 37 ºС, останні субкультури з 26-ї генерації тільки за 3 ºС) на першу–другу добу культивування; на середовищі з умістом саліциловокислого натрію за низької температури *M. bovis* ростуть на шосту добу, а за 37 ºС – на 15-ту; володіють вираженою дегідрогеназною та каталазною активностями; авірулентні – упродовж дев'яти місяців частково реверсують у кислотостійкі морфологічні форми, не викликаючи туберкульозу в морських свинок, володіють низькою або не володіють узагалі сенсибілізувальною здатністю (щодо ППД для ссавців, у тому числі ААМ), не утворюють виразки на ділянці уведення мікобактерій; у першій генерації культура – ревертант (виділена з органів морської свинки) на другу добу утворює помаранчеву культуру; бактерії синтезують нові коротколанцюгові вільні жирні кислоти, які не виявляються у вірулентних мікобактерій материнської культури.

Бібліографічні посилання

Anaelom, N.J., Ikechukwu, O.J., Sunday, E.W., Nnaemeka, U.C., 2010. Zoonotic tuberculosis: A review of epidemiology, clinical presentation, prevention and control. J. Public Health Epidemiol. 2(6), 118–124.

Davies, P.D.O., 2006. Tuberculosis in humans and animals: Are we a threat to each other? J. R. Soc. Med. 99(10), 539–540.

Davydenko, P.O., Bilan, M.V., Tkachenko, O.A., 2010. Sensybilizuval'ni, virulentni vlastyvosti ta lipidnyj sklad *M. bovis*, bagatorazovo pasazhovanyh cherez shhil'ne zhyvyl'ne seredovyshhe z pH 7,1 [Sensitizing, virulence properties and lipid composition of *M. bovis* in nutrient medium with pH 7.1]. Veterynarna Medycyna Ukrajiny 2, 20–22 (in Ukrainian).

De la Rua-Domenech, R., 2006. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. Tuberculosis 86, 77–109.

Downing, K.J., Mischenko, V.V., Shleeva, M.O., Young, D.I., Young, M., Kaprelyants, A.S., Apt, A.S., Mizrahi, V., 2005. Mutants of *Mycobacterium tuberculosis* lacking three of the five rpf-like genes are defective for growth *in vivo* and for resuscitation *in vitro*. Infect. Immun. 73, 3038–3043.

Glickman, M.S., Jacobs, Jr, W.R., 2001. Microbial pathogenesis review of *Mycobacterium tuberculosis*: Dawn of a discipline. Cell 104, 477–485.

Haddad, N., Masselot, M., Durand, B., 2004. Molecular differentiation of *Mycobacterium bovis* isolates. Review of main techniques and applications. Res. Vet. Sci. 76, 1–18.

Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, B., Isenberg, D.H., Schiefer, G.H., Slenczka, W., von Graevenitz, A., Zahner, H., 2003. Zoonoses: Infectious diseases transmissible from animals to humans. 3rd ed. Amer. Society for Microbiology.

Model, L.M., 1952. Byologyja y byohymyja tuberkuleznyh mykobakteryj [Biology and biochemistry of *Mycobacterium*]. AMN SSSR, Moscow (in Russian).

O'Reilly, L.M., Daborn, C.J., 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: A review. Tuber. Lung. Dis. 76, 1–46.

Pavlik, I., Jahn, P., Dvorska, L., Bartos, M., Navotny, L., Halouzka, R., 2004. Mycobacterial infections in horses: A review of the literature. Vet. Med. Czech. 49(11), 427–440.

Perez-Lago, L., Navarro, Y., Garcia-de-Viedma, D., 2014 Current knowledge and pending challenges in zoonosis caused by *Mycobacterium bovis*: A review. Res. Vet. Sci. 97, S94–S100.

Sherman, D.R., Voskuil, M., Schnappinger, D., Liao, R., Harrell, M.I., Schoolnik, G.K., 2001. Regulation of the *Mycobacterium tuberculosis* hypoxic response gene encoding alphacrystallin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 7534–7539.

Thoen, C.O., Steele, J.H., Kaneene, J.B. (eds.), 2014. Zoonotic tuberculosis *Mycobacterium bovis* and other pathogenic mycobacteria. 3rd ed. John Wiley and Sons, Chichester, UK.

Tkachenko, O.A., Bilan, M.V., Miskiv, V.V., Davydenko, P.O., Zazhars'kyj, V.V., 2010. Biologichni vlastyvosti dysociatyvnyh form *M. bovis*: Kul'tural'ni osoblyvosti za temperatur 3 i 37 °C [Biological properties of dissociative forms of *M. bovis*: Cultural features at 3 and 37 °C]. Veterynarna Medycyna Ukrajiny 3, 33–35 (in Ukrainian).

Tkachenko, O.A., Bilan, M.V., Zazhars'kyj, V.V., Davydenko, P.O., Miskiv, V.V., Koval'ov, A.V., 2010. Biologichni vlastyvosti dysociatyvnyh form *M. bovis*: Morfologichni oznaky ta tynktorial'ni vlastyvosti za temperatur 3 ta 37 °C [Biological properties of dissociative forms of *M. bovis*: Morphological characteristics and properties at 3 and 37 °C]. Veterynarna Medycyna Ukrajiny 12, 27–30 (in Ukrainian).

Tkachenko, O.A., Galatjuk, O.J., Bilan, M.V., 2008. Morfologichni aspekty reversiji nekyslotostijkyh nytkopodibnyh *M. bovis* v bakterial'nu kyslotostijku formu [Morphological aspects of *M. bovis* reversion in bacterial acid form]. Suchasni problemy tuberkul'ozu v Ukrajini: Prychyny ta shljahy jih podolannja [Modern problems of tuberculosis in Ukraine: Causes and ways to overcome them]. Kyiv. P. 149–153 (in Ukrainian).

Tufariello, J.M., Jacobs, W.R., Chan, J., 2004. Individual *Mycobacterium tuberculosis* resuscitation-promoting factor homologues are dispensable for growth *in vitro* and *in vivo*. Infect. Immun. 72, 515–526.

Voskuil, M.I., Schnappinger, D., Visconti, K.C., Harrell, M.I., Dolganov, G.M., Sherman, D.R., Schoolnik, G.K., 2003. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a *Mycobacterium tuberculosis* dormancy program. J. Exp. Med. 198, 705–713.

Yuan, Y., Crane, D.D., Barry, C.E. 3rd, 1996. Stationary-phase-associated protein expression in *Mycobacterium tuberculosis*: Function of the mycobacterial alpha-crystallin homolog. J. Bacteriol. 178, 4484–4492.

Надійшла до редколегії 27.08.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 347–352.

doi:10.15421/011645

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 582.28:635.8

Застосування сенсорного аналізу у біотехнології культивування макроміцетів

К.М. Власенко, О.В. Кузнецова

Український державний хіміко-технологічний університет, Дніпропетровськ, Україна

За допомогою сенсорного профільного методу аналізу досліджено вплив різних видів субстратів на характер та інтенсивність аромату висушених плодових тіл *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. IBK–1535. Як субстрати для культивування гриба обрали відходи сільського господарства та деревопереробної промисловості (соняшникове лушпиння, пшенична солома, відходи від очищення насіння кукурудзи, тирса листяних порід дерев і кора дуба). Підготовку та стерилізацію субстратів здійснювали загальноприйнятими методами. Протягом культивування визначали культурально-морфологічні показники розвитку міцелію: термін обростання субстрату, час появи примордіїв, кількість утворених зростків, усереднену біомасу зростків. Проводячи скринінг можливих ароматів грибів, визначили основні атрибути запаху висушених зразків грибів: грибний, деревний, трав'янистий, солодкий, кислий. Оцінено їх інтенсивність для кожного зі зразків, побудовано профілі аромату. Суттєвих відмінностей у темпах росту міцелію на всіх субстратах не спостерігали. Міцелій *P. ostreatus* IBK-1535 білий, пухнастий, щільніший на відходах кукурудзи, соняшниковому лушпинні та корі дуба. Найкращі культурально-морфологічні показники росту та розвитку міцелію визначено на субстраті на основі кукурудзяних відходів. Найбільш виражений грибний аромат мають зразки грибів, отримані на корі дуба, тирсі та відходах кукурудзи. Зразки грибів, вирощених на тирсі та відходах кукурудзи, мають подібний аромат. Гриби, отримані на соняшниковому лушпинні та пшеничній соломі, мають слабкий грибний аромат із трав'янистими та кислими нотами. Застосування сенсорного профільного методу аналізу дає можливість оцінити інтенсивність аромату плодових тіл вищих їстівних грибів залежно від умов культивування без застосування складних інструментальних методів аналізу, наочно (за допомогою побудови графічних профілів аромату) оцінювати вплив окремих факторів на характерні атрибути запаху грибів.

Ключові слова: профільний аналіз; запах; дескриптор аромату; *Pleurotus ostreatus*; профіль аромату

The use of sensory analysis in biotechnology of the cultivation of macromycetes

K.M. Vlasenko, O.V. Kuznetcova

Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnipropetrovsk, Ukraine

Sensory analysis is the most ancient and inexpensive method of assessing the quality of food products. Consumer demand for the fruit bodies of mushrooms is due to their unique taste and aroma. Profile methods of sensory analysis are used in quality control, for characterising the differences between food products and for determining the impact of various factors on the quality of the test product. The aim of this research is to study the influence of different types of substrates on the character and intensity of aroma of the dried fruit bodies of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. IBK–1535 using the sensory profile method. The substrates for the cultivation of mushrooms were selected from waste from the agricultural and wood processing industries: sunflower husks, wheat straw, waste from the cleaning of seed corn, and sawdust of deciduous trees and oak bark. The preparation and sterilization of substrates was performed according to standard techniques. During the process of cultivation we determined the culture-morphological indices of development of the mycelium: the duration of growth in the substrate, time of appearance of the primordia, the number formed fruiting bodies of mushrooms, the average biomass of the fruiting bodies. We did not detect any significant differences between substrates in the growth rate of mycelia. The best culture-morphological indices of growth and development of mycelia were identified for the corn waste substrate. This substrate had the greatest number of primordia, while the lowest was for wheat straw. The mycelium of *P. ostreatus* IBK-1535 was white, fluffy, and denser on substrates of corn waste, sunflower husks and oak bark. The sensory profile analysis was performed according to ISO 6564:1885. 1 g of dried fruiting bodies was crushed, placed in glass vials with stoppers and heated to +35…+40 °C for a better emission of volatile compounds. A five person de-

Український державний хіміко-технологічний університет, пр. Гагаріна, 8, Дніпропетровськ, 49005, Україна
Ukrainian State University of Chemical Technology, Gagarin Ave., 8, Dnipropetrovsk, 49005, Ukraine
Tel.: +38-097-954-78-85. E-mail: ekaterina5@mail.ua

gustation commission was trained to undertake the sensory analysis. First, using sensory analysis, the degustation commission determined the following descriptors of odour for the fruiting bodies of the fungi: mushroom, woody, grassy, sweet, sour. Then the intensity of the aroma of each sample was assessed on a five-point scale. The most characteristic mushroom aroma of the dried fruit bodies was obtained when oak bark was the substrate for cultivation. The samples of mushroom grown on sawdust and waste corn had a similar aroma. The samples obtained for sunflower husk and wheat straw had a slight mushroom aroma with grassy and sour notes. Thus, the use of the sensory profile method of analysis makes it possible to assess the degree of intensity of aroma of fruit bodies of higher edible mushrooms in relation to the conditions of their cultivation without having to use complicated instrumental methods of analysis. Moreover, sensory profile analysis can be used to monitor the odours and aromas of mushrooms, which are cultivated in artificial conditions, for the adjustment of the cultivation process and for conducting a rapid appraisal of the quality of mushroom products.

Keywords: profile analysis; aroma; descriptor of aroma; *Pleurotus ostreatus*; aroma profile

Вступ

Сенсорний або органолептичний аналіз – найдавніший та найдешевший метод оцінювання якості продуктів. Результати сучасного органолептичного аналізу вважаються рівноцінними до результатів фізико-хімічних досліджень продуктів. Деякі дослідники вважають, що органолептичні методи можна віднести за низкою показників до аналітичних методів (Rodina and Vuks, 1994; Rodina, 2004). Оцінка якості деяких продуктів та виробів, наприклад, продуктів виноробства або парфумів, взагалі неможлива без сенсорного аналізу (Duborasova, 2007).

Особливі показники якості продуктів – показники, які визначаються за допомогою нюху: запах, аромат, «букет». Вивчення ароматотвірних речовин – досить складний процес, оскільки їх масова частка у продуктах харчування надзвичайно низька, а концентрування летких сполук може викликати кількісну та якісну зміну запаху. Запах створюють різноманітні хімічні компоненти, які належать до різних класів органічних і неорганічних речовин; для кожного з них необхідні унікальні методи виділення та підготовки до газохроматографічного аналізу. Концентрати запаху – зазвичай складні суміші, більшість компонентів яких легко вступають у різні реакції. Частка ароматотвірних речовин у продуктах харчування рідко перевищує 10 мг/кг (Rodina, 2004).

Плодові тіла їстівних грибів-макроміцетів, особливо базидіоміцетів, – одні з продуктів, де запах і аромат значною мірою характеризують і визначають якість продукції. Багато із грибів споживаються як делікатес, цінність якого забезпечується неповторним смаком і ароматом (Asmore et al., 2014).

Нині ідентифіковано велику кількість запашних речовин, які зумовлюють аромат свіжих та висушених грибів. Експериментальні дані різних авторів свідчать про ідентифікацію від 10–20 (Cronin and Ward, 1972; Pyysalo, 1976; Rapior et al., 1996; Rodina, 2004; Stijve et al., 2004; Zawirska-Wojtasiak et al., 2007; Cho et al., 2007; Mata et al., 2014) до 50–80 (Misharina, 2008; Zhou et al., 2015) і навіть 250 (Reineccius, 1992; Morath et al., 2012) різноманітних хімічних сполук в екстрактах із плодових тіл грибів. Така варіація даних зумовлена великою кількістю методів виділення, концентрування та розділення летких сполук. Сучасні дослідження за допомогою методів газової хроматографії у поєднанні з мас-спектрометричною ідентифікацією хімічних компонентів дають нову інформацію про природу запаху, яка необхідна для вирішення проблеми управління якістю продуктів.

Під час визначення споживацьких преференцій щодо певних видів грибної продукції застосовують органолептичні методи аналізу – прості, доступні та достатньо інформативні. Більшість органолептичних методів передбачають комплексну оцінку якості продукту за різними показниками (колір, смак, аромат, консистенція тощо) (Rodina, 2004). Дослідження та оцінювання окремих складових якості продукту (наприклад, запаху) здійснюються за допомогою сенсорного профільного методу (згідно ISO 6564:1885 Sensory analysis. Methodology. Flavour profile methods). Цей метод застосовується для визначення впливу різних факторів на показники якості досліджуваного продукту, характеристики різниці між декількома подібними продуктами, моніторингу зміни якості продуктів за різної тривалості їх зберігання.

Сенсорний профільний метод оснований на тому, що запах складається частково з пізнавальних нюхових і смакових атрибутів та частково з комплексу атрибутів, які окремо не ідентифікуються. Сутність профільного методу полягає у тому, що складне поняття однієї з органолептичних властивостей (смак, запах або консистенція) представляють у вигляді сукупності простих складових, які експерти оцінюють за якістю, інтенсивністю та порядком прояву. Під час виконання профільного аналізу використовують бальні шкали для оцінювання інтенсивності окремих ознак, послідовно визначають прояви відчуття та результати графічно зображують у вигляді профілограм (Rodina, 2004; Duborasova, 2007).

Для проведення профільної оцінки якості продукту залучають п'ять–вісім експертів. Попередньо проводиться їх підготовка та тестування на здатність розрізняти та запам'ятовувати запахи, ідентифікуються пороги їх чутливості та сенсорна нюхова пам'ять (за ISO 6658:1985 Sensory analysis. Methodology. General guidance). Підготовка передбачає знайомство з термінологією проведення сенсорного дослідження для забезпечення відтворюваності його результатів. Існують два принципово різні методи виконання профільного аналізу запаху: груповий та індивідуальний. У разі групового методу експерти працюють разом для досягнення єдиної думки щодо оцінки запаху продукту. Лідер групи керує процесом обговорення до досягнення консенсусу стосовно оцінки атрибутів запаху продукту, занотовує та інтерпретує отримані дані. У випадку індивідуального методу експерти незалежно один від одного оцінюють свої враження від продукту.

Оцінювання профілю аромату включає декілька етапів. На першому етапі група експертів визначає основні характерні ноти (визначники, дескриптори) аромату досліджуваних зразків продукту та еталонні зразки, які викликають схожі відчуття. Наприклад, сенсорний аналіз трьох видів грибів роду *Pleurotus* дегустаційна комісія здійснювала за такими дескрипторами запаху: грибний (типовий для свіжих їстівних грибів), деревинний, земляний, затхлий, гнильний, рибний та м'ясний

(Zawirska-Wojtasiak et al., 2009). У дослідженнях аромату грибів інших науковців фігурують такі визначники запаху як кормовий, квітковий, медовий, горіховий, скошеної трави (Guedes de Pinho et al., 2008). Для грибів роду *Shiitake* характерні такі визначники запаху: сірчаний, деревинний, свіжих шиїтаке, землянистий (Hiraide et al., 2004).

Часто дескриптори поділяють на позитивні та негативні. Наприклад, для гриба *Tricholoma matsutake* Sing. як атрибути запаху, властивого грибам найвищого сорту, визначені сосновий, м'ясний, квітковий, а гриби нижчого сорту мали такі характеристики запаху як спиртовий, металевий, затхлий, вологого ґрунту (Cho et al., 2007).

На наступному етапі експерти визначають послідовність прояву характерних атрибутів запаху, оцінюють ступінь інтенсивності кожного з них, визначають стійкість запаху та загальне враження від аромату продукту. Інтенсивність кожної характерної ноти та загальне враження визначаються за допомогою відповідної шкали. Для цього можуть використовуватися, наприклад, графічна лінійна шкала 0–10 балів (Zawirska-Wojtasiak et al., 2009), числова 1–7 балів (Hiraide et al., 2004) тощо. Отримані дані статистично обробляються та інтерпретуються графічно. Існують різноманітні способи графічного представлення профілю аромату досліджуваного зразка згідно з ISO 6564:1885.

Мета цього дослідження – оцінити вплив різних видів субстратів, що використовуються для отримання плодових тіл гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm., на характер та інтенсивність аромату висушених плодових тіл за допомогою сенсорного профільного методу.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – штам їстівного гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. – ІВК–1535, отриманий із колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Цей штам виділений із природного матеріалу у штаті Техас, США, у 1997 році.

Гриб *P. ostreatus* належить до ксилотрофів, у природі зустрічається частіше за все на мертвій деревині листяних порід дерев. Культивування цього виду здійснюється на різноманітних лігнин- і целюлозовмісних відходах сільського господарства, деревопереробної та харчової промисловості. За інтенсивного культивування гриба спостерігається зниження ароматичних властивостей плодових тіл.

Субстрати для культивування гриба – найпоширеніші у південно-східному регіоні України відходи сільського господарства та деревопереробної промисловості: соняшникове лушпиння (СЛ), пшенична солома (ПС), відходи від очищення насіння кукурудзи (ВК) та тирса листяних порід дерев (Т), а також природний субстрат – кора дуба (КД). Підготовку та стерилізацію субстратів проводили загальноприйнятими методами (Buhalo et al., 2004). Субстрати запарювали протягом 2 годин, додавали $CaCO_3$ у кількості 1% від маси субстрату та стерилізували автоклавуванням за температури 121 °С протягом 30 хвилин двічі з інтервалом у 24 години. Солому попередньо подрібнювали до розміру 2–3 см. Охолоджений субстрат інокулювали посівним міцелієм *P. ostreatus* ІВК–1535. Посівний міцелій отримували на основі зерна ячменю. Культивування проводили за температури 26 ± 1 °С та вологості 70–80% до повного заростання субстрату міцелієм. Потім ємності із субстратом переносили до ростового приміщення з температурою 15–16 °С, вологістю 80–90% та освітленням 8 годин на добу. Протягом культивування визначали такі параметри росту міцелію *P. ostreatus*: термін обростання субстрату міцелієм, час появи примордіїв, кількість утворених зростків, усереднену біомасу зростків.

Для сенсорного профільного аналізу проводили відповідну підготовку зразків. Плодові тіла першої хвилі плодоносіння висушували за температури 40 °С. Із кожного зразка відбирали 1 г, подрібнювали, поміщали у скляні флакони з пробками, підігрівали до температури 30–40 °С для кращої емісії запашних речовин. Зразки висушених грибів, вирощених на різних субстратах, досліджували методом сенсорного профільного аналізу.

Експертна дегустаційна комісія складалась із п'яти осіб, підготовлених для проведення органолептичного аналізу. Закодовані зразки висушених грибів представляли комісії для оцінки характеру аромату. Із запропонованих атрибутів запаху, характерного для грибів (грибний, деревний, земляний, затхлий, гнильний, рибний, м'ясний, кормовий, квітковий, солодкий, горіховий, трав'янистий, кислий), спочатку визначали характерні атрибути запаху, а потім ступінь інтенсивності кожного з них. Інтенсивність прояву атрибутів запаху визначали за п'ятибальною шкалою: 0 – ознака відсутня, 1 – ознака лише упізнається або відчувається, 2 – слабка інтенсивність, 3 – помірна інтенсивність, 4 – сильна інтенсивність, 5 – дуже сильна інтенсивність прояву ознаки. Досліджувані зразки оцінювали тричі.

Отримані дані статистично обробляли вибірковим методом аналізу (Atramentova and Utevs'ka, 2014). За результатами будували профілі аромату зразків висушених грибів у вигляді діаграм. Різницю між даними вважали достовірною за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За терміном обростання субстрату міцелієм досліджувані субстрати не мають суттєвої різниці (табл. 1). Однак швидше за все примордії з'явились на природному субстраті (корі дуба) на 2–3 доби раніше, ніж на інших субстратах. За морфологічними ознаками міцелій штаму *P. ostreatus* ІВК–1535 білий, пухнастий, щільніший на субстратах на основі кукурудзяних відходів, лушпиння соняшника та кори дуба.

Найменша кількість грибних зростків утворилась на субстраті із пшеничної соломи, найбільша – на субстраті на основі кукурудзяних відходів, яка у 5,5 раза більша, ніж на пшеничній соломі, у 2,6 раза більша, ніж на соняшниковому лушпинні та у 2,1 раза більша, ніж на тирсі. Зростки, утворені на пшеничній соломі та тирсі, складалися з невеликої кількості плодових тіл (від 1 до 5). Найбільші за масою та кількістю плодових тіл грибні зростки утворилися на субстраті на основі кукурудзяних відходів. На рисунку 1 показано зростки плодових тіл *P. ostreatus* ІВК-1535, отримані на різних субстратах.

У таблиці 2 наведено бальну систему визначення інтенсивності прояву кожного з дескрипторів, представ-

лену дегустаційною комісією для кожного зі зразків висушених грибів. З профілограми (рис. 2) видно, що найвиразніший грибний аромат характерний для *P. ostreatus* ІВК-1535, отриманих на корі дуба як на субстраті, наближеному до природного. Подібний до нього аромат мають зразки грибів, отримані на тирсі та відходах кукурудзи, але вони мають менш виражені деревні ноти, а у зразку на відходах кукурудзи не відчуваються солодкі ноти запаху.

Таблиця 1

Параметри росту *Pleurotus ostreatus* ІВК–1535 на різних варіантах субстрату (M ± m, n = 3)

Варіант субстрату	Термін обростання субстрату міцелієм, доба	Термін появи примордіїв, доба	Кількість грибних зростків на одну банку, шт.	Усереднена біомаса одного зростка, г
Соняшникове лушпиння	6	24	14,0 ± 3,67	19,1 ± 4,47
Пшенична солома	7	24	6,7 ± 1,06	20,8 ± 4,55
Кукурудзяні відходи	6	23	37,0 ± 8,42	32,3 ± 1,04
Тирса	6	24	17,7 ± 2,81	15,8 ± 5,34
Кора дуба	7	21	13,7 ± 3,82	20,9 ± 2,40

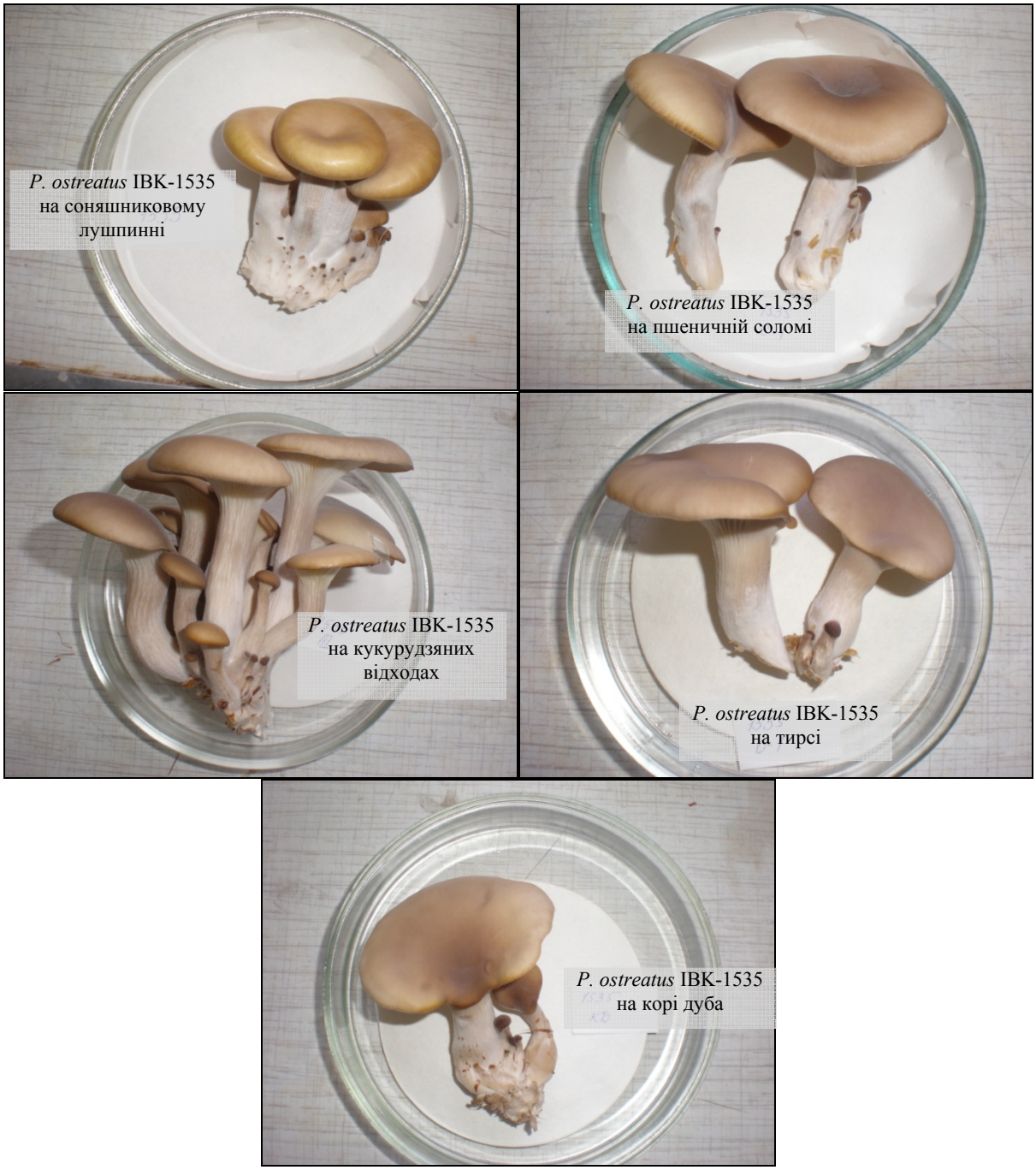


Рис. 1. Грибні зростки *Pleurotus ostreatus* ІВК-1535, отримані на різних субстратах

Таблиця 2

Інтенсивність прояву атрибутів аромату *Pleurotus ostreatus* ІВК-1535 залежно від варіанта субстрату (M ± m, n = 15)

Варіант субстрату	Інтенсивність атрибутів аромату, бали				
	грибний	деревний	солодкий	трав'янистий	кислий
Соняшникове лушпиння	2,1 ± 0,18	2,3 ± 0,27	0	0	0
Пшенична солома	2,4 ± 0,09	1,6 ± 0,09	0	0,8 ± 0,18	0,6 ± 0,09
Кукурудзяні відходи	3,5 ± 0,09	1,3 ± 0,09	0	0	0
Тирса	3,2 ± 0,18	1,9 ± 0,18	0,6 ± 0,09	0	0
Кора дуба	3,4 ± 0,18	2,6 ± 0,09	0,7 ± 0,09	0,5 ± 0,09	0

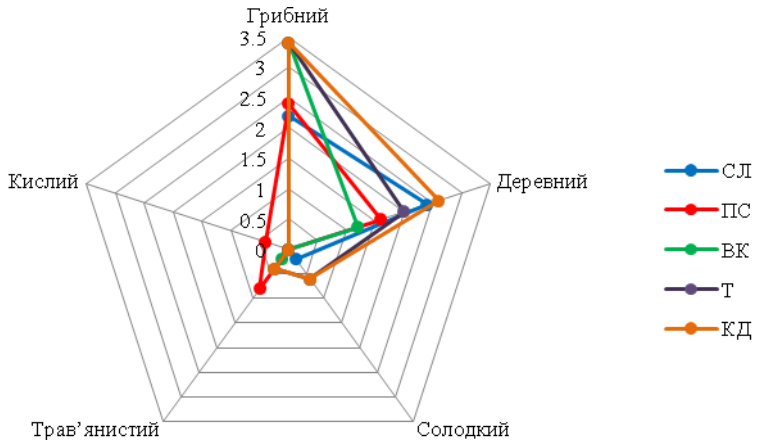


Рис. 2. Профілограми запаху різних зразків висушених грибів *Pleurotus ostreatus* ІВК-1535

Гриби, отримані на соняшниковому лушпинні та пшеничній соломі, мають менш виражений грибний аромат, а у зразку на пшеничній соломі відчуваються кислі та трав'янисті ноти. Солодкі ноти запаху експерти визначили у зразках грибів, вирощених на тирсі та корі дуба (рис. 2).

Порівняно з ароматами грибів, отриманих на соняшниковому лушпинні та пшеничній соломі, інтенсивніший грибний запах мають зразки грибів на кукурудзяних відходах, тирсі та корі дуба (рис. 2). Достовірно більш виражений деревний аромат відчувався на зразках грибів, вирощених на соняшниковому лушпинні, тирсі та корі дуба порівняно зі зразками, отриманими на відходах кукурудзи. Виявлені солодкі та трав'янисті аромати між собою достовірно не відрізняються, тобто у грибних зразках або проявляються ноти цих запахів, або вони відсутні.

Підсумовуючи вищевказане, зазначимо, що штам *P. ostreatus* ІВК-1535 належить до грибів зі слабкою інтенсивністю грибного запаху, але за допомогою підбору відповідних субстратів (кукурудзяні відходи, тирса, кора дуба) інтенсивність грибного запаху можна підвищити до помірної. Також атрибути запаху грибів цього штаму доволі обмежені та представлені лише п'ятьма нотами, на відміну від атрибутів аромату, зафіксованих у грибів роду *Pleurotus* закордонними авторами (Zawirska-Wojtasiak et al., 2009).

Висновок

Застосування сенсорного профільного методу аналізу дає можливість оцінити ступінь інтенсивності аромату плодових тіл вищих їстівних грибів залежно від умов культивування без складних інструментальних методів аналізу, дозволяє наочно за допомогою графічної побудови профілів аромату визначити вплив окремих факторів процесу культивування на характерні атрибути запаху грибів. Також сенсорний профільний аналіз може застосовуватися для проведення моніторингу ароматів і запахів грибів, що культивуються, для коригування процесу культивування, проведення швидкого оцінювання якості грибної продукції.

Бібліографічні посилання

Asmore, L., Craske, J.D., Srzednicki, G., 2014. Volatile compounds in fresh, dried and cooked dried *Agaricus bisporus* using ambient temperature vacuum distillation. Int. Food Res. J. 21(1), 263–268.

Atramentova, L.O., Utevs'ka, O.M., 2014. Statystyka dlja biologiv [Statistics for biologists]. NTMT, Kharkiv (in Ukrainian).

Buhalo, A.S., Bis'ko, N.A., Solomko, J.F., Bilaj, V.T., 2004. Kul'tivirovanie sjedobnyh i lekarstvennyh gribov [The cultivation of edible and medicinal mushrooms]. Chernobyl'interinform, Kyiv (in Russian).

Cho, I.N., Lee, S.M., Kim, S.Y., Choi, H.-K., Kim, K.-O., Kim, Y.-S., 2007. Differentiation of aroma characteristics of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades using gas chromatography-olfactometry and sensory analysis. J. Agric. Food Chem. 55(6), 2323–2328.

Cronin, P.A., Ward, M.K., 1971. The characterization of some mushroom volatiles. J. Sci. Food Agric. 22(9), 477–479.

Duborasova, T.J., 2007. Sensornyj analiz pishhevyh produktov. Degustacija vin [Sensory analysis of food products. Wine degustation]. Moscow (in Russian).

Guedes de Pinho, P., Ribeiro, B., Goncalves, R.F., Baptista, P., Valentao, P., Seabra, R.M., Andrade, P.B., 2008. Aroma compounds in eleven edible mushroom species: Relation-

ship between volatile profile and sensorial characteristics. Expression of Multidisciplinary Flavor Science 8, 467–471.
Hiraide, M., Miyazaki, Y., Shibata, Y., 2004. The smell and odorous components of dried shiitake mushroom, *Lentinula edodes* I: Relationship between sensory evaluations and amounts of odorous components. J. Wood Sci. 50(4), 358–364.
Mata, G., Valdez, K., Mendoza, R., Trigos, A., 2014. HS/GC-MS analyzed chemical composition of the aroma of fruiting bodies of two species of genus *Lentinus* (higher basidiomycetes). Int. J. Med. Mushrooms 16(5), 477–484.
Misharina, T.A., Muhutdinova, C.M., Zharikova, G.G., Terenina, M.B., Krikunova, N.I., 2008. Vlijanie termicheskoj obrabotki na sostav letuchih komponentov belyh gribov (*Boletus edulis*) [Effect of heat treatment on the composition of the volatile components of white mushrooms (*Boletus edulis*)]. Himija Rastitel'nogo Syr'ja 3, 97–101 (in Russian).
Morath, S.U., Hung, R., Bennet, J.W., 2012. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. Fungal Biol. Rev. 26, 73–83.
Pyysalo, H., 1976. Identification of volatile compounds in seven edible fresh mushrooms. Acta Chem. Scand. 30(3), 235–244.
Rapior, S., Cavalie, S., Andary, C., Pelissier, Y., Marion, C., Bessiere, J.-M., 1996. Investigation of some volatile components of seven fresh wild mushrooms (basidiomycetes). J. Essent. Oil Res. 8, 199–201.
Reineccius, G. (ed.), 1992. Source book of flavors. Springer. Gaithersburg, Maryland.
Rodina, T.G., 2004. Sensornyj analiz prodovol'stvennyh tovarov [Sensory analysis of food products]. Akademija, Moscow (in Russian).
Rodina, T.G., Vuks, G.A., 1994. Degustacionnyj analiz produktov [Tasting food analysis]. Kolos, Moscow (in Russian).
Stijve, T., Amazonas, M.A., Giller, V., 2004. Characterization of flavor and taste compounds in *Agaricus blazei* Murill sensu Heinem., the cultivated almond mushroom. Australasian Mycologist 22(3), 116–122.
Zawirska-Wojtasiak, R., Siwulski, M., Mildner-Szkudlarz, S., Wasowicz, E., 2009. Studies on the aroma of different species and strains of *Pleurotus* measured by GH/MS, sensory analysis and electronic nose. Acta Sci. Pol. 8(1), 47–61.
Zawirska-Wojtasiak, R., Siwulski, M., Wasowicz, E., Sobieralski, K., 2007. Volatile compounds of importance in the aroma of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* at different conditions of cultivation. Pol. J. Food Nutr. Sci. 57(3), 367–372.
Zhou, J., Feng, T., Ye, R., 2015. Differentiation of eight commercial mushrooms by electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Sensors 2015, Article ID 374013.

Надійшла до редколегії 19.08.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 353–358.

doi:10.15421/011646

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 581.9(477)

Стан збереження популяцій раритетних видів рослин в умовах антропогенної трансформації лучних степів Південного Опілля

І.І. Дмитраш-Вацеба

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Івано-Франківськ, Україна

Унаслідок деградації природних осередків рослинності швидкими темпами вимирають популяції раритетних видів рослин. Рівень раритетного фіторізноманіття лучних степів Південного Опілля найбільшою мірою залежить від площі ділянки, пасовищної дигресії травостою та різноманіття еколого-ценотичних умов. Головні загрози для раритетної компоненти флори лучних степів – скорочення площі та неконтрольоване випасання. Просторові зв'язки між ділянками не здатні сприяти підтриманню сталої кількості раритетних видів. Аналіз видового складу раритетної компоненти лучних степів виявив, що ділянки з подібним складом раритетних видів характеризуються близькими параметрами площі, ступеня дигресії травостою та еколого-ценотичних умов. Просторове розміщення ділянок не забезпечує подібність видового складу раритетної компоненти флори. Раритетні види поділили на групи за їх приуроченістю до ділянок певного розміру та ступеня дигресії. *Adonis vernalis* L., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *P. grandis* Wender., *Stipa capillata* L., *S. pennata* L., *Chamaecytisus blockianus* (Pawł.) Klásková тощо здатні рости на невеликих ділянках будь-якого рівня дигресії. Лише у великих за площею лучних степах із мінімальним ступенем дигресії травостою виявляли *Carlina onopordifolia* Besser. ex Szafer., Kuecz. et Pawł., *Adenophora liliifolia* (L.) Ledeb. ex A. DC., *Crambe tataria* Sebeók, *Euphorbia volhynica* Besser ex Racib., *Stipa tirsa* Stev. та інші. Для уникнення подальшого зниження рівня раритетного фіторізноманіття необхідно забезпечити збереження, а в багатьох випадках – і розширення площі лучно-степових ділянок і регуляцію пасквального навантаження.

Ключові слова: лучні степи; Південне Опілля; популяції; раритетні види рослин

Conservation state of populations of rare plant species in highly transformed meadow steppes of Southern Opillya

I.I. Dmytrash-Vatseba

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Degradation of natural habitats causes rapid extinction of rare plant populations. The diversity of rare plant species in the meadow steppes of Southern Opillya (Western Ukraine) highly depends on patch area, pasture digression of vegetation and a variety of eco-coenotical conditions. The main threats for the rare components of the meadow steppe flora are reduction of habitat and overgrazing. Spatial connections between sites are unable to support a constant rare plant population. The analysis of the composition of rare plant meadow-steppe species composition indicated that habitats with similar rare species composition usually have similar parameters of area, stages of pasture digression and eco-coenotical conditions. Spatial connectivity of patches does not ensure species similarity of rare components of the flora. Rare plant species were grouped according to their preferences for habitat , area and condition. In small patches subject to any stage of pasture digression grow populations of *Adonis vernalis* L., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *P. grandis* Wender., *Stipa capillata* L., *S. pennata* L., *Chamaecytisus blockianus* (Pawł.) Klásková etc. On the contrary, populations of other species (*Carlina onopordifolia* Besser. ex Szafer., Kuecz. et Pawł., *Adenophora liliifolia* (L.) Ledeb. ex A. DC., *Crambe tataria* Sebeók, *Euphorbia volhynica* Besser ex Racib., *Stipa tirsa* Stev. etc.) prefer large habitats, not changed by pasture digression. Prevention of reduction of rare species diversity requires preservation (also extension) of patch area and regulation of grazing intensity.

Keywords: meadow steppes; Southern Opillya; populations; rare plant species

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, вул. Галицька, 201, Івано-Франківськ, 76008, Україна
Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Halytska Str., 201, Ivano-Frankivsk, 76008, Ukraine
Tel.: +38-067-735-25-21. E-mail: iradmytrash@ukr.net

Вступ

Антропогенна трансформація природного середовища спричинює загрозу зникнення багатьох рефугіумів природної рослинності. У результаті тотальної деградації рослинного покриву природних екосистем рідкісні види зникають, типові стають рідкісними. Після втрати фітоценозами частини своїх елементів вони стають вразливими до проникнення рудеральних та інвазійних видів. Ці види можуть становити загрозу для аборигенних компонентів угруповання. Зі зникненням популяцій раритетних видів фітоценоз втрачає свої властивості, оскільки рідкісні види – носії рідкісних функцій в угрупованні (Mouillot et al., 2013; Bobyliov et al., 2014). Тому необхідно встановити головні причини зникнення популяцій раритетних видів зі складу рослинності. Для збереження популяцій конкретних видів важливо враховувати відомості про їх потреби до умов середовища.

Про давність, своєрідність, багатство, а також про насиченість ендеміками та реліктами лучних степів Волино-Поділля у своїх працях згадували Б.В. Заверуха (Zaveruha, 1985), Ю.Р. Шеляг-Сосонко (Shelyag-Sosonko, 1980), Ю.Р. Шеляг-Сосонко, В.В. Осичнюк та Т.А. Андрієнко (Sheliah-Sosonko et al., 1982), Г.С. Куковиця (Kukovitsa, 1976) та інші. Південне Опілля, розташоване на південно-західній окраїні Волино-Подільської плити, також відзначається унікальними лучно-степовими комплексами. Проте, у зв'язку з високим рівнем сільськогосподарської освоєності, у регіоні залишилися ізольовані фрагменти лучних степів, приурочені переважно до схилів пагорбів південної експозиції. Рослинність багатьох ділянок зазнала повної чи часткової деградації внаслідок використання пагорбів під кар'єри, розорювання, надмірного випасання худоби, рекреації, заліснення тощо. За таких умов відбулося зникнення багатьох популяцій раритетних видів рослин або зменшення їх чисельності.

Мета цієї статті – виявити причини зменшення рівня раритетного фіторізноманіття лучних степів, визначити шляхи збереження та відновлення популяцій раритетних видів рослин.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили протягом 2009–2016 рр. на 46 ділянках лучних степів Південного Опілля, на території Рогатинського, Галицького, Тисменицького та Тлумацького районів Івано-Франківської області, а також Монастирського району Тернопільської області. За флористичним зонуванням Волино-Поділля (Zaveruha, 1985), підрайон Південне Опілля, розташоване в межах Опільського району Розтоцько-Опільсько-Подільського округу Люблінсько-Волино-Подільської підпровінції Центральноєвропейської провінції Європейської області.

Для аналізу раритетного фіторізноманіття обрали 24 види рослин, включені до офіційних охоронних переліків: Червона книга України (Red Data Book of Ukraine, 2009), Червоний список Міжнародного союзу охорони природи, Європейський Червоний список тварин і рослин, Додаток I Резолюції 6 Бернської Конвенції та Додаток IV Директиви Ради ЄС 92/43/EEC (Sobko, 2005; Vinichenko, 2006). Назви видів рослин приймали за Червоною книгою України (Red Data Book of Ukraine, 2009) та зведенням С.Л. Мосякіна та М.М. Федорончука (Mosyakin and Fedoronchuk, 1999).

Площу лучно-степових ділянок і лінійну відстань між ними обчислювали за допомогою інтернет-ресурсу Google Earth (www.google.com/earth/). Ізольованими вважали ділянки, розміщені на відстані понад 1 км від найближчого лучного степу. Якщо відстань між ділянками становила до 2 км, імовірні просторові зв'язки між ними теж брали до уваги.

Ступінь пасовищної дигресії травостою визначали за видовим складом і станом трав'яного покриву (Sheliah-Sosonko et al., 1985). Виділяли три ступені дигресії: I – слабка дигресія травостою, II – помірна дигресія, III – значна дигресія.

Для визначення різноманіття еколого-ценотичних умов ураховували експозицію схилів (південна, південно-східна, південно-західна), наявність плакорних ділянок та крутизну схилу, а також пов'язану з нею товщину ґрунту. Різноманіття еколого-ценотичних умов вимірювали за 6-бальною шкалою.

Статистичні обрахунки проводили за загальноприйнятими методиками (Shmidt, 1984). Залежність кількості популяцій раритетних видів рослин на ділянці лучного степу від антропогенних і природних чинників визначали за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона (r) та коефіцієнта детермінації (d). Для середніх арифметичних значень і коефіцієнта кореляції визначали статистичну похибку. Статистично достовірні відмінності між групами видів обчислювали за допомогою коефіцієнта Стьюдента (S_{st}).

Подібність видового складу раритетної компоненти флори лучних степів обчислювали за допомогою коефіцієнта Сьоренсена (S). Фітосозологічну цінність лучних степів порівнювали з урочищем Касова гора, яке прийняли за еталонну ділянку. Подібність раритетного видового складу лучних степів між собою та із Касовою горою зобразили у вигляді дендриту, в центрі якого розмістили еталонну ділянку, а інші – на певній відстані від неї. Лучні степи з близькими рівнями подібності видового складу до Касової гори відокремлювали кільцевою лінією, формуючи систему концентричних кіл (група A). Радіус кожного кола обернено пропорційний до значення коефіцієнта Сьоренсена. Якщо коефіцієнт подібності (S) між Касовою горою та іншою ділянкою був меншим за 0,5, цю ділянку розміщували за межами групи A. Також до групи A не віднесли ділянки із суттєво відмінним від усіх інших лучних степів видовим складом (хоча коефіцієнт подібності з Касовою горою становив 0,55–0,59). Для спрощення рисунку ми не відображали усі ділянки з коефіцієнтом Сьоренсена, нижчими 0,50.

Вісім ділянок, які найбільше відрізняються за раритетним видовим складом від еталонного лучного степу та мають однорідний склад раритетних видів, об'єднані у групи B та C.

Результати та їх обговорення

Внаслідок інвентаризації популяцій раритетних видів рослин у лучних степах Південного Опілля виявлено,

що в урочищі «Касова гора» (Галицький природний національний парк, околиці с. Бовшів Галицького району) наявні популяції всіх 24 видів, обраних для аналізу. Це зумовлено тим, що Касова гора – одна з найбільших лучно-степових ділянок Західної України (загальна площа – близько 260 га, площа добре збережених лучно-степових фітоценозів – близько 70 га). Значне різноманіття еколого-ценотичних умов, порівняно слабке пасквальне та регульоване рекреаційне навантаження роблять урочище Касова гора цінним у фітосозологічному розумінні осередком природної рослинності.

Інші досліджені ділянки мають нижчий рівень раритетного фіторізноманіття. Найбагатшими на раритетні види виявились урочища Камінь (Галицький НПП, ок. с. Межигірці Галицького району) та Сімлин (ок. с. Медуха Галицького району) – по 16 видів (66,7%), Ждимир (ок. с. Узінь Тисменицького району) – 15 видів (62,5%), Великі Голди (комплексна пам'ятка природи загальнодержавного значення, ок. с. Лучинці Рогатинського району) та Підгороддя (ок. с. Підлужжя Тисменицького району) – по 14 видів (58,3%). У шести інших лучних степах виявлено по 10–11 видів (42–46%), у п'ятнадцяти урочищах – по 6–9 видів (25–38%), на восьми ділянках – по 3–5 видів (13–21%), на семи – по 2 види (8%), і на чотирьох – по одному виду (4%).

Видове багатство раритетної компоненти флори лучних степів корелює з площею ділянки ($r = 0,72 \pm 0,01$; $P < 0,001$), ступенем пасовищної дигресії травостою ($r = -0,61 \pm 0,09$; $P < 0,001$) та різноманіттям еколого-ценотичних умов ($r = 0,59 \pm 0,10$; $P < 0,001$). Не виявлено статистично достовірної залежності між просторовою близькістю ділянок, яка б сприяла обміну діаспорами між ділянками, та кількістю раритетних видів. За допомогою коефіцієнта детермінації встановлено, що площа лучного степу визначає 51,7% багатства раритетних видів рослин, рівень пасовищної деградації травостою – 37%, а різноманіття умов – 34%.

Як зазначають К. Піессенс зі співавторами (Piessens et al., 2004), біотопи з однаковою кількістю видів не обов'язково матимуть подібний видовий склад. Тому ми проаналізували подібність раритетної складової флори лучно-степових ділянок Південного Опілля з урочищем Касова гора та між собою (рис.). Щоб пояснити отримані результати, враховано такі чинники: ізоляція ділянок, їх розмір, ступінь пасовищної дигресії травостою та еколого-ценотичні умови.

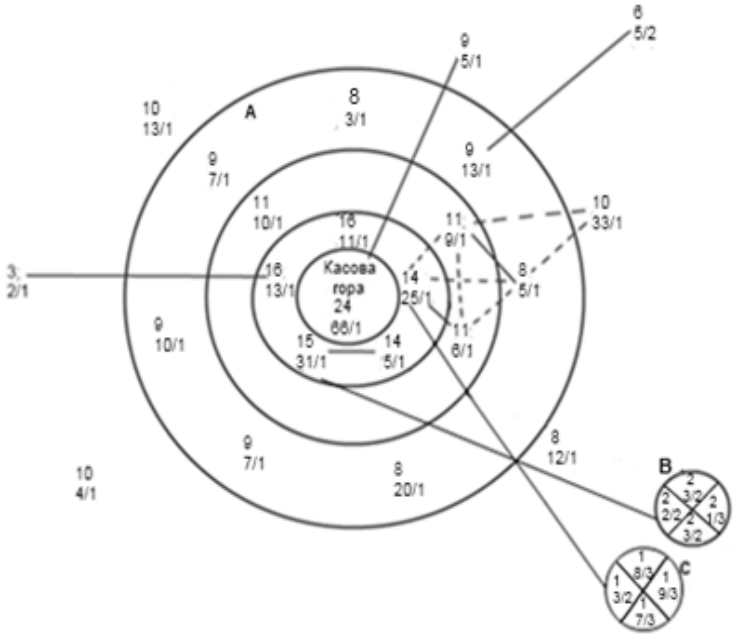


Рис. Дендрит подібності видового складу раритетної компоненти флори лучних степів Південного Опілля:
верхнє число – кількість раритетних видів на ділянці; перше нижнє число – площа ділянки;
друге нижнє – ступінь пасовищної дигресії травостою; суцільними лініями з'єднані ділянки,
розташовані на відстані до 1 км одна від одної, пунктирними – до 2 км

Зменшення ступеня подібності проаналізованих ділянок до еталонного лучного степу відображає деградацію біотопу через скорочення площі та посилення пасовищної дигресії. Наближеними до Касової гори за видовим складом раритетного фіторізноманіття виявились ділянки з мінімальною дигресією травостою (група А). Площа цих ділянок варіює у широких межах (3–66 га), проте більшість із них мають порівняно великі розміри (табл. 1).

Переважна більшість добре збережених лучних степів характеризується типовим для Південного Опілля складом раритетних видів рослин, подібним до еталонної ділянки. Наприклад, коефіцієнт Сьоренсена між ділянками II кола коливається в межах 0,733–0,968, III кола – 0,727–0,818, IV кола – 0,588–0,889. На деяких добре збережених ділянках виявлений дещо відмінний набір раритетних видів, що зумовлено своєрідністю еколого-ценотичних умов.

Імовірно, урочище Касова гора найбільш наближене до природного (не видозміненого людиною) осередку лучно-степової рослинності. У міру посилення антропогенного тиску раритетне фіторізноманіття лучних степів усе більше віддаляється від первісного. Найменш подібні до еталонної ділянки лучні степи групи В та С (табл. 1), які характеризуються II і III ступенем пасовищної дигресії та малою площею (у випадку III ступеня дигресії травостою площа ділянки могла бути доволі

великою – 7–9 га). Просторові зв'язки між ділянками часто відіграють вагому роль у підтриманні певного рівня фіторізноманіття в системі однотипних угруповань, компенсуючи нестачу площі (Piessens et al., 2004). Проте досліджені нами просторово пов'язані лучні степи характеризуються подібністю видового складу лише за умов близьких параметрів площі та ступеня пасовищної дигресії. Якщо лучний степ значно відрізняється за вказаними характеристиками від сусіднього, значення коефіцієнта Сьоренсена (0,133–0,400) відображатиме саме відмінності названих характеристик.

Подібність видового складу ізольованих ділянок інколи надзвичайно висока (коефіцієнт Сьоренсена сягає 0,968). Переважна більшість лучних степів (74%) зі значною однорідністю видового складу (коефіцієнт Сьоренсена перевищує 0,800) розташовані на великій відстані один від одного (20–45 км). Отже, для подібності видового складу раритетів, як і їх багатства, провідне значення мають площа лучного степу та ступінь пасовищної дигресії травостою. Попри ізольованість лучних степів, популяції раритетних видів рослин здатні самостійно існувати за умов відповідності біотопів їх потребам. Це підтверджує гіпотезу К.П. Зульки зі співавторами (Zulka et al., 2004), згідно з якою вид виживе на ізольованій ділянці, якщо її площа буде достатньо великою, щоб забезпечити життєздатність популяції.

Таблиця 1

Багатство раритетними видами, площа та рівень пасовищної дигресії травостою лучних степів Південного Опілля (n = 46)

Група	№ кола	Коефіцієнт Сьоренсена	Середня кількість видів	Середня площа	Середній рівень дигресії
A	перше коло	1,0	24,0 ± 0,0	70,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0
	друге коло	0,737–0,800	15,0 ± 0,5	16,9 ± 4,7	1,0 ± 0,0
	третє коло	0,629	11,0 ± 0,0	8,1 ± 1,0	1,0 ± 0,0
	четверте коло	0,500–0,546	8,6 ± 0,2	9,3 ± 2,1	1,0 ± 0,0
Поза групами	–	0,589–0,154	4,8 ± 0,5	5,5 ± 1,3	1,8 ± 0,2
B	–	0,154	2,0 ± 0,0	6,8 ± 1,5	2,8 ± 0,3
C	–	0,080	1,0 ± 0,0	2,2 ± 0,7	2,3 ± 0,3

Примітки: A, B, C – групи видів, перше – четверте кола – як на рисунку 1; у колонці «коефіцієнт Сьоренсена» наведено середні значення коефіцієнта подібності між ділянками певної групи або кола та Касовою горою; «–» – відсутність поділу груп на кола.

Для проведення ефективних заходів зі збереження та відновлення популяцій раритетних видів рослин необхідно враховувати специфічні потреби кожного виду щодо «кількості та якості» біотопу (Hodgson et al., 2011). Аналізуючи склад раритетних видів досліджених лучних степів та враховуючи характеристики ділянок, ми виявили, що окремі види частіше трапляються у більших за площею та краще збережених урочищах, тоді як інші не проявляють такої вибірковості.

Середня площа ділянок, на яких зафіксовані популяції раритетних видів, наведена у таблиці 2. Між чотирма групами видів, виділеними за значеннями середньої площі лучного степу, спостерігаються суттєві відмінності за кількістю популяцій.

Таблиця 2

Групи раритетних видів, виділені за середньою площею лучних степів (n = 46)

Групи	Назва виду	Середня площа, га	Кількість популяцій
A	*Adonis vernalis* L.	9,6	44
	Pulsatilla patens (L.) Mill.	11,3	27
	Iris hungarica Waldst. et Kit.	12,2	26
	Stipa pennata L.	12,4	22
	Pulsatilla grandis Wender.	13,0	25
	Gymnadenia conopsea (L.) R. Br.	13,4	13
	Stipa capillata L.	13,6	21
	Echium russicum J.F. Gmel.	14,5	24
	Chamaecytisus blockianus (Pawł.) Klásková	14,9	23
B	*Carlina cirsioides* Klokov	15,2	9
	Trifolium rubens L.	15,9	15
	Chamaecytisus podolicus (Błocki) Kláskova	16,4	7
	Chamaecytisus paczoskii (V. Krecz.) Klásková	18,9	11
	Rosa czackiana Besser.	19,2	9
	Serratula lycopifolia (Vill.) A. Kern.	19,3	9
C	*Orchis militaris* L.	20,2	4
	Stipa pulcherrima C. Koch	21,0	6
	Carlina onopordifolia Besser. ex Szafer., Kuecz. et Pawł.	25,5	4
	Neotinea ustulata (L.) R.M. Bateman, Pridgeon et M.W. Chase	25,7	3
	Gypsophila thyraica A. Krasnova	26,8	4
	Adenophora lilifolia (L.) Ledeb. ex A. DC.	29,9	6
D	*Euphorbia volhynica* Besser ex Racib.	38,2	2
	Stipa tirsa Stev.	39,3	2
	Crambe tataria Sebeók	45,2	2

Раритетні види, які трапляються порівняно часто, виявились менш вимогливими до площі ділянки, тоді як найрідкісніші види ростуть лише у лучних степах великих розмірів. Рівень кореляції між кількістю популяцій досліджених видів і середньою площею лучних степів становить 0,73 ± 0,15 (P < 0,001). Тобто частота трапляння багатьох раритетних видів значною мірою залежить від кількості достатньо великих за площею лучних степів.

Види групи А доволі часто трапляються на території Південного Опілля. Середня кількість популяцій таких видів становить 25,0 ± 2,7. До групи В віднесені види, які відзначаються середньою частотою трапляння – виявлено 10,0 ± 1,1 популяцій. До групи С належать види, які трапляються зрідка – 4,5 ± 0,5 популяцій. До групи D віднесли три види, виявлені лише на двох ділянках. Між усіма чотирма групами раритетних видів рослин наявні достовірні відмінності за кількістю відомих популяцій.

Мінімальна площа лучних степів, на яких ростуть популяції переважної більшості видів категорій С та D, становить понад 10 га. Лише 26% із проаналізованих лучних степів Південного Опілля мають таку площу, що пояснює рідкісність цих видів. За умови скорочення площі ділянок, видам груп D та С у першу чергу загрожуватиме небезпека вимирання.

Достатня площа лучного степу може забезпечити лише потенціал для існування в ньому популяцій раритетних видів рослин. Однак деградація травостою внаслідок надмірного випасання, антропогенного навантаження, заліснення чи заростання ділянки унеможливлює існування багатьох популяцій раритетних видів. Зокрема, між середнім рівнем пасовищної дигресії травостою, за якого виявляли той чи інший вид, і кількістю популяцій цього виду наявний статистично достовірний кореляційний зв'язок (r = 0,71 ± 0,15; P < 0,001). Тобто з підвищенням здатності переносити випасання кількість популяцій раритетних видів збільшується.

Ми об'єднали раритетні види рослин у три групи залежно від їх здатності переносити різний ступінь пасовищної дигресії (табл. 3).

Види, які можуть рости у лучних степах із різними ступенями дигресії травостою (середня кількість популяцій – 25,2 ± 2,6), поширені втричі частіше, ніж види, що ростуть лише на ділянках із незначною дигресією (7,8 ± 1,5) та у 4,3 раза частіше, ніж види, виявлені лише на ділянках із мінімальною дигресією травостою (5,2 ± 1,1). Виявлено достовірну відмінність між середньою кількістю популяцій групи А та групами В і С. Отже, неконтрольований випас худоби спричинює суттєве збіднення раритетного видового багатства, у першу чергу, за рахунок випадання зі складу травостою видів групи С. У разі продовження процесу деградації вимирають популяції видів групи В. Наприкінці зникають *Adonis vernalis*, *Pulsatilla patens*, *Chamaecytisus blockianus*.

Таблиця 3

Групи раритетних видів рослин лучних степів, виділені за здатністю переносити певний рівень пасовищної дигресії (n = 46)

Групи	Види	Частка лучних степів з рівнем пасовищної дигресії I	Частка лучних степів з рівнем пасовищної дигресії II	Частка лучних степів з рівнем пасовищної дигресії III	Кількість популяцій
A	*Adonis vernalis*	0,58	0,21	0,21	44
	Chamaecytisus blockianus	0,87	0,04	0,09	23
	Echium russicum	0,88	0,04	0,08	24
	Irishungarica	0,85	0,11	0,04	26
	Pulsatilla patens	0,78	0,19	0,04	27
	Pulsatilla grandis	0,92	0	0,08	25
	Stipa capillata	0,71	0,19	0,10	21
	Stipa pennata	0,77	0,18	0,05	22
	Trifolium rubens	0,80	0,07	0,13	15
B	*Chamaecytisus podolicus*	0,86	0,14	0	7
	Gymnadenia conopsea	0,92	0,08	0	13
	Gypsophila thyraica	0,75	0,25	0	4
	Rosa czackiana	0,89	0,11	0	9
	Stipa pulcherrima	0,67	0,33	0	6
C	*Adenophora liliifolia*	1,00	0	0	6
	Carlina cirsioides	1,00	0	0	9
	Carlina onopordifolia	1,00	0	0	4
	Chamaecytisus paczoskii	1,00	0	0	11
	Crambe tataria	1,00	0	0	2
	Euphorbia volhynica	1,00	0	0	2
	Neotinea ustulata	1,00	0	0	3
	Orchis militaris	1,00	0	0	4
	Serratula lycopifolia	1,00	0	0	9
	Stipa tirsa	1,00	0	0	2

Отримані результати свідчать про необхідність розроблення та впровадження комплексу регулятивних заходів для збереження та відтворення раритетного фіторізноманіття лучних степів Південного Опілля. Перш за все необхідно забезпечити охорону лучних степів. Нині лише 11 ділянок (24%) – об'єкти природно-заповідного фонду (Prykhodko and Parpan, 2000): п'ять урочищ належать до Галицького національного природного парку, два об'єкти – загальнодержавного значення, один – ботанічний заказник місцевого значення та три – ботанічні пам'ятки природи місцевого значення; 35 ділянок не забезпечені охороною.

Важливий крок для збереження та відтворення популяцій раритетних видів рослин – збільшення площі лучних степів. Для цього необхідно, перш за все, видалити зарості чагарників та лісові насадження з неаборигенних видів, запобігати подальшому заростанню лучних степів чагарниками та деревами. У деяких випадках доцільно збільшити площу лучного степу за рахунок прилеглих ділянок, які можна використовувати як сіножать або пасовище з регульованим режимом випасання.

Для лучних степів, розташованих на розлогих схилах пагорбів і плакорах, оптимальний – режим регульованої заповідності. Регламентований режим викошування травостою чи випасання худоби запобігатиме заростанню ділянок чагарниками.

У багатьох лучних степах необхідно відтворити популяції раритетних видів рослин шляхом перенесення діаспор з інших ділянок.

Висновки

Видове багатство раритетної компоненти флори лучних степів, перш за все, детермінується їх площею, ступенем пасовищної дигресії травостою та різноманіттям еколого-ценотичних умов. Просторова ізоляція лучних степів за умови достатньо великої площі не впливає на кількість популяцій раритетних видів рослин.

Раритетні види рослин в умовах Південного Опілля різним чином реагують на зменшення площі лучного степу чи підвищення ступеня пасовищної дигресії. Виявлено групи видів, найчутливіші до погіршення названих характеристик біотопу.

Отримані результати дозволять розробити та запровадити конкретні комплекси заходів для збереження та відтворення раритетного фіторізноманіття лучних степів Південного Опілля.

Бібліографічні посилання

Bobyliov, Y.P., Brygadyrenko, V.V., Bulakhov, V.L., Gaichenko, V.A., Gasso, V.Y., Didukh, Y.P., Ivashov, A.V., Kucheriavyi, V.P., Maliovanyi, M.S., Mytsyk, L.P., Pakhomov, O.Y., Tsaryk, I.V., Shabanov, D.A., 2014. Ekologija [Ecology]. Folio, Kharkiv (in Ukrainian).

Diduch, J.P. (ed.), 2009. Chervona knyha Ukrajiny. Roslynnyj svit [Red data book of Ukraine. Vegetable kingdom]. Globalconsalting, Kyiv (in Ukrainian).

Hodgson, J.A., Moilanen, A., Wintle, B.A., Thomas, C.D., 2011. Habitat area, quality and connectivity: Striking the balance for efficient conservation. J. Appl. Ecol. 48, 148–152.

Kukovitsa, G.S., 1976. Stepnaya rastitelnost Opolya i ee ohrana [Steppe vegetation of Opillya and its conservation]. In: Aktualnyie voprosy sovremennoy botaniki. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Mosyakin, S.L., Fedoronchuk, M.M., 1999. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.

Mouillot, D., Bellwood, D.R., Baraloto, C., Chave, J., Galzin, R., Harmelin-Vivien, M., Kulbicki, M., Lavergne, S., Lavorel, S., Mouquet, N., Paine, C.E.T., Renaud, J., Thuiller, W., 2013. Rare species support vulnerable functions in high diversity ecosystems. PLoS Biol. 11(5), e1001569.

Piessens, K., Honnay, O., Nackaerts, K., Hermy, M., 2004. Plant species richness and composition of heathland relics in North-Western Belgium: Evidence for a rescue-effect? J. Biogeogr. 31, 1683–1692.

Prykhodko, M.M., Parpan, V.I. (eds.), 2000. Pryrodnozapovidni terytorii ta obiekty Ivano-Frankivshchyny [Conservation territories and objects of Ivano-Frankivsk region]. Ivano-Frankivsk (in Ukrainian).

Sheliah-Sosonko, J.R., Andriienko, T.L., Osychniuk, V.V., Dubyna, D.V., 1985. Osnovnyie tendentsii antropogennyih izmeneniy rastitelnosti Ukrainy [Main directions of antropogenic changes in vegetation]. Botanicheskij Zhurnal 70(4), 451–463 (in Russian).

Sheliah-Sosonko, J.R., Osychniuk, V.V., Andriienko, T.L., 1982. Geografiya rastitelnogo pokrova Ukrainy [Geography of plant cover of Ukraine]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Shelyag-Sosonko, Y.R., 1980. Podolskaya vozvyishennost [Podillya sublitity]. In: Ohrana vazhneyshih botanicheskih obektov Ukrainy, Belarusii, Moldavii. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Shmidt, V.M., 1984. Matematicheskie metodyi v botanike [Mathematical methods in botany]. Leningrad Univ. Press, Leningrad (in Russian).

Sobko, V.H., 2005. Fitorarytety Ukrainy u svitovomu chervonomu spysku [Plant rare species in world red list]. Fitosotsiotsentr, Kyiv (in Ukrainian).

Vinichenko, T.S., 2006. Roslyny Ukrainy pid okhoronoiu Bernskoi konventsii [Plants of Ukraine under Bern Convention protection]. Khimdzhest, Kyiv (in Ukrainian).

Zaveruha, B.V., 1985. Flora Volyino-Podolii i ee genesis [Flora of Volyno-Podillya and its origin]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).

Zulka, K.P., Abensperg-Traun, M., Milasowszky, N., Bieringer, G., Gereben-Krenn, B.-A., Holzinger, W., Hölzler, G., Rabitsch, W., Reischütz, A., Querner, P., Sauberer, N., Schmitzberger, I., Willner, W., Wrbka, T., Zechmeister, H., 2014. Species richness in dry grassland patches in eastern Austria: A multi-taxon study on the role of local, landscape and habitat quality variables. Agric. Ecosyst. Environ. 182, 25–36.

Надійшла до редколегії 08.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 359–363.

doi:10.15421/011647

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 546.59:591.463.2

Кіспептин-опосередкована регуляція морфофункціонального стану сім'яників щурів за дії наночастинок золота

В.Є. Калиновський[1], А.С. Пустовалов[1], Г.Я. Гродзюк[2], Н.С. Андрюшина[2], М.Е. Дзержинський[1]

[1]Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
[2]ТОВ «Наномедтех», Київ, Україна

З'ясовано особливості впливу наночастинок золота на функціональну активність сім'яників щурів різного віку. За інтраперитонеального уведення наночастинок золота в дозі 0,1 мг/100 г маси тіла гістологічна структура сім'яника залишається в межах норми. Встановлено пригнічувальний вплив нанозолота на ендокринну та сперматогенну активність сім'яників дорослих тварин, хоча змін морфометричних параметрів у молодих тварин не виявлено. За дії нанорозмірного золота активація кіспептинергічної системи гіпоталамуса шляхом інтрацеребровентрикулярного уведення кіспептину в бічний шлуночок мозку не викликає підвищення функціональної активності сім'яників тварин обох вікових груп. Блокування кіспептин-опосередкованої регуляції посилює пригнічувальний вплив нанозолота, при цьому в сім'яниках з'являються морфологічні ознаки пригнічення сперматогенезу. Вплив нанорозмірного золота на регуляцію активності сім'яників не залежить від віку тварини. Наші дані свідчать, що наночастинки золота порушують систему регуляторних взаємодій репродуктивної системи самців щурів, що необхідно брати до уваги у подальшому практичному застосуванні цих наноматеріалів.

Ключові слова: нанозолото; клітини Лейдіга; клітини Сертолі; кіспептин-10; пептид-234

Kisspeptin-mediated regulation of testicular activity of rats under the effect of gold nanoparticles

V.Y. Kalynovskyi[1], A.S. Pustovalov[1], G.Y. Grodzyuk[2], N.S. Andriushyna[2], M.E. Dzerzhynsky[1]

[1]Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
[2]Nanomedtech-LLC, Kyiv, Ukraine

There are a variety of biomedical applications of nanoparticles. They can be used as drug carriers, anti-tumor agents, biosensors and modulators of immune response. But full-scale real clinical application of nanomaterials requires a great deal of information on their safety and biotoxicity. Even traditionally harmless materials, like gold, can obtain toxic features when scaled to the nanosize. *In vitro* studies showed that nanoparticles can be geno- and cytotoxic, but their effects on the body as a whole remain largely a mystery. To shed some light on this, our study focused on the reproductive toxicity of nanomaterials. We synthesized 10–15 nm gold nanoparticles through the reduction of sodium tetrachloroaurate (III) in an alkaline medium with the addition of sodium polyphosphate as a stabilizing agent. Next, these particles were administered intraperitoneally to young and old rats for 10 days. To test functional capabilities of the testes, we injected kisspeptin-10 or its antagonist peptide-234 intracerebroventricularly. These substances are known to stimulate or inhibit the central component of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis respectively. After the routine histological procedures, we measured the diameter of seminiferous tubules and the nuclear cross-sectional area of Sertoli cells as markers of testicular spermatogenic activity and a cross-sectional area of the Leydig cells' nuclei as a marker of testicular steroidogenesis. We found that injections of nanogold caused no significant changes in the

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна
Taras Shevchenko National University of Kyiv, ESC "Institute of Biology", Volodymyrska Str., 64/13, Kyiv, 01601, Ukraine
Tel.: +38-066-307-77-72. E-mail: squilchuw@gmail.com

ТОВ «Наномедтех», вул. Антоновича, 68, Київ, 03680, Україна
NanoMedTech-LLC, Antonovycha str., 68, Kyiv, 03680, Ukraine
Tel.: +38-044-200-82-51. E-mail: administration@nanomedtech.com.ua

young animals. At the same time, morphometric parameters of adult animals were significantly lower compared to control, although we observed no pathological changes in the tissue. Combined administration of gold nanoparticles and kisspeptin showed that the stimulatory effect of the latter was not observed at all. This is a specific feature of toxicants called "endocrine disruptors". Moreover, we found morphological signs of testicular degeneration, which are characteristic of the low-testosterone state. Simultaneous injections of gold and peptide-234 resulted in the highest degree of testicular functional downregulation, regardless of age. Taken as a whole, our data indicates that gold nanoparticles disrupt the regulatory network of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, possibly due to direct action on the interstitial cells and spermatogenic epithelium.

Keywords: nanogold; Sertoli cells; Leydig cells; kisspeptin-10; peptide-234

Вступ

Наночастинки – один із найпопулярніших об'єктів досліджень сучасної науки. Завдяки особливим фізичним та хімічним властивостям ці структури знаходять своє застосування у різних галузях медицини та промисловості (Lu, 2013). Наприклад, на основі наночастинок срібла створено антисептичні препарати, також їх використовують для прискорення загоєння ран (Zande et al., 2012). Частинки на основі карбону (фулерени та нанотрубки) та заліза (магнітні частинки) пропонується використовувати для адресної доставки лікарських речовин (Kim, 2012; Bogdanovic and Djordjevic, 2016). Оптичні властивості нанорозмірного кадмію зумовлюють широке його застосування як компонента детекторів (Reyes-Esparza et al., 2015). Найпоширеніша сфера біомедичного застосування наночастинок різного складу – використання їх у протипухлинній терапії: для адресної доставки ліків, фототермальної терапії чи для безпосереднього знищення трансформованих клітин (Dreaden et al., 2011; Lu, 2013; Shao, 2013). У зв'язку із цим вкрай актуальне дослідження біологічної безпеки наночастинок різного складу.

Біологічна дія наночастинок зумовлена, з одного боку, вивільненням компонентів частинки у вигляді іонів, а з іншого, безпосереднім впливом частинок на клітинні мішені (Wang, 2016). За дії наночастинок срібла спостерігається окиснення сульфгідрильних груп багатьох білків – один з основних механізмів токсичності іонів Ag^+ (Han et al., 2015). Саме тому для дослідження токсичності власне наночастинок оптимальне використання структур на основі біологічно інертних матеріалів, наприклад, золота (Cabuzu et al., 2015).

Більшість досліджень у галузі нанотоксикології проводяться *in vitro*. Наночастинки металів – цито- та генотоксичні, можуть пошкоджувати біологічні мембрани та впливати на активність різних ензимів (Asare et al., 2012; Gao et al., 2013; Talebi et al., 2013). Дослідження ж *in vivo* в основному направлені на з'ясування фармакокінетичних властивостей частинок. Наночастинки можуть проходити через біологічні бар'єри (гемато-тестикулярний, гемато-енцефалічний, плацентарний) та акумулюватись у різних органах, у тому числі у тканинах плоду (Balasubramanian et al., 2012; Buerki-Thurnerr et al., 2012; Melnik et al., 2013).

Один з органів, здатних накопичувати наночастинки, – це сім'яник. *In vitro* продемонстровано токсичний вплив наночастинок на сперматозоїди та інтерстиціальні клітини сім'яника (Pizent et al., 2012; Zakhidov et al., 2012). У той же час даних щодо репродуктивної токсичності частинок *in vivo* порівняно мало: відомо, що за тривалого уведення наночастинки спричинюють появу структурно-функціональних порушень, хоча короткотривалі ефекти досліджені недостатньо (Thakur et al., 2014). Наночастинки можуть виступати в ролі «ендокринних роз'єднувачів»: не спричиняючи значних порушень гістологічної будови органа, вони можуть впливати на системи регуляторних взаємодій (Li et al., 2012). Тому доцільне дослідження впливу наночастинок на характер відповіді органа на стимулювальні та інгібувальні впливи. У випадку гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи ключова стимулювальна молекула – це кіспептин, який виділяється нейронами аркуатного ядра гіпоталамуса (Matvienko et al., 2013). Тому мета статті полягає у з'ясуванні особливостей морфофункціональних змін у сім'яниках щурів за дії наночастинок золота.

Матеріал і методи досліджень

Наночастинки золота розміром 10–15 нм синтезували шляхом відновлення 1 ммоль/л розчину $NaAuCl_4$ аскорбіновою кислотою у лужному середовищі за раніше описаною методикою (Kalynovskyi et al., 2016). Як стабілізатор наночастинок використовували 0,25 ммоль/л розчин поліфосфату натрію. Фізичні властивості отриманих розчинів контролювали за допомогою растрової електронної мікроскопії (Tescan (Tescan a.s., Чеська Республіка)) за напруги прискорення 5–20 кВ і лазерної фотокореляційної спектроскопії (Zeta Sizer Nano S (Malvern, Великобританія). Готові розчини зберігали у темряві за кімнатної температури. Кінцева концентрація золота в розчині становила 200 мг/л.

Експеримент проводили на самцях білих щурів Rattus norvegicus віком 1 та 6 місяців (вагою 150–170 та 250–300 г відповідно), по 48 тварин у групі. У подальшому кожну вікову групу поділено на 8 підгруп по 6 тварин у кожній (табл. 1).

Експериментальні препарати вводили упродовж 10 діб. Наночастинки золота вводили інтраперитонеально з розрахунку 0,1 мг золота/100 г маси тіла тварини. Тваринам контрольних груп уводили відповідні об'єми 0,9% ізотонічного розчину NaCl та 0,25 ммоль/л розчину поліфосфату натрію.

Для стимуляції та пригнічення роботи сім'яників з 8-ї по 10-ту добу тваринам уводили кіспептин-10 (метастин-(45-54)-амід, Merck KGaA, Німеччина) та пептид 234 (кіспептин-234-трифлюорацетат, Sigma, США) відповідно. Для цього на 8-му добу експерименту тварин відповідних груп наркотизували сумішшю кетамін (8 мг/100 г маси тіла) та ксилазину (1 мг/100 г маси тіла). У подальшому проводили трепанацію та вводили розчини препаратів у порожнину лівого шлуночка мозку в дозі 3 мкг/100 г маси тіла. Робочі розчини препаратів виготовляли шляхом розчинення сухих пептидів у 10% диметилсульфоксиді. Місце уведення визначали за допомогою стереотаксичного атласу (Paxinos and Watson, 2007). Контролем до цих груп слугували тварини, яким

інтрацеребровентрикулярно вводили 10% розчин диметилсульфоксиду.

На 10-ту добу експерименту тварин декапітували та брали лівий сім'яник для подальших досліджень. Орган фіксували в суміші Буена упродовж 72 годин, зневоднювали у спиртах і заливали у парафін за загальноприйнятою методикою. Для мікроскопічних досліджень виготовляли зрізи товщиною 5–6 мкм, які забарвлювали гематоксиліном Бьомера та еозином. Готові мікропрепарати аналізували на мікроскопі Olympus BX51 (Olympus, Японія), обладнаному цифровою фотокамерою Camedia C-5050 zoom. Для оцінювання морфофункціонального стану сім'яників вимірювали діаметр звивистих сім'яних канальців, а також площу поперечного перерізу ядер клітин Сертолі та клітин Лейдіга.

Статистичну обробку даних виконували за допомогою програми Statistica 6.0. Характер розподілу даних у вибірках визначали за допомогою тесту Шапіро – Уїлка. Оскільки ми не виявили достовірних відмінностей від нормального розподілу, відмінності між групами оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу з апостеріорним тестом Тьюкі. Різницю вважали достовірною за $P < 0,05$. Дані представляли як середнє ± стандартна похибка (x ± SE).

Таблиця 1

Характеристика експериментальних груп тварин

Назва групи	Назва препарату	
	внутрішньочеревинне введення (1–10-та доба експерименту)	інтрацеребровентрикулярне введення (8–10-та доба експерименту)
Контроль	0,9% NaCl	–
ПФН	0,25 ммоль/л поліфосфат натрію	–
НЧЗ	200 мг/л розчин наночастинок золота	–
ДМСО	0,9% NaCl	10% диметилсульфоксид
КП-10	0,9% NaCl	кіспептин-10
Р-234	0,9% NaCl	пептид-234
НЧЗ + КП-10	200 мг/л розчин наночастинок золота	кіспептин-10
НЧЗ + Р-234	200 мг/л розчин наночастинок золота	пептид-234

Результати та їх обговорення

Аналіз зрізів сім'яника тварин контрольної групи виявив типову для цього органа будову. У тварин місячного віку в деяких канальцях виявили сперматозоїди; це свідчить, що тварини вже перейшли до статевого дозрівання. Уведення розчинів поліфосфату натрію та диметилсульфоксиду не спричинило змін жодного з виміряних нами морфометричних параметрів для обох вікових груп (табл. 1, 2). Це свідчить про правильність вибору речовин як допоміжних. Уведення розчину наночастинок золота щурам місячного віку не спричинило зменшення проаналізованих нами параметрів.

Таблиця 2

Морфометричні параметри сім'яників щурів місячного віку

Назва групи	Діаметр звивистих сім'яних канальців, мкм	Площа поперечного перерізу ядер клітин Сертолі, мкм^2	Площа поперечного перерізу ядер клітин Лейдіга, мкм^2
Контроль	237,76 ± 3,06	91,42 ± 1,89	43,32 ± 0,48
ПФН	234,75 ± 2,32	91,93 ± 2,11	43,87 ± 0,55
НЧЗ	236,77 ± 2,79	90,47 ± 1,96	42,16 ± 0,50
ДМСО	235,81 ± 2,34	90,40 ± 1,91	43,05 ± 0,58
КП-10	247,91 ± 2,53#	99,90 ± 1,92#	49,92 ± 0,63#
Р-234	223,52 ± 2,46#	91,02 ± 1,61	40,01 ± 0,55#
НЧЗ + КП-10	236,97 ± 2,00^	89,34 ± 1,61^	37,48 ± 0,47#^
НЧЗ + Р-234	223,51 ± 2,12#	78,65 ± 1,86#^	37,76 ± 0,62#^

Примітки: * – відмінності від контрольної групи достовірні за $P < 0,05$; # – відмінності від групи «ДМСО» достовірні за $P < 0,05$; ^ – відмінності від відповідної групи без уведення наночастинок золота достовірні за $P < 0,05$.

Таблиця 3

Морфометричні параметри сім'яників щурів шестимісячного віку

Назва групи	Діаметр звивистих сім'яних канальців, мкм	Площа поперечного перерізу ядер клітин Сертолі, мкм^2	Площа поперечного перерізу ядер клітин Лейдіга, мкм^2
Контроль	280,75 ± 3,22	131,68 ± 2,65	52,17 ± 0,96
ПФН	280,33 ± 3,17	131,92 ± 2,72	52,43 ± 0,82
НЧЗ	269,12 ± 3,01*	124,77 ± 2,34*	48,53 ± 0,54*
ДМСО	280,55 ± 2,97	132,41 ± 2,58	51,67 ± 0,73
КП-10	291,57 ± 3,58#	137,05 ± 2,62#	56,89 ± 0,74#
Р-234	269,83 ± 3,07#	127,51 ± 2,39#	46,94 ± 0,66#
НЧЗ + КП-10	269,32 ± 3,08#^	124,52 ± 2,38#^	48,81 ± 0,52#^
НЧЗ + Р-234	258,95 ± 2,94#^	120,97 ± 2,17#^	45,75 ± 0,54#

Примітки: див. табл. 2.

У тварин шестимісячного віку спостерігали достовірне пригнічення як сперматогенної, так і ендокринної функцій сім'яника. При цьому спостерігали підвищення кількості гетерохроматину в ядрах і зменшення оксифільності цитоплазми інтерстиціальних клітин. Виявлені відмінності у відповіді тварин різних вікових груп можуть бути пояснені загальним нижчим рівнем функціональної активності сім'яників у тварин місячного віку. Інтрацеребровентрикулярне уведення кіспептину-10 на тлі ін'єкції фізіологічного розчину викликало достовірне зростання морфометричних параметрів як у молодих, так і у дорослих щурів. Морфологічно це проявляось у підвищенні оксифільності цитоплазми та просвітлішанні ядер. Ядра клітин Сертолі часто полігональні, з 1–2 інвагінаціями каріолеми. Отримані дані свідчать про стимулювальний вплив кіспептину на сім'яники, що збігається з літературними даними (Matvienko et al., 2013; Helena et al., 2015).

Уведення пептиду 234 мало протилежний вплив. Морфологічні особливості клітин сім'яника були схожі на результати, отримані зв умов уведення розчину наночастинок золота, та відображали загальне зниження функціональної активності органа. У деяких канальцях виявили дегенеровані сперматоцити – рання ознака зменшення рівня інтратестикулярного тестостерону (Creasy et al., 2012). Слід зауважити, що, на відміну від усіх інших виміряних нами параметрів, не виявлено змін площі ядер клітин Сертолі у тварин місячного віку. Цей факт також можна пояснити низьким рівнем активності сім'яників молодих тварин, а тому дія пригнічувальних факторів не була значною. Наші результати щодо впливу пептиду-234 на статеву систему повністю збігаються з літературними даними (Pineda et al., 2012).

Стимуляція сім'яників кіспептином-10 на тлі уведення наночастинок золота не викликала зростання морфометричних параметрів. Морфологічно спостерігали підвищення базофілії ядер, зменшення оксифільності цитоплазми клітин Лейдіга, а також округлення ядер клітин Сертолі. У поодиноких канальцях були присутні дегенеровані сперматоцити. Відсутність відповіді сім'яника на стимулювальний вплив із боку гіпоталамуса свідчить про порушення регуляційних взаємодій у гіпоталамо-гіпофізарно-гонадній системі. Припускається, що один із патогенетичних ефектів наночастинок – їх втручання у внутрішньоклітинні сигнальні системи (Lucas et al., 2009). Можлива причина цього явища – ініціація стрес-реакції у клітинах залози за дії наночастинок, що продемонстровано за дії наночастинок срібла (Han et al., 2015). У той же час пригнічувальний вплив пептиду-234 зберігався: за комбінованого уведення пептиду та наночастинок зафіксували найнижчий рівень усіх виміряних морфометричних показників. На світлооптичному рівні відмічали ознаки зниження екзо- та ендокринної функцій сім'яника. Імовірно, у разі зниження кількості стимулювальних впливів на сім'яник на тлі дії стресора (наночастинок) спостерігається посилення розвитку стрес-реакції та пригнічення секреторних функцій клітин Лейдіга та Сертолі.

Висновки

Наночастинки золота пригнічують функціональну активність сім'яника дорослих тварин, не спричиняючи значних патогістологічних змін. У той же час, за дії нанорозмірного золота як на дорослих, так і на молодих тварин спостерігається зміна характеру відповіді залози на стимуляцію з боку гіпоталамо-гіпофізарного комплексу. Пригнічувальний вплив наночастинок на залозу може бути пояснений їх цитотоксичністю щодо клітин Лейдіга та елементів сперматогенного епітелію. Незважаючи на те, що встановлення точного механізму дії наночастинок потребує подальшого дослідження, наші результати мають бути прийняті до уваги під час біомедичного застосування наночастинок золота.

Бібліографічні посилання

Asare, N., Instanes, C., Sandberg, W., Refsnes, M., Schwarze, P., Kruszewski, M., Brunborg, G., 2012. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. Toxicology 291, 65–72.

Balasubramanian, S., Jittiwat, J., Manikandan, J., Ong, C.-N., Yu, L., Ong, W.-Y., 2010. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats. Biomaterials 31(8), 2034–2042.

Bogdanovic, G., Djordjevic, A., 2016. Carbon nanomaterials: Biologically active fullerene derivatives. Srp. Arh. Celok. Lek. 144, 222–231.

Buerki-Thurnherr, T., Mandach, U., Wick, P., 2012. Knocking at the door of the unborn child: Engineered nanoparticles at the human placental barrier. Swiss Medical Weekly 142, w13559.

Cabuzu, D., Cirja, A., Puiu, R., Grumezescu, A., 2015. Biomedical applications of gold nanoparticles. Curr. Top. Med. Chem. 15(16), 1605–1613.

Creasy, D., Bube, A., Rijk, E., Kandori, H., Kuwahara, M., Masson, R., Nolte, T., Reams, R., Regan, K., Rehm, S., Rogerson, P., Whitney, K., 2012. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse male reproductive system. Toxicol. Pathol. 40(6), 40S-121S.

Dreaden, E., Alkilany, A., Huang, X., Murphy, C., El-Sayed, M., 2011. The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. Chem. Soc. Rev. 41(7), 2740–2779.

Gao, G., Ze, Y., Zhao, X., Sang, X., Zheng, L., Ze, X., Gui, S., Sheng, L., Sun, Q., Hong, J., Yu, X., Wang, L., Hong, F., Zhang, X., 2013. Titanium dioxide nanoparticle-induced testicular damage, spermatogenesis suppression, and gene expression alterations in male mice. J. Hazard. Mater. 258–259, 133–143.

Han, J., Jeong, J.-K., Gurunathan, S., Choi, Y.-J., Das, J., Kwon, D.-N., Cho, S.-G., Park, C., Seo, H., Park, J., Kim, J., 2016. Male- and female-derived somatic and germ cell-specific toxicity of silver nanoparticles in mouse. Nanotoxicology 10(3), 361–373.

Helena, C., Toporikova, N., Kalil, B., Stathopoulos, A., Pogrebna, V., Carolino, R., Anselmo-Franci, J., Bertram, R., 2015. KNDy neurons modulate the magnitude of the steroid-induced luteinizing hormone surges in ovariectomized rats. Endocrinology 156(11), 4200–4213.

Kalynovskyi, V., Pustovalov, A., Grodzyuk, G., Andriushyna, N., Dzerzhynsky, M., 2016. Vplyv nanochastynok ta ioniv zolota na morfo-funkcionalnyi stan sim'janykiv statevonezrilyh shhuriv [Testicular morpho-functional state of immature rats under the effect of gold nanoparticles and ions]. Visn. Kyiv Nat. Univ. im. Tar. Shev. Ser. Biol. 71(1), 23–26 (in Ukrainian).

Kim, J.-E., Shin, J.-Y., Cho, M.-H., 2012. Magnetic nanoparticles: An update of application for drug delivery and possible toxic effects. Arch. Toxicol. 86(5), 685–700.

Li, W., Wang, F., Liu, Z., Wang, Y., Wang, J., Sun, F., 2013. Gold nanoparticles elevate plasma testosterone levels in male mice without affecting fertility. Small 9, 1708–1714.

Lu, X., Liu, Y., Kong, X., Lobie, P., Chen, C., Zhu, T., 2013. Nanotoxicity: A growing need for study in the endocrine system. Small 9, 1654–1671.

Lucas, B., Fields, C., Hofmann, M.-C., 2009. Signaling pathways in spermatogonial stem cells and their disruption by toxicants. Birth Defects Research. Part C, Embryo Today: Reviews 87(1), 35–42.

Matvienko, M.G., Pustovalov, A.S., Dzerzhinsky, M.E., 2013. Variety of functions and effects of kisspeptin. Biopolym. Cell 29(1), 11–20.

Melnik, E., Buzulukov, Y., Demin, V., Demin, V., Gmoshinski, I., Tyshko, N., Tutelyan, V., 2013. Transfer of silver nanoparticles through the placenta and breast milk during *in vivo* experiments on rats. Acta Naturae 5(3), 107–115.

Paxinos, G., Watson, C., 2007. The rat brain in stereotaxic coordinates 6th edition. Academic Press, London.

Pineda, R., Garcia-Galiano, D., Roseweir, A., Romero, M., Sanchez-Garrido, M.A., Ruiz-Pino, F., Morgan, K., Pinilla, L., Millar, R., Tena-Sempere, M., 2010. Critical roles of kisspeptins in female puberty and preovulatory gonadotropin surges as revealed by a novel antagonist. Endocrinology 151(2), 722–730.

Pizent, A., Tariba, B., Živković, T., 2012. Reproductive toxicity of metals in men. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology 63(Suppl. 1), 35–46.

Reyes-Esparza, J., Martínez-Mena, A., Gutiérrez-Sancha, I., Rodríguez-Fragoso, P., de la Cruz, G.G., Mondragón, R., Rodríguez-Fragoso, L., 2015. Synthesis, characterization and biocompatibility of cadmium sulfide nanoparticles capped with dextrin for *in vivo* and *in vitro* imaging application. J. Nanobiotechnology 13, 83.

Shao, J., Griffin, R., Galanzha, E., Kim, J.-W., Koonce, N., Webber, J., Mustafa, T., Birls, A., Nedosekin, D., Zharov, V., 2013. Photothermal nanodrugs: Potential of TNF-gold nanospheres for cancer theranostics. Sci. Rep. 3, 1293.

Talebi, A., Khorsandi, L., Moridian, M., 2013. The effect of zinc oxide nanoparticles on mouse spermatogenesis. J. Assist. Reprod. Genet. 30(9), 1203–1209.

Thakur, M., Gupta, H., Singh, D., Mohanty, I., Maheswari, U., Vanage, G., Joshi, D., 2014. Histopathological and ultra structural effects of nanoparticles on rat testis following 90 days (chronic study) of repeated oral administration. J. Nanobiotechnology 12, 42.

Wang, L., Chen, C., 2016. Pathophysiologic mechanisms of biomedical nanomaterials. Toxicol. Appl. Pharm. 299, 30–40.

Zakhidov, S., Pavliuchenkova, S., Marshak, T., Rudoi, V., Dement'eva, O., Zelenina, I., Skuridin, S., Makarov, A., Khokhlov, A., Evdokimov, I., 2012. Effect of gold nanoparticles on mouse spermatogenesis. Izv. Akad. Nauk Ser. Biol. 39(3), 279–287.

Zande, M., Vandebriel, R., Doren, E., Kramer, E., Rivera, Z., Serrano-Rojero, C., Gremmer, E., Mast, J., Peters, R., Hollman, P., Hendriksen, P., Marvin, H., Peijnenburg, A., Bouwmeester, H., 2012. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure. ACS Nano 6(8), 7427–7442.

Надійшла до редколегії 08.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 364–370.

doi:10.15421/011648

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 581.5.9(477)

Синтаксономія рослинності Калуського полігону токсичних відходів гексахлорбензолу (Івано-Франківська область)

В.І. Парпан, Н.В. Шумська, М.Я. Рудейчук-Кобзєва, М.М. Миленька

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Івано-Франківськ, Україна

Досліджено рослинність полігону захоронення токсичних відходів гексахлорбензолу, площею 4,5 га, розташованого поблизу м. Калуш Івано-Франківської області. Внаслідок порушення цілісності контейнерів на полігоні та прилеглих територіях спостерігалося значне забруднення атмосферного повітря, ґрунтів і водоносних горизонтів небезпечними відходами. Протягом 2010–2012 років здійснено заходи з вилучення та вивезення з полігону суміші токсичних відходів гексахлорбензолу та забрудненого ґрунту. Натомість на полігон завезено ґрунт і виконано роботи з рекультивації території. Нині на полігоні спостерігаються природні сукцесійні процеси рослинного покриву. У західній його частині сформовано зімкнений травостій; у центральній та східній частинах загальне проективне покриття трав'яного ярусу здебільшого коливається у межах 10–60%. У складі рослинності полігону виділено 8 синтаксонів рангу асоціацій, які належать до 7 союзів, 6 порядків і 5 класів. На ділянках із надмірним зволоженням поширені угруповання класів *Phragmito-Magnocaricetea* і *Bolboschoenetea maritimi* (ас. *Typhetum laxmanii*). У центральній та східній частинах полігону порівняно великі площі займають галофільні угруповання асоціації *Puccinellio distanti-Tripolietum vulgare* з класу *Asteretea tripolium*. Клас *Artemisietea vulgaris*, що об'єднує рудеральні угруповання, у межах полігону представлений трьома асоціаціями. Угруповання поширені переважно по периферії полігону. Ділянки з помірним режимом зволоження ґрунту здебільшого зайняті рудеральними угрупованнями асоціації *Calamagrostietum epigeios* з класу *Agropyretea repentis*. Видове різноманіття рослинного покриву полігону становить 119 видів судинних трав'яних рослин, серед яких переважають пратанти, синантропанти та палюданти. Диференціація рослинного покриву зумовлена неоднорідністю едафічних та гідрологічних умов, а також різною активністю сукцесійних процесів.

Ключові слова: синтаксономія рослинності; полігон захоронення токсичних відходів; гексахлорбензол

Syntaxonomy of vegetation of Kalush hexachlorobenzene toxic waste landfill (Ivano-Frankivsk region)

V.I. Parpan, N.V. Shumska, M.J. Rudeichuk-Kobzeva, M.M. Mylenka

Vasyl Stefanyk PreCarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

The vegetation of a landfill of hexachlorobenzene toxic waste was studied. It is situated in the neighborhood of Kalush (Ivano-Frankivsk region) and has an area of 4.5 ha. As a result of damage to the containers, hazardous waste has contaminated the air, soil and aquifers at the test site and adjacent areas. During the period 2010–2012 measures were taken to recover and remove the mixture of toxic waste and contaminated soil from the landfill. In its place, unpolluted soil was brought to the landfill. Work was carried out to recultivate the territory. Nowadays natural succession of vegetation cover is observed. There is closed herbaceous cover in the western part of the landfill. The total projective herbaceous cover in the central and eastern parts varies from 10% to 60%. Vegetation composition of the landfill contains eight syntaxa of association rank that belong to seven alliances, six orders and five classes. Communities of the *Phragmito-Magnocaricetea* and *Bolboschoenetea maritimi* classes (ass. *Typhetum laxmanii*) grow in areas with excessive humidification. The central and eastern parts of the waste landfill are primarily occupied by halophytic communities of the *Puccinellio distanti-Tripolietum vulgare* association of the *Asteretea tripolium* class. Ruderal communities belong to three associations of the *Artemisietea vulgaris* class. These communities mainly occur in the periphery zone of Kalush landfill. Areas with a moderate moisture regime are occupied by ruderal communities of the *Calamagrostietum*

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, вул. Галицька, 201, Івано-Франківськ, 76008, Україна
Vasyl Stefanyk PreCarpathian National University, Halytska Str., 201, Ivano-Frankivsk, 76008, Ukraine
Tel.: +38-097-56-24-823, +38-099-73-20-855. E-mail: shumskabotan@gmail.com, girlis@ukr.net, marjanark@ukr.net, mulenka.m@gmail.com

epigeios association of the *Agropyretea repentis* class. The total number of vascular herbaceous plant species at the landfill is 119. The dominating groups are meadow, synanthropic and wetland species. The differentiation of vegetation cover is caused by heterogeneity of edaphic and hydrological conditions, also by different activity of succession processes.

Keywords: syntaxonomy of vegetation; landfill of toxic waste; hexachlorobenzene

Вступ

На хімічному концерні «Хлорвініл» (тепер ТОВ «Оріана-Галев») у м. Калуш Івано-Франківської області протягом 1970–2000 рр. здійснювалося промислове хімічне виробництво хлорорганічних сполук, яке базувалося на прямому хлоруванні вуглеводневої сировини, головним чином метану. Воно супроводжувалося утворенням токсичних хлорорганічних відходів, 90% яких припадало на гексахлорбензол (ГХБ). Це стійка органічна сполука, що нині віднесена до першого класу токсичності та класифікується як канцероген. Для ГХБ притаманний високий біоакумулятивний потенціал і тривалий період розпаду у трофічних ланцюгах. Проте ще в 1990-х роках ГХБ використовували як фунгіцид для злакових культур, а також у піротехніці (Yamborko et al., 2013).

Потрапляючи у природні біотопи, ГХБ спричинює глибокі порушення структурно-функціональної організації біосистем на різних рівнях їх ієрархії. Це зумовлено високою стійкістю ГХБ до розкладання; доброю міграційною здатністю, зокрема, по трофічних ланцюгах; вираженими біоакумулятивними властивостями. ГХБ відзначається канцерогенною, тератогенною, мутагенною, імунотоксичною дією на живі організми. Токсикант – об'єкт транскордонного перенесення через усі компоненти довкілля; може осаджуватися на великих відстанях від джерела безпосереднього потрапляння в екосистеми; максимально накопичується на кінцевих ланках трофічних ланцюгів; може завдавати шкоди живим організмам у вкрай малих концентраціях. Відповідно до Стокгольмської конвенції 2001 року, ГХБ належить до групи стійких органічних забруднювачів із вираженими токсичними властивостями, використання яких, потрапляння у довкілля, поширення та концентрування підлягають суворому контролю та регламентації (Hexachlorobenzene, 1994; Canonero et al., 1997; Eurochlor, 2005; Technical Scoping Mission, 2010; Report on Carcinogens, 2014).

Згідно із затвердженим регламентом виробництва, тверді відходи ГХБ захоронювали у закритих контейнерах на спеціально обладнаному полігоні захоронення токсичних відходів гексахлорбензолу, який уведено в дію у 1973 році. Розміщення токсичних відходів здійснювали до 2000 року. Згідно з паспортом полігону, його експлуатація розрахована на 405 років, але з часом відбулося порушення цілісності контейнерів, що спричинило забруднення атмосферного повітря, ґрунтів і водоносних горизонтів.

Ділянка полігону площею 4,5 га розташована на низькопродуктивних землях за 6 км на північний захід від м. Калуш. Рельєф полігону рівнинний, знижений, з несуттєвим нахилом до р. Сапогів, що протікає на відстані 50 м від нього та належить до басейну р. Дністер. Ділянка розташована в межах Калусько-Голинського родовища калійних солей. Гідрологічний режим ґрунту полігону коливається від помірного до надмірного, місцями наявні мілкі водойми діаметром до кількох метрів. Із півночі, заходу та сходу ділянку оточує ліс, із південного боку проходить шосейна дорога.

Інститут охорони громадського здоров'я та навколишнього середовища Голландії у 2010 році проаналізував зразки ґрунту з полігону на наявність ГХБ. Концентрації ГХБ у ґрунті дорівнювали 0,1 мг/л і більше; в окремих пробах концентрація ГХБ сягала 3,5 мг/л. Таким чином, концентрація забруднення перевищувала допустимі норми у 100–3 500 разів (Technical Scoping Mission, 2010).

Співробітники Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України та Укрметртестстандарту у зразках ґрунту з полігону виявили хлорпохідні продукти початкових етапів окиснення та деградації ГХБ, фталати та їх похідні, поліциклічні ароматичні вуглеводні та продукти їх неповного окислення, хрізен, хлордиметиформ тощо (25 токсичних хімічних сполук). Установлено також зменшення чисельності ґрунтових мікроорганізмів на полігоні у 15–1 000 разів порівняно із ґрунтом за його межами (Yamborko et al., 2013).

Протягом 2010–2012 років здійснено заходи з вилучення та вивезення з полігону суміші токсичних відходів гексахлорбензолу та забрудненого ґрунту. Натомість на полігон завезено ґрунт і виконано роботи з рекультивації території. Український науково-дослідний інститут гірського лісівництва розробив проект щодо створення фітомеліоративних насаджень із 17 деревно-чагарникових видів рослин і розпочав реалізацію цього проекту.

Нині на полігоні спостерігаються природні сукцесійні процеси рослинного покриву. У західній його частині сформовано зімкнений травостій; у центральній та східній частинах загальне проективне покриття трав'яного ярусу здебільшого коливається в межах 10–60%.

Мета цієї статті – оцінити диференціацію та динаміку рослинності на полігоні.

Матеріал і методи досліджень

Згідно з фізико-географічним районуванням України (National Atlas of Ukraine, 2008) полігон розташований у Передкарпатській височинній області гірської країни Українські Карпати. Згідно із районуванням Передкарпаття (Herenchuk, 1973) він розташований у межах Калуської улоговини.

За геоботанічним районуванням України (Barbarych, 1977) досліджувана територія припадає на Івано-Франківсько-Коломийський район Самбірсько-Івано-Франківського округу Східнокарпатської гірської підпровінції Європейської широколистянолісової області.

Згідно з геоботанічним районуванням України, поданим у Національному атласі України (2008), через околиці м. Калуш проходить межа між Верховинсько-Бескидським округом звичайнодубових, букових, модринових та ялинових лісів та післялісових луків Східнокарпатської підпровінції листяних і хвойних лісів та високогірної рослинності Альпійсько-Карпатської

гірської провінції лісів та високогірної рослинності та Опільсько-Кременецького округу букових, грабово-дубових лісів, справжніх та остепнених луків і лучних степів Південнополісько-Західноподільської підпровінції широколистяних лісів, луків, лучних степів та евтрофних боліт Центральноєвропейської провінції широколистяних лісів Європейської широколистянолісової області.

Рослинний покрив полігону вивчали протягом 2014–2016 років із застосуванням методу стаціонарних і напівстаціонарних пробних ділянок. Виділили 22 ділянки площею 20 x 20 м^2 із різним проективним покриттям рослинності та відмінними умовами зволоження ґрунту.

Геоботанічні описи проводили на пробних ділянках протягом вегетаційного періоду тричі (Yunatov, 1964); класифікацію рослинності здійснювали за еколого-флористичним принципом, із використанням прикладної комп'ютерної програми Ficen – 2 (Kosman et al., 1991; Sirenko, 1996). Діагностичні види та назви синтаксонів приймали згідно з монографією В.А. Соломахи (Solomakha, 2008). Назви видів рослин подавали за зведенням С.Л. Мосякіна й М.М. Федорончука (Mosyakin and Fedoronchuk, 1999).

Результати та їх обговорення

У складі рослинності полігону виділено 8 синтаксонів рангу асоціацій, які належать до 7 союзів, 6 порядків та 5 класів. Синтаксономічна схема рослинності полігону токсичних відходів гексахлорбензолу:

Cl. *Phragmito-Magnocaricetea* Klika in Klika et Novak 1941
- Ord. *Phragmitetalia* W. Koch 1926
  - All. *Phragmition communis* W. Koch 1926
    - Ass. *Phragmitetum communis* (Gams 1927) Schmale 1939
    - Ass. *Typhetum latifoliae* G. Lang 1973

Cl. *Bolboschoenetea maritimi* Vicherek et R.Tx. 1969 ex R.Tx. et Hulbusch 1971
- Ord. *Bolboschoenetalia maritimi* Hejni in Holub et al. 1967
  - All. *Scirpion maritimi* Dahl et Hadac 1941
    - Ass. *Typhetum laxmannii* (Ubriszi 1961) Nedelcu 1968

Cl. *Asteretea tripolium* Westhoff et Beeftink 1962 in Beeftink 1962
- Ord. *Atremisio santonicae-Limonietalia gmelinii* V.Golub et V. Solomakha 1988
  - All. *Astero tripolii-Puccinellion distantis* V.Golub et V. Solomakha 1988
    - Ass. *Puccinellio distanti-Tripolietum vulgare* Smetana, Derpoluk, Krasova 1997

Cl. *Artemisietea vulgaris* Lohm., Prsg. et al. ex von Rochow 1951
- Ord. *Artemisietalia vulgaris* Lohm. in R.Tx. 1947
  - All. *Arction lappae* R.Tx. 1937 em Gutte 1972
    - Ass. *Tussilagietum farfarae* Oberd. 1949
- Ord. *Meliloto-Artemisietalia absinthii* Elias 1979
  - All. *Dauco-Melilotion albi* Gors em Elias 1980
    - Ass. *Meliloletum albi-officinalis* Siss 1950
  - All. *Potentillo-Artemision absinthii* Elias (1979) 1980
    - Ass. *Tanaceto-Artemisietum vulgaris* Br.-Bl. corr. 1949

Cl. *Agropyretea repentis* Oberd., Th.Mull. et Gors in Oberd. et al. 1967
- Ord. *Agropyretalia repentis* Oberd., Th.Mull. et Gors in Oberd. et al. 1967
  - All. *Convolvulo-Agropyrion repentis* Gors 1966
    - Ass. *Calamagrostietum epigeios* Kost. in V. Solomakha et al. 1992

Угруповання класу *Phragmito-Magnocaricetea* (табл. 1) поширені на ділянках із надмірним зволоженням.

У межах класу виділено дві асоціації. Асоціація *Phragmitetum communis* об'єднує угруповання, зосереджені у зниженій південній частині полігону, а також на окремих ділянках у західній та центральній його частинах. Угруповання – дво-триярусні, їх загальне проективне покриття становить 95–100%, видове багатство – 26 видів судинних рослин. Верхній ярус заввишки 100–120 см (60–100%) включає *Phragmites australis* (60–100%), *Calamagrostis epigeios* (10–30%). Нижній ярус заввишки 50–60 см, із проективним покриттям 10–30(60)%, сформований *Poa palustris* (10–20%), *Bolboschoenus maritimus* (±30%), *Juncus conglomeratus* (±10%), іншими гігрофільними видами. До складу угруповань входять також пратанти (*Leucanthemum vulgare*, *Lotus arvensis*), синантропанти (*Soncus arvensis*, *Phalacroloma annuum*, *Carduus crispus*), галофанти (*Tripolium vulgare*, *Spergularia salina*, *Puccinellia distans*).

Угруповання асоціації *Typhetum latifoliae* має форму смуги у південній частині полігону. У верхньому ярусі заввишки 80–100 см домінує *Typha latifolia* (80%), наявні також *Phragmites australis* (10%), *Typha angustifolia* (10%), *Calamagrostis epigeios*. У середньому ярусі заввишки 30–50 см поодиноко трапляються *Juncus articulatus*, *Lysimachia vulgaris*, *Alisma plantago-aquatica*, у нижньому ростуть *Puccinellia distans* (10%) і *Spergularia marina* (5%).

Клас *Bolboschoenetea maritimi* представлений асоціацією *Typhetum laxmanii*, угруповання якої фрагментарно поширені у західній та південно-західній частинах полігону – у заболочених місцях і по периферії невеликих водойм (табл. 2). Видове багатство угруповань становить 19 видів. У верхньому ярусі заввишки 80–110 см домінує *Typha laxmannii* (60–95%), присутні також *Typha latifolia*, *Deschampsia caespitosa* (±10%), *Calamagrostis epigeios*. Нижній ярус заввишки 20–60 см об'єднує *Bolboschoenus maritimus* (±10%), *Juncus articulatus* (±10%), *Puccinellia distans* (±10%), *Holcus lanatus*, *Lysimachia vulgaris*, *Persicaria hydropiper*, *Juncus compressus*, *Poa palustris* тощо.

У центральній та східній частинах полігону порівняно великі площі займають галофільні угруповання асоціації *Puccinellio distanti-Tripolietum vulgare* з класу *Asteretea tripolium* (табл. 3).

Таблиця 1

Фітоценотична характеристика класу *Phragmito-Magnocaricetea* на гексахлорбензоловому полігоні

Номер опису	9	7	16	13
Загальна кількість видів	22	19	16	12
Проективне покриття	95	100	100	90
Номер синтаксону	1			2
D.s. ass. *Phragmitetum communis*				
Phragmites australis	5	4	5	2
D.s. ass. *Typhetum latifoliae*				
Typha latifolia	–	+	+	5
D.s. Cl. *Phragmito-Magnocaricetea*				
Alisma plantago-aquatica	1	+	+	+
Typha angustifolia	+	+	1	1
D.s. Cl. *Scheuchzerio-Caricetea fuscae*				
Juncus articulatus	+	–	+	+
D.s. Cl. *Molinio-Arrhenatheretea*				
Leucanthemum vulgare	+	+	–	–
D.s. Cl. *Crypsietea aculeatae*				
Spergularia salina	–	–	1	1
D.s. Cl. *Bolboschoenetea maritimi*				
Bolboschoenus maritimus	2	–	+	–
D.s. Cl. *Asteretea tripolium*				
Tripolium vulgare	–	–	+	–
D.s. Cl. *Robinietea*				
Phalacroloma annuum	+	+	–	–
D.s. Cl. *Bidentetea tripartiti*				
Mentha arvensis	+	+	–	–
Persicaria hydropiper	+	–	–	–
Rorippa palustris	+	+	–	–
D.s. Cl. *Stellarietea mediae*				
Sonchus arvensis	+	+	+	–
D.s. Cl. *Artemisietea vulgaris*				
Carduus crispus	+	–	–	–
Tanacetum vulgare	+	+	–	–
D.s. Cl. *Agropyretea repentis*				
Calamagrostis epigeios	2	1	2	+
Інші види				
Eupatorium cannabinum	+	+	–	–
Juncus compressus	+	–	+	–
J. conglomeratus	+	1	+	–
J. effusus	+	+	–	+
Lotus arvensis	+	+	–	–
Lythrum salicaria	+	+	–	+
Poa palustris	3	2	2	–
P. trivialis	+	+	–	–
Puccinellia distans	–	–	1	2
Rumex crispus	–	–	+	+

Примітки: види, відмічені в одному описі: *Deschampsia caespitosa* (16), *Lysimachia vulgaris* (13); сірим кольором виділено діагностичні види асоціації; прочерк – вид в описі відсутній.

Загальне проективне покриття угруповань здебільшого коливається в межах 30–60%, іноді – 10–20%, зрідка сягає 90–100%. Загальне видове багатство угруповань становить 43 види. Верхній ярус заввишки 60–90 см дуже розріджений, із проективним покриттям 2–10%. До його складу входять *Calamagrostis epigeios* (±5%), *Elytrigia repens* (±5%), *Tanacetum vulgare* (±10%), *Phragmites australis*, *Deschampsia caespitosa*, *Melilotus albus*, *Eupatorium cannabinum* тощо. У середньому ярусі з проективним покриттям 10–60% домінують *Puccinellia distans* (20–50%) і *Tripolium vulgare* (10–50%), присутні також *Poa trivialis* (±20%), *Persicaria hydropiper*, *Atriplex sagittata* тощо. Нижній ярус заввишки до 10 см формують *Spergularia salina* (5–10%), *Chenopodium glaucum*, *Polygonum aviculare* (±10%). У складі угруповань виявлено низку синантропних видів (*Phalacroloma annuum*, *Echinochloa crusgalli*, *Lepidium ruderale*, *Conyza canadensis*, *Brassica campestris*, *Setaria glauca*, *Tripleurospermum inodorum*), що, передусім, пов'язано з незімкнутістю травостою.

Таблиця 2

Фітоценотична характеристика класу *Bolboschoenetea maritimi* на гексахлорбензоловому полігоні

Номер опису	4	6	22
Загальна кількість видів	10	13	12
Проективне покриття	85	80	95
Номер синтаксону	3		
D.s. Ass. *Typhetum laxmanii*			
Typha laxmannii	4	5	5
D.s. Cl. *Bolboschoenetea maritimi*			
Bolboschoenus maritimus	1	+	+
D.s. cl. *Phragmito-Magnocaricetea*			
Phragmites australis	–	+	+
Typha latifolia	+	+	+
D.s. Cl. *Scheuchzerio-Caricetea fuscae*			
Juncus articulatus	2	–	1
D.s. Cl. *Molinio-Arrhenatheretea*			
Daucus carota	–	+	–
D.s. Cl. *Crypsietea aculeatae*			
Spergularia salina	1	–	–
D.s. Cl. *Bidentetea tripartiti*			
Persicaria hydropiper	+	+	–
D.s. Cl. *Agropyretea repentis*			
Calamagrostis epigeios	+	–	+
Elytrigia repens	–	+	–
Інші види			
Holcus lanatus	–	+	+
Juncus compressus	–	+	+
Lotus arvensis	1	2	–
Lysimachia vulgaris	+	–	+
Poa palustris	–	+	+
Puccinellia distans	2	–	1

Примітки: види, відмічені в одному описі: *Deschampsia caespitosa* (6), *Juncus conglomeratus* (22), *Melilotus albus* (6); сірим кольором відмічено діагностичні види асоціації; прочерк – вид в описі відсутній.

Клас *Artemisietea vulgaris*, що об'єднує рудеральні угруповання, у межах полігону представлений трьома асоціаціями (табл. 4).

Угруповання асоціації *Tanaceto-Artemisietum vulgaris* поширені по периферії полігону, зокрема, обабіч польової дороги в північній та східній частинах. Домінантами верхнього ярусу заввишки 80–100 см є *Tanacetum vulgare* (30–50%), *Artemisia vulgaris* (10–30%), *Calamagrostis epigeios* (±30%), *Eupatorium cannabinum* (5–20%). Проективне покриття другого ярусу становить 5–15%. До його складу входять *Elytrigia repens* (5–10%), *Daucus carota* (±5%), *Lactuca serriola*, *Cirsium vulgare*, *Chenopodium album* тощо.

Угруповання асоціації *Tussilagietum farfarae* відмічене на насипах ґрунту у західній периферійній частині полігону. В угрупованні домінує *Tussilago farfara* (20–60%); високі значення проективного покриття характерні також для *Daucus carota* (10–30%), *Cirsium vulgare* (±30%), *Puccinellia distans* (5–20%).

Таблиця 3

Фітоценотична характеристика класу *Asteretea tripolium* на гексахлорбензоловому полігоні

Номер опису	14	15	18	19	8
Загальна кількість видів	10	9	16	18	22
Проективне покриття	45	30	30	95	50
Номер синтаксону	4				
D.s. Ass. *Puccinellio distanti-Tripolietum vulgare*					
Tripolium vulgare	3	2	2	3	2
Puccinellia distans	3	3	2	4	3
D.s. cl. *Phragmito-Magnocaricetea*					
Phragmites australis	–	–	+	–	–
D.s. Cl. *Molinio-Arrhenatheretea*					
Achillea submillefolium	–	–	–	+	–
Dactylis glomerata	–	–	–	–	+
Daucus carota	–	–	+	–	+
D.s. Cl. *Crypsietea aculeatae*					
Chenopodium glaucum	–	+	–	–	+
Spergularia salina	2	2	1	–	1
D.s. Cl. *Robinietea*					
Phalacroloma annuum	–	–	–	–	+
Urtica dioica	–	–	–	+	–
D.s. Cl. *Orizetea sativae*					
Echinochloa crusgalli	–	–	+	2	–
D.s. Cl. *Bidentetea tripartiti*					
Bidens tripartita	–	–	–	+	–
Persicaria hydropiper	–	–	+	2	–
Rorippa palustris	–	–	–	2	–
Rumex maritimus	–	–	–	+	–
D.s. Cl. *Polygono arenastri-Poëtea annua*					
Lepidium ruderale	–	–	–	–	+
Lolium perenne	+	–	–	–	–
Polygonum aviculare	+	–	+	–	–
D.s. Cl. *Stellarietea mediae*					
Chenopodium album	–	–	–	+	–
Conyza canadensis	–	–	–	–	1
Persicaria maculosa	–	–	–	2	–
D.s. Cl. *Artemisietea vulgaris*					
Artemisia vulgaris	–	–	–	+	–
Atriplex sagittata	+	–	–	–	–
Melilotus officinalis	+	+	–	–	–
Tanacetum vulgare	–	–	+	–	2
D.s. Cl. *Agropyretea repentis*					
Calamagrostis epigeios	+	1	+	–	1
Elytrigia repens	–	–	+	+	1
Інші види					
Eupatorium cannabinum	+	+	–	–	+
Lotus arvensis	–	–	–	–	2
Melilotus albus	+	+	–	–	+
Poa trivialis	–	–	1	2	2
Trifolium repens	–	–	–	–	2
Tripleurospermum inodorum	–	–	+	+	–

Примітки: види, відмічені в одному описі: *Agrostis canina* (19), *A. stolonifera* (15), *Alopecurus geniculatus* (19), *Betula pendula* (8), *Brassica campestris* (18), *Chenopodium chenopodioides* (19), *Ch. polyspermum* (18), *Deshampsia caespitosa* (8), *Heracleum sibiricum* (8), *Holcus lanatus* (8), *Poa palustris* (8), *Setaria glauca* (18); сірим кольором відмічені діагностичні види асоціації; прочерк – вид в описі відсутній.

Асоціація *Meliloletum albi-officinalis* представлена фрагментарними угрупованнями у західній та центральній частинах полігону. Верхній ярус заввишки 80–100 см має проективне покриття до 90%. Його домінантами є *Melilotus albus* (50–60%) і *M. officinalis* (30%). Наявні також *Phragmites australis* (10%), *Calamagrostis epigeios*, *Tanacetum vulgare*, *Artemisia vulgaris*, *Cichorium intybus* тощо. У середньому ярусі з проективним покриттям 10% ростуть *Cirsium arvense*, *Poa palustris*, *P. trivialis*, *Daucus carota*. Нижній ярус, що теж має проективне покриття до 10%, включає *Lotus arvensis*, *Trifolium repens*, *Tussilago farfara*.

Таблиця 4

Фітоценотична характеристика класу *Artemisietea vulgaris* на гексахлорбензоловому полігоні

Номер опису	11	21	1	12
Загальна кількість видів	10	21	19	18
Проективне покриття	95	90	70	100
Номер синтаксону	5		6	7
D.s. Ass. *Tanaceto-Artemisietum vulgaris*				
Tanacetum vulgare	3	3	+	+
Artemisia vulgaris	1	2	–	+
Cichorium intybus	+	–	–	+
Daucus carota	1	1	2	–
Lactuca serriola	+	+	+	–
D.s. Ass. *Tussilagietum farfarae*				
Tussilago farfara	–	–	3	+
D.s. Ass. *Meliloletum albi-officinalis*				
Melilotus albus	–	–	–	4
M. officinalis	–	–	+	3
Achillea submillefolium	–	+	–	1
D.s. Cl. *Artemisietea vulgaris*				
Artemisia absinthium	–	–	+	–
Carduus crispus	+	+	–	–
D.s. Cl. *Phragmito-Magnocaricetea*				
Phragmites australis	–	–	–	2
D.s. Cl. *Molinio-Arrhenatheretea*				
Daucus carota	–	–	–	+
Festuca pratensis	–	+	–	–
Trifolium pratense	–	+	–	–
Vicia cracca	–	–	–	+
D.s. Cl. *Bidentetea tripartiti*				
Mentha arvensis	–	+	–	–
D.s. Cl. *Polygono arenastri-Poëtea annua*				
Lepidium ruderale	–	+	–	–
Plantago major	–	–	+	–
Polygonum aviculare	–	–	+	–
D.s. Cl. *Stellarietea mediae*				
Chenopodium album	–	+	+	–
Conyza canadensis	–	–	+	–
Sonchus arvensis	–	–	+	–
D.s. Cl. *Agropyretea repentis*				
Calamagrostis epigeios	2	2	–	+
Elytrigia repens	1	2	+	+
Інші види				
Cirsium vulgare	–	1	1	–
Equisetum arvense	–	+	+	–
Eupatorium cannabinum	2	2	–	–
Puccinellia distans	–	+	1	–
Salix purpurea	+	+	–	–
Trifolium repens	–	–	+	+
Tripleurospermum inodorum	–	+	+	–

Примітки: види, відмічені в одному описі: *Cirsium arvense* (12), *Epilobium hirsutum* (12), *Lotus arvensis* (12), *Medicago lupulina* (1), *Papaver rhoeas* (21), *Poa palustris* (12), *P. Trivialis* (12), *Stellaria graminea* (21), *Taraxacum officinale* (1); сірим кольором відмічено діагностичні види асоціацій; прочерк – вид в описі відсутній.

Північно-західна та центральна ділянки полігону з більш-менш помірним режимом зволоження ґрунту здебільшого зайняті рудеральними угрупованнями асоціації *Calamagrostietum epigeios* із класу *Agropyretea repentis* (табл. 5). Угруповання переважно зімкнуті, дво-триярусні. Їх загальне видове багатство становить 54 види судинних рослин. Проективне покриття верхнього ярусу заввишки 80–110 см становить 50–100%; він сформований *Calamagrostis epigeios* (30–100%), *Deschampsia caespitosa* (10%), *Melilotus albus* (±50%), *Tanacetum vulgare*, *Eupatorium cannabinum*.

Проективне покриття другого ярусу заввишки 30–60 см коливається від 5% до 65%. У його складі домінують *Artemisia absinthium* (±10%), *Elytrigia repens* (±10%), *Daucus carota* (10–20%), *Lolium perenne* (10–25%), *Poa trivialis* (±10%). Нижній ярус заввишки 5–15 см включає *Lotus arvensis* (±20%), *Potentilla anserina*, *Trifolium arvense* тощо.

Угруповання асоціації *Calamagrostietum epigeios* відзначаються різноманіттям еколого-ценотичних груп. У їх складі наявні пратанти – *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Leucanthemum vulgare*, *Holcus lanatus* тощо, палюданти – *Juncus conglomeratus* (±20%), *J. articulatus*, *J. effusus*, *Poa palustris* (±30%), *Alisma plantago-aquatica*, *Typha angustifolia*, *Bidens tripartita*, *Lythrum salicaria*; галофіти – *Puccinellia distans* (±10%), *Spergularia salina*, синантропи – *Phalacrolomas annuum*, *Conyza canadensis*, *Cirsium vulgare*, *Oenothera biennis*, *Tripleurospermum inodorum*.

Загалом на території полігону наявні ділянки з проективним покриттям рослинності від 1–5% до 100%.

На ділянках із незімкненим рослинним покривом (у центральній та східній частинах полігону) переважають галофільні угруповання асоціації *Puccinellio distanti-Tripolietum vulgare* з класу *Asteretea tripolium*, що пов'язано з розташуванням полігону в межах Калусько-Голинського родовища калійних солей. Ці угруповання – початкова стадія демутаційних процесів відтворення рослинності на полігоні.

Ділянки зі сформованим рослинним покривом розташовані, переважно, у південній, західній і, частково, центральній частинах. На знижених ділянках із надмірним зволоженням поширені угруповання класу *Phragmito-Magnocaricetea* та *Bolboschoenetea maritimi*. Території з більш-менш помірним режимом зволоження ґрунту переважно зайняті рудеральними угрупованнями асоціації *Calamagrostietum epigeios* з класу *Agropyretea repentis* та, фрагментарно, – угрупованнями класу *Artemisietea vulgaris*.

По периферії полігону (ділянки 3, 11, 21) спостерігається заростання деревно-чагарниковою рослинністю, зокрема, видами роду *Salix* та *Alnus glutinosa*. У центральній частині (ділянка 8) відмічені *Betula pendula* й *Sorbus aucuparia*. Висота підросту становить 35–60 см, проективне покриття – ±10%.

У рослинному покриві полігону зареєстровано 119 видів судинних трав'яних рослин, що належать до 2 відділів (Equisetophyta та Magnoliophyta), 3 класів (Equisetopsida, Magnoliopsida та Liliopsida), 30 родин, 83 родів. Найбільше видове багатство у складі флори полігону притаманне родинам Poaceae (18,1% родів і 17,6% видів), Asteraceae (відповідно, 21,7% і 15,9%) і Fabaceae (8,4% і 10,9%).

Таблиця 5

Фітоценотична характеристика класу *Agropyretea repentis* на гексахлорбензоловому полігоні

Номер опису	3	5	10	17
Загальна кількість видів	41	18	17	7
Проективне покриття	95	100	100	60
Номер синтаксону	8			
D.s. Ass. *Calamagrostietum epigeios*				
Calamagrostis epigeios	3	5	5	4
Artemisia absinthium		+	+	1
D.s. Cl. *Agropyretea repentis*				
Elytrigia repens	2	–	–	–
D.s. Cl. *Artemisietea vulgaris*	–	–	–	–
Carduus crispus	–	+	–	+
Tanacetum vulgare	+	+	+	–
D.s. Cl. *Phragmito-Magnocaricetea*				
Alisma plantago-aquatica	+	–	–	–
Typha angustifolia	+	+	–	–
D.s. Cl. *Scheuchzerio-Caricetea fuscae*				
Juncus articulatus	+	–	–	–
D.s. Cl. *Molinio-Arrhenatheretea*				
Daucus carota	2	–	–	–
Dactylis glomerata	+	–	–	–
Festuca rubra		–	+	–
Leucanthemum vulgare	+	–	–	–
Trifolium pratense	+	–	–	–
D.s. Cl. *Koelerio-Corynephoretea*				
Trifolium arvense	–	+	1	–
D.s. Cl. *Crypsieta aculeatae*				
Spergularia salina	–	–	+	–
D.s. Cl. *Salicetea purpureae*				
Salix alba	+	–	–	–
D.s. Cl. *Alnetea glutinosae*				
Alnus glutinosa	+	–	–	–
Salix cinerea	+	–	–	–
D.s. Cl. *Robinietea*				
Phalacrolomas annuum	–	–	–	–
D.s. Cl. *Bidentetea tripartiti*				
Bidens tripartita	+	+	+	–
Mentha arvensis	+	–	–	–
Persicaria hydropiper	+	–	–	–
D.s. Cl. *Polygono arenastri- Poëtea annua*				
Lolium perenne	2	–	–	–
D.s. Cl. *Stellarietea mediae*				
Conyza canadensis	+	–	–	–
Sonchus arvensis	–	+	+	–
D.s. Cl. *Galio-Urticetea*				
Galega officinalis	+	–	–	–
D.s. Cl. *Epilobietea angustifolii*				
Centaurium erythraea	+	–	–	–
Інші види				
Cirsium vulgare	–	+	+	–
Deschampsia caespitosa	–	2	–	+
Juncus conglomeratus	+	2	1	–
J. effusus	–	+	+	–
Lotus arvensis	2	+	1	–
Lysimachia vulgaris	–	+	+	–
Lythrum salicaria	+	+	+	–
Melilotus albus	3	–	–	2
Poa palustris	+	2	–	–
P. trivialis	–	–	+	+
Puccinellia distans	1	–	–	1
Rumex acetosa	–	+	+	–
Tripleurospermum inodorum	+	+	–	–

Примітки: види, відмічені в одному описі: *Eupatorium cannabinum* (3), *Heracleum sibiricum* (3), *Holcus lanatus* (3),

Hypericum perforatum (10), *Juncus bufonius* (3), *J. compressus* (3), *Lactuca serriola* (3), *Medicago falcata* (3), *Oenothera biennis* (3), *Potentilla anserina* (3), *Rorippa sylvestris* (3), *Salix aurita* (3), *Salix purpurea* (3), *Trifolium repens* (3), *Vicia sativa* (3); сірим кольором відмічено діагностичні види асоціації; прочерк – вид в описі відсутній.

У складі флори виявлено 7 еколого-ценотичних груп рослин. Переважають пратанти (34,5%), синантропи (28,6%) та палюданти (21,8%). Частки сільвантів, псамофітів і галофітів становлять по 4,2%, а маргантів – 2,5%.

Близько половини видів належать до багаторічних трав'яних рослин (52,1%). Частка однорічників становить 26,9%, дворічників – 15,1%. До чагарників і дерев належить 5,9% видів флори полігону.

Флористичний склад угруповань полігону, що належать до класів *Artemisietea vulgaris* й *Agropyretea repentis*, близький до відповідних синтаксонів рудеральної рослинності України та країн Центральної Європи (Matuszkiewicz, 2001; Prach et al., 2001; Kojić et al., 2004; Solomakha, 2008; Dancza, 2009; Jarić et al., 2011; Rahmonov et al., 2013).

Те ж можна сказати про гігрофільні синтаксони класів *Phragmito-Magnocaricetea*, *Bolboschoenetea maritimi*, а також про галофільні угруповання класу *Asteretea tripolium* (Matuszkiewicz, 2001; Solomakha, 2008; Tzonev et al., 2008). Особливість синтаксонів цих класів на території полігону – помітна участь у їх складі синантропних видів рослин. Це свідчить про спонтанний характер сукцесії рослинності полігону.

Висновки

На полігоні токсичних відходів гексахлорбензолу після рекультивації ґрунтового покриву відбуваються демутаційні природні процеси відновлення рослинності. Попри невелику площу полігону, на його території виділено 8 асоціацій, які належать до 5 класів: *Phragmito-Magnocaricetea*, *Bolboschoenetea maritimi*, *Asteretea tripolium*, *Artemisietea vulgaris*, *Agropyretea repentis*. Диференціація рослинного покриву зумовлена неоднорідністю едафічних та гідрологічних умов, а також різною активністю сукцесійних процесів.

Бібліографічні посилання

Barbarych, A.I., 1977. Heobotanichne raionuvannia Ukrainskoi RSR [Geobotanical zoning Ukrainian SSR]. Naukova Dumka, Kyiv (in Ukrainian).

Canonero, R., Campart, G.B., Mattioli, F., Robbiano, L., Martelli, A., 1997. Testing of dichlorobenzene and hexachlorobenzene for their ability to induce DNA damage and micronucleus formation in primary cultures of rat and human hepatocytes. Mutagenesis 12, 35–39.

Dancza, I., 2009. Syntaxonomic studies on the ruderal plant communities in Southwest Transdanubia (Hungary). Acta Bot. Hung. 51, 35–59.

Eurochlor, 2005. Hexachlorobenzene – Sources, environmental fate and risk characterisation. Science dossier edited by Barber, J., Sweetman, A., Jones, K. Brussels, Belgium.

Herenchuk, K.I., 1973. Pryroda Ivano-Frankivskoi oblasti [Nature Ivano-Frankivsk region]. Vyshcha Shkola, Lviv (in Ukrainian).

Hexachlorobenzene. BUA Report 119 (German Chemical Society-Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance), 1994. Stuttgart, S. Hirzel Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.

Jarić, S., Mitrović, M., Vrbničanin, S., Karadžić, B., Djurdjević, L., Kostić, O., Mačukanović-Jocić, M., Gajić, G., Pavlović, P., 2011. A contribution to studies of the ruderal vegetation of Southern Srem, Serbia. Arch. Biol. Sci. 63(4), 1181–1197.

Kojić, M., Stanković-Kalezić, R., Radivojević, L., Vrbničanin, S., 2004. Contribution to the study of the ruderal vegetation of Astern Srem II. Acta Herbologica 13(1), 75–82.

Kosman, Y.H., Sirenko, I.P., Solomakha, V.A., Sheliah-Sosonko, Y.R., 1991. Novyi kompiuternyi metod obrobky opysiv roslynnykh uhrupovan [New computer processing method descriptions of plant communities]. Ukr. Botan. Zhurn. 48(2), 98–104 (in Ukrainian).

Matuszkiewicz, W., 2001. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski [Guide for the determination of plant Polish]. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa (in Polish).

Mosyakin, S., Fedoronchuk, M., 1999. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. National Academy of Sciences of the Ukraine, Kiev.

Natsionalnyi atlas Ukrainy [National Atlas of Ukraine], 2008. Kartohrafiia, Kyiv (in Ukrainian).

Prach, K., Pyšek, P., Bastl, M., 2001. Spontaneous vegetation succession in human disturbed habitats: A pattern across areas. Appl. Veg. Sci. 4, 83–88.

Rahmonov, O., Snytko, V.A., Szczypek, T., Parusel, T., 2013. Vegetation development on post-industrial territories of the Silesian Upland (Southern Poland). Geography and Natural Resources 34(1), 96–103.

Solomakha, V.A., 2008. Syntaksonomiia roslynnosti Ukrainy [Syntaxonomy vegetation Ukraine]. Fitosotsiotsentr, Kyiv (in Ukrainian).

Tzonev, R., Lysenko, T., Gusev, C., Zhelev, P., 2008. The halophytic vegetation in South-East Bulgaria and along the Black Sea Coast. Hacquetia 7(2), 95–121.

Yamborko, N.A., Iutynska, H.O., Levchuk, I.V., Pindrus, A.A., 2013. Komponentnyi sklad zabrudnen i stan mikrobnoho tsenozu gruntu polihonu zakhoronennia khlororhanichnykh vidkhodiv [Component composition of microbial contamination and condition coenosis soil landfill waste disposal organochlorine]. Mikrobiol. Zhurn. 75(3), 24–31 (in Ukrainian).

Yunatov, A.A., 1964. Tipy i soderzhaniye geobotanicheskikh issledovaniy. Vybor probnykh ploshchadey i zalozheniye ekologicheskikh profiley [Types and content of geo-botanical studies. Selection of plots and the initiation of environmental profiles]. Polevaya geobotanika [Field geobotany], 3. Nauka, Moscow, Leninhrad. P. 9–36 (in Russian).

Надійшла до редколегії 12.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 371–377.

doi:10.15421/011649

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК [630*11+504]:234.421.1

Біоекологічні засади підтримання стабільності гірських лісових екосистем Українських Карпат

Т.В. Парпан

Український науково-дослідний інститут гірського лісівництва імені П.С. Пастернака, Івано-Франківськ, Україна

Лісовий покрив Карпат глибоко перетворений виробничою діяльністю минулих століть. Змінилась лісистість, вікова та видова структура екосистем. На місці букових і ялицевих лісів сформувались монокультури ялини європейської. За таких умов змінився біотичний кругообіг азоту та зольних елементів, порушились генетико-популяційна структура та виконання лісами екологостабілізаційних функцій. Це вимагає опрацювання біоекологічних засад щодо підтримання стабільності гірських лісових екосистем. Запропоновані біоекологічні засади підтримання та відновлення стабільності гірських лісових екосистем Українських Карпат – складова парадигми гірського лісознавства та лісівництва. Стратегія підтримання базується на біолого-екологічних, популяційно-генетичних особливостях головних лісотвірних видів, еволюційно-типологічній класифікації лісів, ландшафтно-екологічній специфіці гірської частини Українських Карпат, особливостях структури пралісових, старовікових і антропогенно порушених лісів, виконанні лісовими екосистемами функціональної ролі. У практичному плані підтримання стабільності передбачає застосування в ландшафтних екосистемах природоохоронних, вибіркових, оздоровчих і поступових рубок, формування наближених до природних деревостанів, орієнтацію на природне відновлення як стабілізувальної основи гірських лісових екосистем.

Ключові слова: природне відновлення; підтримання стабільності; гірські екосистеми; Українські Карпати

Bioecological principles of maintaining stability in mountain forest ecosystems of the Ukrainian Carpathians

T.V. Parpan

Ukrainian Research Institute of Mountain Forestry named after P.S. Pasternak, Ivano-Frankivsk, Ukraine

The forest cover of the Carpathians has been deeply transformed by productive activities over the past centuries. The forest cover, age and species structure of its ecosystems have been changed. Beech and fir forests were replaced by spruce monocultures. Consequently, nitrogen and mineral elements cycles changed, the genetic and population structures altered and the eco-stabilizing function of forests decreased. These negative trends make it desirable to process the bioecological principles of maintenance the stability of mountain forest ecosystems. The proposed bioecological principles of support and recovery of stability of forest ecosystems are part of the paradigm of mountain dendrology and silviculture. The strategy is based on maintaining bio-ecological and population-genetical features of the main forest forming species, evolutionary typological classification of the forests, landscape and environmental specifics of the mountain part of the Ukrainian Carpathians, features of virgin, old growth and anthropogenically disturbed forest structures, as well as performing the functional role of forest ecosystems. Support for landscape ecosystem stability involves the conservation, selective, health and gradual cutting, formation of forest stands which are close to natural conditions and focusing on natural regeneration (a basis for stable mountain forest ecosystems).

Keywords: natural regeneration; support of stability; mountain ecosystems; Ukrainian Carpathians

Український науково-дослідний інститут гірського лісівництва імені П.С. Пастернака, вул. Грушевського, 31, Івано-Франківськ, 76018, Україна
Ukrainian Research Institute of Mountain Forestry named after P.S. Pasternak, Hrushevskoho Str., 31, Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine
Tel.: +38-050-690-08-13. E-mail: tarasparpan@gmail.com

Вступ

Українські Карпати залишаються одним із небагатьох природних національних надбань, слугують осередком збереження біорізноманіття, територією із самобутніми пралісами та унікальними гірськими ландшафтами. Розташовані у центрі Європи, лісові масиви карпатського краю все частіше виступають об'єктом міжнародних угод у сфері охорони довкілля та численних наукових проектів екологічного та ресурсного спрямування.

У лісовому покриві Карпат переважають ліси природно-культурного походження, які за віковою фітоценотичною структурою, екологічною стабільністю відрізняються від природних лісових формацій. Широкомасштабні трансформації в лісовому біомі негативно позначались на біотичному, фітоценотичному та ландшафтному різноманітті. У гумідному регіоні, в якому середньорічна кількість опадів сягає 1 600 мм, лісові екосистеми мають вагоме значення для забезпечення стабільного гідрологічного режиму в річкових басейнових екосистемах (Oliynyk, 2013).

Упродовж агрокультурного періоду, внаслідок різних видів антропогенного впливу лісистість у гірських умовах становить 55,4% (Parpan and Hudyma, 2015). У результаті екологічно не обґрунтованої коніферизації (Stoyko, 2014) на місці природних листяних і хвойно-листяних лісів створені біологічно нестабільні лісокультури ялини, які в даний період усихають (Parpan et al., 2014). Масштабні територіальні та ценотичні трансформації гірських лісів негативно позначилися на екологічному балансі регіону. Частішими стали небезпечні повені, зсуви ґрунту, селеві потоки та інші схилові процеси (Oliynyk, 2013). Тому пріоритетне завдання – підтримання стабільності гірських екосистем, відновлення їх функціональної ролі (Holubets', 2016). У горах стабілізувальна роль гірських лісових екосистем визначає рівень збереженості екологічних функцій (водоохоронних, захисних тощо) в межах окремих басейнових екосистем (Oliynyk, 2013; Parpan and Kichura, 2015). Важливо зазначити, що природність лісових екосистем – запорука стійкості та стабільності. За походженням, рівнем збереженості (природності, натуральності) швидкості проходження природного циклу розвитку та антропогенного впливу ліси карпатського регіону (Chernyavs'kyy, 2014) поділяються на чотири основні категорії: праліси, природні (старовікові) ліси на місці пралісів, природно-штучні ліси з постійним впливом людини та лісові культури.

До пралісу належить лісовий масив, який ніколи не зазнавав людського втручання, у своїй структурі та динаміці демонструє природний розвиток (Parpan, 1994). Він цікавий із позицій тривалих досліджень у лісовій екології (Korpel, 1982; Chystjakova and Parpan, 1991). Природні старовікові ліси – такі деревостани, склад деревних видів яких відповідає типу лісу (корінні асоціації). Природні ліси мають структуру корінного деревостану у відповідному типі лісу, на які, однак, вплинула людина. Природно-штучні ліси за походженням – природні, але можуть формуватися та регулюватися людиною. Ця категорія лісів найпоширеніша в лісовому покриві Карпат. Лісові культури – деревостани, які створюються посівом або посадкою. Стабільність цих лісових екосистем різна.

Природний склад лісів Карпат у різні історичні епохи значно залежав від зміни кліматичних умов, а в останні два століття – унаслідок господарської діяльності людини. У процесі філогенезу в гірських умовах Українських Карпат сформувалось 11 основних формацій лісів: ялини європейської, ялиці білої, бука лісового, дуба скельного, дуба черешчатого, сосни звичайної, сосни гірської, вільхи чорної, вільхи сірої, вільхи зеленої, ялівця звичайного.

У сучасному лісовому покриві площа гірських лісів Українських Карпат, які підпорядковані Державному агентству лісових ресурсів України, становить 1 022 тис. га, у тому числі на південно-західний (Закарпатський) мегасхил припадає 44,4%, а на південно-східний (Передкарпатський) – 55,6% лісового покриву.

За останні два-три століття в гірських умовах Карпат унаслідок переважно головних і санітарних суцільних рубок відбулися масштабні сукцесійні процеси, що вплинули на стабільність лісових екосистем. Вважається, що стабільна лісова екосистема – екосистема, яка досягла стадії кульмінації розвитку (сукцесійного клімаксу), що характеризує її нормальний, за генетичною програмою, розвиток, має високий вміст інформації, максимальну кількість біотичних та абіотичних зв'язків у конкретних екологічних умовах (Holubets' and Tsarik, 1992; Kimmins, 1997). Відносно стабільні в Карпатах клімаксові природні екосистеми (праліси), яким властива динамічна рівновага (Parpan, 1994; Parpan et al., 2009), а стійкість необхідно трактувати як окрему властивість лісової екосистеми, яка характеризує її здатність протистояти впливам абіотичних та біотичних чинників (Holubets' and Tsarik, 1992).

Успіх аналізу стабільності та її підтримання залежить від вдало вибраної методологічної бази. Методично успішна для цього лісівничо-екологічна класифікація П.С. Погребняка – Д.В. Воробйова (Vorobyov, 1967; Belgard, 1971) з доповненнями та уточненнями М.А. Голубця (Holubets', 2007). Суть використаного підходу зводиться до того, що основними таксономічними одиницями лісівничо-екологічної класифікації є тип лісорослинних умов (екологічна група типів лісу), тип лісу та тип деревостану, які використовують як одне єдине ціле, як тісно поєднана, природна, генетично пов'язана, екологічно визначена типологічна система одиниць (Krynyts'kyy, 2007). Для встановлення типу лісорослинних умов використовується едафічна сітка в кожній кліматичній області або висотному поясі.

Друга класифікаційна одиниця – тип лісу, в якому поєднуються лісові ділянки, вкриті одним корінним типом деревостану. Він – наслідок тривалого природного формування та пристосування до умов середовища. Тип деревостану – найрухливіший і нестабільний у часі та просторі компонент лісової екосистеми, безпосередній об'єкт господарювання. Типи деревостану можуть бути корінними та похідними. Тому антропогенно змінені чи створені штучно лісостани класифікаційно підпорядковані тим корінним угрупованням, типам лісу, на місці яких вони виникли. Тип деревостану розуміємо як тип лісового біогеоценозу, або біогеоценотичну екосистему за М.А. Голубцем.

Одиниці вищого рангу в класифікації лісової рослинності ми приймаємо відповідно до запропонованої М.А. Голубцем синтаксономії, а саме лісова формація та субформація (Holubets', 2007). Формація – об'єднання

монодомінантних і багатодомінантних кліматичних, географічних та історично зумовлених субформацій (груп типів лісу) якогось одного домінантного ярусу едифікаторної синузії. Субформація об'єднує типи лісу та типи лісорослинних умов, які характеризуються однаковим складом домінантів едифікаторної синузії.

У цій публікації проаналізовано зміни в розрізі субформацій і формацій шляхом порівняння площ відновного лісового покриву та сучасного складу деревостанів за панівними породами. Отримані дані – базові для опрацювання засад із відновлення стабільності лісових екосистем. За формою динаміки природно-антропогенні зміни належать до екзогенних локальних антропогенних сукцесій за В.М. Сукачовим (Sukachov, 1964), або екодинамічних, локальних природно-антропогенних сукцесій за П.Д. Ярошенком (Yaroshenko, 1981).

Матеріал і методи досліджень

Матеріалами для аналізу масштабів природно-антропогенних змін гірських лісових екосистем Українських Карпат послужила сучасна повидільна база даних, за якою встановлювали склад деревостану за панівними породами відповідного типу лісу. Інші синтаксономічні одиниці класифікації прийняті відповідно до викладених вище положень. Велике продукційне, еколого-стабілізаційне та природоохоронне значення в гірських умовах мають лісові формації ялини, ялиці та бука, які є найбільш природно-антропогенно порушеними (Parpan and Hudyma, 2015), а стабільність визначає рівень збереження екологічних функцій.

Результати та їх обговорення

Типологічна структура гірських лісів Карпат. За екологічною приуроченістю в горах переважають мезотрофні умови (58,3%). На евтрофні припадає 39,0%, а на оліготрофні – 2,7%. Щодо сукцесій встановлено, що в первинному лісовому покриві формація ялинових лісів займала площу близько 370 тис. га, яка об'єднувала дев'ять типів лісорослинних умов. Найбільшу площу займали мезотрофні умови – 79,4%, евтрофні – 14,4 та оліготрофні – 6,2%. У формації сформувалось п'ять субформацій (табл. 1) і 19 типів лісу.

Таблиця 1

Субформації у гірських ялинових лісових екосистемах Українських Карпат

№	Субформації	Мегасхили		У цілому по Карпатах	
		північно-східний	південно-західний	га	%
1	Чисті ялинові ліси	80 512	16 163	96 675	26,2
2	Кедрово-ялинові ліси	4 875	286	5 161	1,4
3	Буково-ялицево-ялинові ліси	162 336	69 266	231 602	62,6
4	Буково-ялинові ліси	10 108	14 344	24 452	6,6
5	Ялицево-ялинові ліси	10 501	1 224	11 724	3,2
Разом		268 332	101 283	369 614	100,0

Формація ялинових лісів на 72,6% приурочена до північно-східного Передкарпатського мегасхилу Українських Карпат. Домінантні типи лісу – волога мезотрофна буково-ялицева сурамінь (48,7%) та рамінь (13,9%). На чисті ялинові ліси припадає 26,2%, у тому числі на вологу чисту сурамінь – 21,1%. Найбільші природно-антропогенні зміни охопили буково-ялицево-ялинові ліси. Вікова структура сучасних ялинових дендроценозів, через застосування суцільних рубок у минулому, нерівномірна: на молодняки першого класу припадає 8%, другого – 12%, середньовікові – 45%, пристиглі – 15%, стиглі – 15%, перестійні – 5%.

Площа формації ялицевих лісів у первинному лісовому покриві займала близько 190 тис. га. Вона об'єднує шість типів лісорослинних умов. За трофністю 60% припадає на мезотрофні, 40% – на мегатрофні умови. У формації сформувались сім субформацій (табл. 2) і 13 типів лісу.

Таблиця 2

Субформації у гірських ялицевих лісових екосистемах Українських Карпат

№	Субформації	Мегасхили		У цілому по Карпатах	
		північно-східний	південно-західний	га	%
1	Дубово-ялицеві ліси	3 154	0	3 154	1,7
2	Буково-ялицеві ліси	18 662	3 309	21 971	11,6
3	Грабово-буково-ялицеві ліси	6 710	259	6 969	3,7
4	Ялиново-буково-ялицеві ліси	411	0	411	0,2
5	Буково-ялиново-ялицеві ліси	138 813	18 192	157 005	82,7
6	Ялиново-ялицеві ліси	142	0	142	0,1
7	Чисті ялицеві ліси	66	0	66	0,0
Разом		167 958	21 760	189 718	100,0

Найбільшу площу (82,7%) займає буково-ялиново-ялицева субформація. Зміна едифікатора в ялицевих лісах – найбільш масштабна. За площею становить близько 95 тис. га. Найбільші антропогенні зміни відбулись у мішаних буково-ялиново-ялицевих типах. Тут на біологічно нестабільні похідні ялинові деревостани припадає близько 55 тис. га. Корінні буково-ялицеві деревостани через ендогенні сукцесійні процеси замінені похідними бучняками. Сучасні гірські ялицеві ліси найбільш антропогенно змінені, вимагають підтримання стабілізаційних функцій. Вікова структура ялицевих дендроценозів представлена молодняками першого класу – 22%, другого класу віку – 20%, середньовіковими деревостанами – 25%, пристигаючими – 13%, стиглими – 18%, перестійними – 2%.

Формація гірських букових лісів Карпат найстабільніша, займає близько 431,0 тис. га і на 73% приурочена до південно-західного мегасхилу. В межах формації сформувалось сім типів лісорослинних умов, дев'ять субформацій (табл. 3) та 29 типів лісу. Переважають монодомінантні букові ліси – 46,1%. Ялиново-ялицево-букові займають 21,8%, грабово-букові – 16,7% і ялицево-букові – 8,5%. Природно-антропогенні сукцесії вплинули на вікову та видову структуру букових дендроценозів. У віковому спектрі на молодняки першого класу припадає 5%, другого – 6%, середньовікові – 56%, на пристиглі – 12%, стиглі – 13% і перестійні – 7%. У формації букових лісів площа з домінуванням бука лісового у сучасному покриві зменшилась на 4,2 тис. га. Заміна відбулась на ялину, дуб черешчатий, дуб скельний, ялицю та інші деревні види.

Сукцесії гірських лісових екосистем на рівні формацій свідчать про їх різну масштабність (табл. 4).

Таблиця 3

Субформації у гірських букових лісових екосистемах Українських Карпат

№	Субформації	Мегасхили		У цілому по Карпатах	
		північно-східний	південно-західний	га	%
1	Чисті букові ліси	10 387	188 277	198 664	46,1
2	Дубово-грабово-букові ліси	2 916	8 669	11 584	2,7
3	Грабово-букові ліси	1 351	70 388	71 739	16,6
4	Грабово-ялицево-букові ліси	3 313	2 226	5 540	1,3
5	Ялицево-букові ліси	26 711	10 030	36 741	8,5
6	Ялиново-букові ліси	0	6 870	6 870	1,6
7	Ялиново-ялицево-букові ліси	69 824	23 975	93 799	21,8
8	Яворово-букові ліси	16	5 938	5 955	1,4
9	Тисово-букові ліси	90	0	90	0,0
Разом		114 608	316 373	430 982	100,0

Таблиця 4

Природно-антропогенні сукцесії гірських лісових екосистем (ліси Держлісагентства України)

Формація лісів	Первинний покрив		Сучасний покрив		Різниця, тис. га
	тис. га	%	гис. га	%	
Букових	430,9	42,2	426,7	41,8	–4,2
Ялицевих	189,7	18,5	95,9	9,4	–93,8
Смерекових	369,6	36,2	428,6	41,9	+59,0
Інші формації	31,5	3,1	70,5	6,9	+39,0
Разом	1 021,7	100,0	1 021,7	100,0	0,0

У першу чергу докорінно змінена вікова структура гірських лісів Карпат, чим знижена їх екологічна стабільність. У трьох лісових формаціях гірських лісів сформувалось 17 субформацій, 22 типи лісорослинних умов (екологічних груп типів лісу) і близько 60 типів лісу. Ці класифікаційні одиниці – наукова основа підтримання порушеної стабільності лісових екосистем.

Підтримання біоекологічної стабільності гірських лісових екосистем передбачає аналіз генетичної структури лісотвірних видів – едифікаторів, які заселяють екотоп і включають дерева різних поколінь, а також підріст, сходи, насіння та пилок (Sannikov et al., 2012). Незважаючи на очевидність і актуальність цієї проблеми, засади популяційної біології у сучасному лісознавстві та лісівництві практично не враховуються (Parpan et al., 2012). Це зумовлено тим, що немає впорядкованості базових популяційних понять, які визначають об'єкт, завдання та методи у лісовій популяційній біології (Malynovs'kyy, 1986). Перехід на популяційне мислення забезпечує успіх подальшого еволюційного розвитку науки, знаменує концептуальну революцію в лісовій біології (Korshykov et al., 2004).

У лісовій екології популяційний принцип розглядають у двох аспектах: популяційно-генетичному (Sannikov et al., 2012) та популяційно-екологічному (Malynovs'kyy, 1986; Podgornyiy, 1988; Smirnova et al., 1989; Tsarik, 1991; Kyyak, 2009), які базуються на концепціях біологічної ієрархії та біологічного різноманіття, що забезпечують цілісність і стійке функціонування популяцій у конкретних екотопах (Malynovs'kyy, 1986; Sannikov et al., 2012). Популяційно-генетичний принцип у лісознавстві сформульований відносно недавно. Суть його полягає у підтриманні достатньо високого рівня генетичної мінливості у популяціях лісотвірних видів шляхом збереження природних лісів, а продуктивність популяцій та їх стійкість і самовідновлення пов'язані з рівнем генетичного різноманіття, поліморфізмом і гетерозиготністю видів (Korshykov et al., 2004).

Пізнання популяційно-генетичної структури деревних видів – одна з кардинальних проблем сучасної лісової біології. Ключова складова – встановлення меж і обсягу природних популяцій, особливо у безперервному ареалі виду, де прослідковується клінальна мінливість природних факторів (Sannikov et al., 2012).

Із позицій синтетичної теорії еволюції сучасні принципи популяційно-генетичного підходу включають систему оригінальних індексів, ймовірного міжпопуляційного схрещення, фенологічну складову, дистанційно гірсько-механічні та інтегральні ізоляції, метод градієнтів генетичної та фенотипічної дистанцій, які застосовуються у популяційній біології за генетичного підходу (Gömöry et al., 2004; Korshykov et al., 2004; Sannikov et al., 2011; Sannikov et al., 2012; Korshikov and Privalihin, 2007).

У сучасних популяційно-генетичних дослідженнях застосовується аналіз фенологічної ізоляції суміжних популяцій (на суходолі та верхових болотах), інтегральна ізоляція у басейнах річок, на гірських схилах за різних

висот місцезростання, а також генетичні дистанції Неї та їх градієнти (Sannikov et al., 2011; Parpan et al., 2012).

Популяційно-екологічний принцип у сучасних екологічних дослідженнях основний, бо популяційна екологія як науковий напрям, досліджує закономірності взаємозв'язків між організмами певного виду та навколишнім середовищем, у результаті чого відбувається формування біосистем (популяцій), здатних до самовідновлення та розвитку (Tsarik, 1991; Kyyak, 2009).

Головним об'єктом у популяційно-екологічному підході стала «ценопопуляція» – частина локальної популяції виду, яка зростає в межах одного фітоценозу та характеризується відносною однорідністю генофонду, фенотипічних характеристик, а в її основі лежить теорія онтогенезу виду з поділом на періоди та вікові стани, опрацьовані московською та львівською школами (Smirnova et al., 1989; Tsarik, 1991).

Необхідний етап досліджень – розроблення пропозицій щодо класифікації екотопів як канви популяційно-екологічного принципу. На нашу думку, методичною основою для такої класифікації може бути лісівничо-екологічна типологія, яка включає тип лісорослинних умов, тип лісу та тип деревостану (тип лісового біогеоценозу). Трофотопи та гігротопи в межах типів лісорослинних умов і типів лісу є макроекотопами. Мікроекотопами можуть виступати тип ґрунтового субстрату у відповідних типах лісового біогеоценозу, який визначає напрямок самовідновлення ценопопуляцій головних і супутніх видів у фітоценозі (Parpan et al., 2012).

Настав час реалізувати ідеї та методи популяційної біології в лісознавстві та практичному лісівництві (Smirnova et al., 1989, 1999).

Елементарною одиницею дослідження та охорони, заповідання та використання лісового покриву, підтримання його стабільності в горах виступає частина регіонального ландшафту, обмежена площею одного водозбірного басейну ріки, ландшафтно-водозбірної екосистеми або елементарного водозбору. Чітка окресленість водозбору природними межами дає змогу кількісно оцінити його за багатьма параметрами (геоморфологічними, ґрунтовими, фітоценотичними), а також визначає екологічну гідрологічну значущість водозбору в системі пов'язаних із ними інших водозборів (Parpan and Kichura, 2015). На основі системних досліджень і планування господарства, починаючи з елементарного водозбору, відкриваються широкі можливості у розробленні взаємопогоджених із загальною стратегією природокористування систем і підтримання гідрологічно стабільного лісогосподарювання. У найближчій перспективі лісове господарство в Карпатах має перейти на принципи господарювання з урахуванням типів водозборів та їх ієрархічної супідрядності. Територіальна просторова організація лісогосподарських підприємств за водозбірним принципом – украй важливий природоохоронний екологостабілізаційний захід у гірських умовах Карпат. Ведення лісового господарства за таких умов ураховує критичну та оптимальну лісистість, раціональну вікову структуру деревостану, допустимі норми вирубування та відновлення лісу. Способи рубань у межах висотних лісорослинних формацій типів водозборів залежить від їх лісистості. Зі збільшенням висоти над рівнем моря обсяг рубок головного користування поступово обмежується, базується лише на природозберігальних технологіях лісосічних робіт (Oliynyk, 2013). Розроблені класифікаційні засади ландшафтних екосистем показали, що на північно-східному мегасхилі Карпат виділяється 1 795 водозбірних екосистем площею 1 млн 143 тис. га, на південно-західному – 1 449 площею 919 тис. га, а по Карпатах у цілому – 3 244 площею 2 млн 63 тис. га (табл. 5, 6). Характеристики басейнових екосистем головних карпатських річок, а в їх межах ландшафтних чи елементарних екосистем, будуть наведені у спеціальній публікації.

Таблиця 5

Ландшафтно-водозбірні екосистеми північно-східного мегасхилу Карпат

Градації площ	Кількість		Площа	
	шт.	%	га	%
<100	171	9,53	7 811,06	0,68
100–500	663	36,94	215 417,02	18,84
501–1 000	650	36,21	459 432,27	40,18
1 001–1 500	209	11,64	250 993,58	21,95
1 501–2 000	57	3,18	96 381,98	8,43
2 001–2 500	31	1,73	69 419,43	6,07
>2 500	14	0,78	43 863,32	3,84
Разом	1 795	100,00	1 143 318,66	100,00

Таблиця 6

Ландшафтно-водозбірні екосистеми гірської частини південно-західного мегасхилу Карпат

Градації площ	Кількість		Площа	
	шт.	%	га	%
<100	141	9,73	7 093,29	0,77
100–500	576	39,75	195 098,70	21,21
501–1 000	484	33,40	336 123,36	36,55
1 001–1 500	153	10,56	184 871,90	20,10
1 501–2 000	54	3,73	92 235,71	10,03
2 001–2 500	26	1,79	57 161,75	6,22
>2 500	15	1,04	47 109,54	5,12
Разом	1 449	100,00	919 694,25	100,00

Висновки

Гірські ліси Українських Карпат докорінно змінені за показниками фітоценотичної структури – зміни складу панівних видів і вікової структури, що порушило стабільність і виконання гірськими лісами гідрологічних функцій. Наймасштабніші зміни відбулись у формації ялицевих лісів. Шляхи підтримання стабільності можливі за умови переходу ведення лісового господарства на типологічній основі з урахуванням ландшафтно-екологічної будови гірської екосистеми, популяційно-генетичної структури домінантних деревних видів, ведення господарства, наближеного до природи.

Бібліографічні посилання

Belgard, A.L., 1971. Stepnoe lesovedenie [Steppe forestry]. Lesnaja Promushlennost, Moscow (in Russian).

Chernyavs'kyy, M.V., 2014. Pryrodnist' Karpats'kykh lisiv [The naturalness of natural forests]. In: Nablyzhene do pryrody ta bahatotsil'ove vedennya lisovoho hospodarstva v Karpats'komu rehioni Ukrayiny ta Slovachchyny [Close to nature and multifunctional forest management in region of the Ukrainian and Slovakian Carpathians]. Kolo, Uzhhorod. P. 42–45 (in Ukrainian).

Chistjakova, A.A., Parpan, V.I., 1991. Populyatsionnaya struktura bukovyih lesov i puti ih optimizatsii v Karpatah [Population structure of beech forest and prospects for its optimization in the Carpathians]. In: Ekologiya populiatsii [Population ecology]. Moscow. P. 198–213 (in Russian).

Gömöry, D., Longauer, R., Liepelt, S., Ballian, D., Brus, R., Kraiger, H., Parpan, V., Parpan, T., Paule, L., Stupar, V., Ziegenhagen, B., 2004. Variation patterns of mitochondrial DNA of *Abies alba* Mill. in suture zones of post-glazial migration in Europe. Acta Soc. Bot. Pol. 73(3), 203–206.

Holubets', M.A, 2007. Retrospektyva i perspektyva lisovoyi typolohiyi [Retrospective and perspective of forest typology]. Polli, Lviv (in Ukrainian).

Holubets', M.A., 2016. Osnovy vidnovlennya funktsional'noyi suti karpats'kykh lisiv [Base of restoring the functional essence of Carpathian forests]. Manuskrypt, Lviv (in Ukrainian).

Holubets', M.A., Tsaryk Y.V., 1992. Stiykist', stabil'nist' – vazhlyvi oznaky zhyvykh system [Stability and constancy as important features of living systems]. Oykumena 1, 21–26 (in Ukrainian).

Kimmins, J., 1997. Forest ecology: A foundation for sustainable. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Korpel, S., 1995. Die Urwälder der Westkarpaten [The virgin forests of the Western Carpathians]. Fischer Verlag, Stuttgart (in German).

Korshikov, I.I., Privalihin, S.N., 2007. Populyatsionno-geneticheskaya struktura eli evropeyskoy (*Picea abies* (L.) Karst.) w Ukrainskih Karpatah [Population-genetic structure of Narway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) in the Ukrainian Carpathians]. Genetika 43(12), 1627–1636 (in Russian).

Korshykov, I., Pirko, Y., Pirko, N., Pryvalikhin, S., 2004. Analiz populyatsiyno-henetychnoyi minlyvosti pyaty vydiv khvoynykh Ukrayins'kykh Karpat [Analysis of population-genetic variation of five coniferous species in the Ukrainian Carpathians]. Visnyk L'viv Univ. Seriya Biolohichna 36, 108–115 (in Ukrainian).

Krynyts'kyy, H.T., 2007. Retsenziya na monohrafichnu robotu akademika NAN Ukrayiny M.A. Holubtsya «Retrospektyva i perspektyva lisovoyi typolohiyi» [Review of monographic works from ukrainian academician of Ukraine National Academy of Sciences Holubets M.A. "Retrospective and perspective of forest typology"]. Polli, L'viv. P. 61–75 (in Ukrainian).

Kyyak, V.H., 2009. Mali populyatsiyi ridkisnykh vydiv roslyn vysokohirya Ukrayins'kykh Karpat: Struktura, stratehiya i zhyttyezdatnist [Small populations of rare plant species in the high mountains of Ukrainian Carpathians: Structure, strategy and sustainability]. L'viv (in Ukrainian).

Malynovs'kyy, K.A., 1986. Populyatsiyna biolohiya roslyn: Yiyi tsili, zavdannya i metody [Population biology of plants: Its aims, objectives and methods]. Ukr. Botan. Zhurn. 43(4), 5–12 (in Ukrainian).

Oliynyk, V.S., 2013. Hidrolohichna rol' lisiv Ukrayins'kykh Karpat [Hydrological role of forests in the Ukrainian Carpathians]. NAIR, Ivano-Frankivs'k (in Ukrainian).

Parpan, T.V., Hudyma, V.D., 2015. Pryrodno-antropohenni zminy w hirs'kykh lisovykh ekosystemakh Ukrayins'kykh Karpat [Natural and anthropogenic changes in forest ecosystems of Ukrainian Carpathian and the way to support their stability and sustainabiulity]. Lisivnytstvo i Ahrolisomelioratsiya 126, 212–217 (in Ukrainian).

Parpan, T.V., Kichura, N.V., 2015. Stabilizuyuche i protypavodkove znachennya lisovoho pokryvu vodozboriv richok Uzha i Latorytsi [Stabilizing and flood control role of forest cover of the watersheds of the Uzh and Latorica rivers]. Nauk. Visnyk L'vivs'koho NLTU Ukrayiny 25(8), 195–202 (in Ukrainian).

Parpan, V., Shparyk, Y., Slobodyan, P., Parpan, T., Korshov, V., Brodovich, R., Krynyckyi, G., Debrenyuk, Y., Kramarets, V., Cheban, I., 2014. Osoblyvosti vedennya lisovoho hospodarstva v pokhidnykh yalynnykakh Ukrayins'kykh Karpat [Forest management peculiarities in secondary norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst.) stands of the Ukrainian Carpathians]. Naukovi Praytsi Lisivnychoyi Akademiyi Nauk Ukrayiny 12, 20–29 (in Ukrainian).

Parpan, V.I., 1994. Struktura, dinamika, ekologicheskie osnovyi ratsionalnogo ispolzovaniya bukovih lesov Karpatskogo Regiona Ukrainy [Structure, dynamics and ecological basis for the rational use of beech forests in the Carpathian Region of Ukraine]. Ivano-Frankovsk (in Russian).

Parpan, V.I., 1994. Struktura, dynamika, ekolohichni osnovy ratsional'noho vykorystannya bukovykh lisiv Karpats'koho rehionu Ukrayiny [Structure, dynamics and ecological basis for the rational use of beech forests in the Carpathian region of Ukraine]. Dnipropetrovs'k (in Ukrainian).

Parpan, V.I., Parpan, T.V., 2008. Osnovni pryntsypy suchasnoyi paradyhmy hirs'koho lisoznavstva ta lisivnytstva Ukrayins'kykh Karpat [The main principles of modern paradigm of mountain forest science and forest management in the Ukrainian Carpathians]. Lisivnytstvo i Ahrolisomelioratsiya 114, 7–12 (in Ukrainian).

Parpan, V.I., Parpan, T.V., Mylen'ka, M.M., 2012. Populyatsiyna biolohiya derevnykh roslyn: Naukova osnova lisoznavstva y lisivnytstva [Population biology of woody plants: Scientific basis of forestry and silviculture]. Visnyk Prykarpats'koho Natsional'noho Universytetu im. Vasylya Stefanyka. Seriya Biolohiya 16, 3–7 (in Ukrainian).

Parpan, V.I., Sannikov, S.N., Parpan, T.V., 2009. The hypothesis of the pulsed dynamics of virgin beech forests. Russ. J. Ecol. 40(7), 1–14.

Podgornyiy, Y.K., 1988. Metodicheskie rekomendatsii po vyideleniyu prirodnyih populyatsiy rasteniy v gornyih usloviyah [Guidelines on the allocation of natural plants populations in mountain conditions]. Gosudarstvennyiy Nikitskiy Botanichesniy Sad, Yalta (in Russian).

Sannikov, S.N., Petrova, I.V., Shvayngruber, F., Egorov, E.V., Parpan, T.V., 2011. Geneticheskaya differentsiatsiya populyatsiy *Pinus mugo* Turra i *P. sylvestris* L. v Ukrainskih Karpatah i Shveytsarskih Alpah [Genetic differentiation of

populations of *Pinus mugo* Turra and *P. sylvestris* L. in the Ukrainian Carpathians and Swiss Alpen]. Ekologiya 4, 1–8 (in Russian).

Sannikov, S.N., Sannikova, N.S., Petrova, I.V., 2012. Ocherki po teorii lesnoy populyatsionnoy biologii [Outlines of the theory of forest populational biology]. RIO UrO RAN, Ekaterinburg (in Russian).

Smirnova, O.V., Chistjakova, A.A., Zaugolnova, L.B., Evstigneev, O.I., Popadiouk, R.V., Romanovsky, A.M., 1999. Ontogeny of a tree. Botan. Zh. 84(12), 8–20.

Smirnova, O.V., Popadyuk, R.V., Chistyakova, A.A., Novoseltsev, V.D., Parpan, V.I., Chernyavskiy, N.V., 1989. Metodicheskie rekomendatsii po vosproizvodstvu raznovozrastnyih shirokolistvennyih lesov evropeyskoy chasti SSSR (na osnove populyatsionnogo analiza) [The guidelines for the reproduction of uneven-deciduous forests of the European part of the USSR (based on population analysis)]. VASHNIL, Moscow (in Russian).

Stoyko, S.M., 2014. Nablyzhene do pryrody ta bahatotsil'ove vedennya lisovoho hospodarstva v Karpats'komu Rehioni Ukrayiny ta Slovachchyny [Close to nature and multifunctional forest management in region of the Ukrainian and Slovakian Carpathians]. Kolo, Uzhhorod (in Ukrainian).

Sukachov, V.N., 1964. Osnovnyie ponyatiya lesnoy biogeotsenologii [The main concepts of forest biogeocenology]. Osnovyi lesnoy biogeotsenologii. Nauka, Moscow. P. 5–49 (in Russian).

Tsarik, Y.V., 1991. Tsenopopulyatsionnaya struktura vyisokogornyih soobschestv Karpat [Coenopopulation structure of high mountains communities of the Carpathians]. Dnepropetrovsk (in Russian).

Vorobyov, D.V., 1967. Metodika lesotipologicheskih issledovaniy [Methods of forest typology studies]. Urozhay, Kiev (in Russian).

Yaroshenko, P.D., 1961. Geobotanika [Geobotany]. AN SSSR, Moscow (in Russian).

Надійшла до редколегії 27.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 378–383.

doi:10.15421/011650

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 582.736.3

Аналіз показників асиміляційної складової у структурі надземної фітомаси деревних порід степових лісостанів України

С.А. Ситник, В.М. Ловинська, Ю.І. Грицан, К.П. Маслікова

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпропетровськ, Україна

Подано результати досліджень асимілювальної складової надземної фітомаси – частка листя (хвої) та вміст абсолютно сухої речовини у листі (хвої) у фракції деревної зелені головних лісотвірних порід лісостанів Північного Степу України – *Pinus sylvestris* L. та *Robinia pseudoacacia* L. Значення показників частки листя (хвої) у структурі асимілювальної складової робінії звичайної та сосни звичайної перебувають у певному діапазоні, який демонструє їх залежність від основних таксаційних показників деревостанів. Спостерігається зменшення даного показника зі збільшенням віку та зі зростанням середнього діаметра та висоти стовбура для двох досліджуваних деревних порід. Виявлено тренди, що демонструють зміни значень вмісту абсолютно сухої речовини у листі робінії звичайної та у хвої сосни звичайної. Висока варіабельність абсолютних значень вмісту сухої речовини у листі робінії зафіксована за умов однакових значень віку, діаметра стовбура та висоти модельних дерев. Показники вмісту абсолютно сухої речовини у хвої сосни звичайної, навпаки, мають тенденцію до підвищення відносно досліджуваних таксаційних параметрів.

Ключові слова: асимілювальна складова надземної фітомаси; таксаційні показники дерев; *Pinus sylvestris*; *Robinia pseudoacacia*

Analysis of the parameters of the assimilation component of aboveground biomass of forest-forming species in the steppe zone of Ukraine

S.A. Sytnyk, V.M. Lovynska, Y.I. Gritsan, K.P. Maslikova

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine

The purpose this research is to study the parameters of leaf (needle) share in the trees' greenery fraction and the content of absolutely dry matter in fresh leaves of black locust and Scots pine. The leaf (needle) share in the trees greenery fraction and the content of absolutely dry matter were determined by their quantitative measures (weight and volume). The results of the research reveal that the leaf share in the structure of a tree's greenery fraction has a broad range of values: 43.0–72.8% for black locust and 49.1–75.4% for Scots pine. The minimum value of this parameter was recorded for an overmature *Robinia* specimen of 41 years of age, while the maximum was for a 3-year-old tree. For pine trees the lowest values of the given parameter were registered for the spcimens aged 38, 49 and 84, the maximum – for 30–31-year-old trees. For both investigated species it should be noted that there is a consistent pattern indicated by the following trend line: with the increase of tree age, height and trunk diameter, there is a decrease of leaf share value in the trees' greenery fraction. Such characteristic parameter as absolutely dry mass has a sufficient range of values from 0.321 to 0.524, with the extreme values for the trees belonging to the young stock group in the case of the black locust. The absolutely dry matter content in Scots pine needles showed a significant variability of values from 0.426 to 0.620. The trend line shows a tendency of increase in the value of absolutely dry matter mass in the leaves of both investigated species with the increase in the values of the tree taxation parameters. There is no statistically proven dependency of the parameter indicating leaf share in the trees greenery fraction on the age, trunk diameter and height of trees. The most important biometric indicator, which shows a moderate relationship with the greenery fraction of a tree is the average diameter of the trunk of model trees of the two studied species. This is confirmed by values of correlation coefficients. The indicator of greenery fraction is inversely dependent on the height, trunk diameter and tree age, i.e. the increase in the values of these parameters leads to the decrease in the share of the photosynthetic active

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ, 49027, Україна
Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Voroshilov Str., 25, Dnipropetrovsk, 49027, Ukraine
Tel.: +38-066-559-54-63. E-mail: glub@ukr.net

component of trees of the studied tree species in the steppe zone. The value of leaf (needle) share in trees' greenery fraction decreases with the increasing age, height and diameter values, which is quite natural. Correlation indices of absolutely dry matter according to age, height and diameter of sample trees have negative values, while the index of leaf (needle) share of trees' greenery fraction has a direct correlation with all the studied influence factors.

Keywords: aboveground phytomass; greenery fraction; tree taxation parameter; Scots pine; black locust

Вступ

Дослідження біологічної продуктивності лісотвірних порід – складова визначення структури лісових екосистем та встановлення закономірностей їх функціонування (Lauri et al., 2014). Найважливіша характеристика продуктивності лісових екосистем – інтенсивність синтезу органічної речовини, яка залежить від структури та активності асиміляційної складової фітомаси (Bonan, 1993; Turski et al., 2008; Lakyda, 2010; Lakyda and Blishchik, 2010; Goudie et al., 2016).

Фракція листя, як елемент інтегральної надземної фітомаси деревних рослин, визначає здійснення та інтенсивність процесу фотосинтезу, результат якого – формування органічної речовини, депонування вуглецю та реалізація біосферної газової функції рослин – продукування кисню (Chen, 1996; Clark, 2001; Dong, 2003; Lu, 2006; Sala et al., 2012; Mattsson et al., 2016). Асиміляційний апарат деревних рослин являє собою зону розділу біотичної сфери з абіотичним середовищем, є внутрішньою поверхнею намету лісу, який виступає фільтром атмосферних опадів, емісій ксенобіотиків різної природи, світлових, теплових і шумових потоків (Fleming, 1991; Lakyda, 2003; Brygadyrenko, 2016; Cosmo et al., 2016).

Якісні показники фракції деревної зелені можуть бути використані для екологічного моніторингу стану лісів та динаміки рослинності дистанційними методами, під час інтерпретації оцінки річної продукції, для оцінювання затримання деревними видами води, під час моделювання важливих процесів у лісових екосистемах, зокрема, таких як трансформація ФАР наметом деревостану різних лісотвірних порід, CO_2-газообмін, визначення потенційної біологічної продуктивності лісів, інтенсивності зріджування деревостанів тощо (Albertson, 1988; Cannell, 1995; Carter and Ungar, 2002; Jelonek et al., 2009; Lakyda, 2011; Jagodziński et al., 2016).

Біологічна продуктивність деревостанів лісів та її залежність від абіотичних екологічних факторів вивчена достатньо (Christenses et al., 2006; Niinemets, 2010; Galiano et al., 2011; Lakyda, 2011). Але залишаються актуальними дослідження біологічної продуктивності найпоширеніших деревних порід степових лісостанів України – *Pinus sylvestris* L. (сосна звичайна) та *Robinia pseudoacacia* L. (робінія псевдоакація, акація біла), оскільки в літературі такі праці відсутні. Зазначені породи в Північному Степу України формують переважно чисті за складом деревостани в рекреаційно-оздоровчих і протиерозійних лісах, виконують переважно утилітарні функції (Faly and Brygadyrenko, 2014; Brygadyrenko, 2015; Sytnyk, 2015; Lovynska, 2016).

Мета цієї статті – оцінити параметри асиміляційної складової надземної фітомаси – частки листя (хвої) та вмісту абсолютно сухої речовини у свіжій хвої сосни звичайної та свіжому листі робінії звичайної та їх залежність від таксаційних показників дерев. Отримані результати можуть бути використані для розроблення нормативів оцінювання складових біологічної продуктивності та таблиць ходу росту дерев досліджуваних видів, які формують лісові насадження у степовій зоні України.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на території Дніпропетровської області, у південно-східній частині України, в басейні середньої та нижньої течії Дніпра у межах Північно-Степової лісорослинної зони та зони Південного сухого степу (Hensiruk, 2002). Найбільша частина лісів регіону зосереджена у північно-західній і центральній частинах області. Розвинений комплекс промислового виробництва спричинює значне техногенне навантаження на територію області, що позначається на біотичних складових лісових екосистем (The main provisions…, 2011).

Для дослідження закладено тимчасові пробні площі (ТПП), за нормативними вимогами у межах лісів, підпорядкованих Державному агентству лісових ресурсів України та які входять до структури Дніпропетровського обласного управління лісового та мисливського господарства.

Для проведення досліджень ТПП закладали у лісових насадженнях державного підприємства «Дніпропетровське лісове господарство» у п'яти локалітетах, де зростала сосна звичайна та робінія звичайна. Модельні дерева відібрано згідно з вимогами методу пропорційно-ступінчастого представництва з урахуванням даних суцільного переліку дерев на пробній площі. Усі насадження сосни звичайної та робінії звичайної на закладених пробних площах насаджені людиною, представлені чистими та мішаними деревостанами, охоплюють домінантні вікові групи та бонітет (табл. 1). Класи бонітету (I–V) визначали за методикою М.М. Орлова, яка передбачає врахування походження деревостану та висоти дерев у певному віці (Svyrydenko, 1995).

Із метою визначення загальної маси хвої та листя у свіжому стані для кожного модельного дерева застосовували ваговий метод (Lakyda, 2003). Визначали масу деревної зелені ($q_{дз}$, кг) – охвоєні та облиствлені гілки, діаметр яких не перевищував 1 см. Для цього з кожного модельного дерева проводили зважування 9 модельних гілок разом із листям (хвоєю) з різних частин крони дерева у свіжозрубаному стані та після відділення хвої та листя від гілок. За даними зважувань визначали відсоток листя (хвої) у структурі фракції деревної зелені (PL, %). Вміст абсолютно сухої речовини (SL) розраховували за формулою:

$$S_L = m_0 / m_{nat},$$

де S_L – вміст абсолютно сухої речовини (г), m_0 – маса зразка в абсолютно сухому стані (г), m_{nat} – маса зразка у свіжозрубаному стані (г).

Із метою оцінки показників частки листя (хвої) у фракції деревної зелені та вмісту абсолютно сухої речовини у свіжому листі (хвої), встановлення залежності означених показників від таксаційних характеристик дерев, отримані результати піддавали кореляційному аналізу (Lakyda, 2011; Hulchak, 2011).

Таблиця 1

Лісівничо-таксаційна характеристика деревостанів тимчасових пробних площ

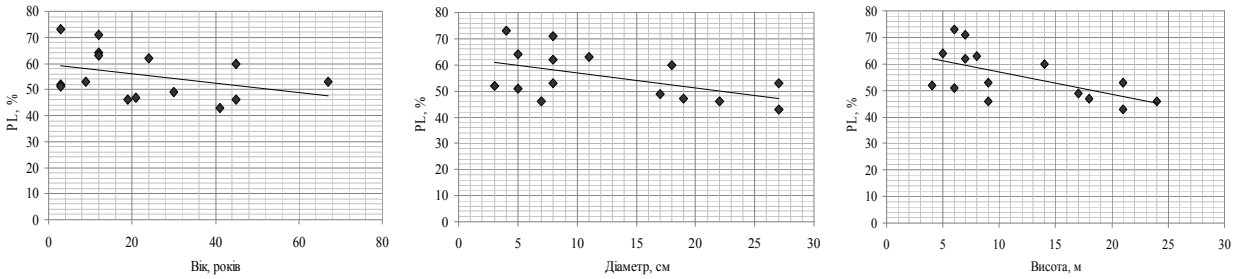
Лісництво	Площа ТПП, га	Середні для породи на ТПП			Відносна повнота	Клас бонітету
		вік, років	діаметр, см	висота, м		
Любимівське	0,30	68	29,1	20,7	1,04	II
	0,18	45	18,3	14,0	0,73	I
Кіровське	0,20	33	22,0	19,9	0,65	III
	0,20	11	4,6	2,8	0,67	IV
	0,12	41	26,1	23,6	0,58	III
	0,14	24	8,0	7,0	0,80	I
	0,20	12	4,6	5,6	0,61	I
	0,25	41	27,4	21,6	0,82	I
Ленінське	0,11	9	5,6	3,8	0,51	III
	0,25	3	2,7	3,7	0,75	I

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень дозволили встановити, що фракція частки листя у структурі фракції деревної зелені робінії звичайної має достатньо широкий діапазон значень: 43,0–72,8%. Мінімальне значення даного показника зафіксовано для перестиглого дерева робінії, віком 41 рік, тоді як максимальне – для трирічного екземпляра. Розвитку робінієвих насаджень властиві швидкий ріст із перших років, особливо у сприятливих умовах зволоження ґрунту, ранній, приблизно до п'яти-семи років життя, вихід на максимальні рівні пагоноутворення та утворення маси листя, раннє та інтенсивне відмирання гілок основи крони у зв'язку з дефіцитом світла, а в сухих умовах – і вологи. Цим можна пояснити отримані результати.

Варіабельність показника частки хвої у складі фракції деревної зелені надземної фітомаси модельних дерев сосни звичайної становила 49,1–75,4%. Найнижчі значення досліджуваного параметра відмічені для екземплярів віком 38, 49 та 84 роки, максимальні – для 30-річних дерев. У межах вікових груп та простору росту найефективніше використовують сонячну радіацію та фактори життєзабезпечення дерева у віці жердняку, які перебувають у ценотично нестійкому стані. Нестійкість їх статусу зумовлена дією безперервного природного добору, що проявляється у диференціації дерев за ростом і розвитком. Подальша їх екологічна стратегія визначається ефективністю використання простору, залежно від чого вони опиняються або у пригніченому, або в домінуючому ярусі. Ефективність фотосинтетичної активності при цьому знижується: у супутніх – завдяки їх статусу «відмираючих», у домінантних – внаслідок відсутності конкурентів і найбільших можливостей для розвитку крони.

Як свідчать отримані дані, статистично достовірна залежність показника частки листя у фракції деревної зелені робінії звичайної від віку, діаметра стовбура та висоти дерев відсутня (рис. 1). Спостерігається тенденція, на яку вказує лінія тренду: зі збільшенням віку, діаметра стовбура та висоти дерев у робінії зменшується показник частки листя у фракції деревної зелені. Це можна пояснити тим, що з віком у фітомасі крони даної породи збільшується частка грубих гілок з одночасним зменшенням кількості дрібних гілок, на яких формується листя.



а *б* *в*

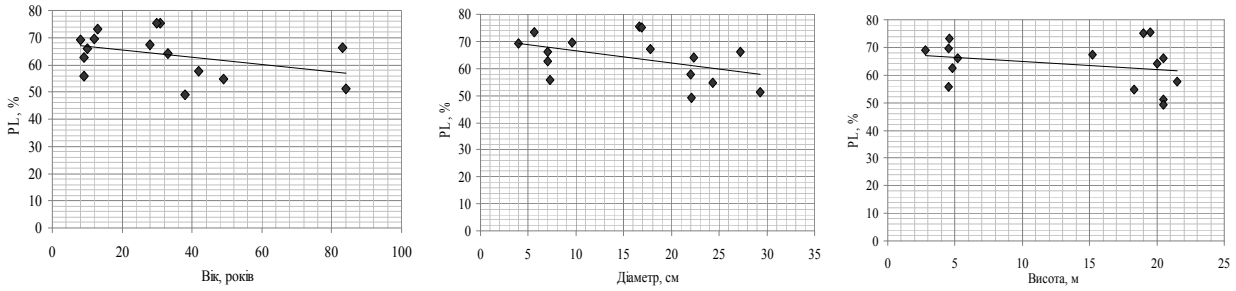
Рис. 1. Залежність показника частки листя у фракції деревної зелені (PL) робінії звичайної від таксаційних показників дерев: *а* – віку дерева, *б* – середнього діаметра, *в* – середньої висоти (n = 15)

Дослідження залежності частки хвої у структурі деревної зелені сосни звичайної від показників віку, діаметра стовбура та висоти в усіх варіантах виявили тенденцію зменшення показника зі збільшенням значень таксаційних параметрів дерев (рис. 2). Зменшення частки хвої у деревній зелені з віком можна пояснити фізіологічним станом хвоїнок, структурою гілок, освітленістю крони та загальною доступністю світла для гілок.

Аналізуючи зміни вмісту абсолютно сухої речовини у свіжому листі робінії, необхідно зазначити, що досліджуваний показник має достатній діапазон значень (0,321–0,524), причому крайні значення характерні для дерев, які належать до групи молодняку (рис. 3). Спостерігається коливання абсолютних значень цього показника, навіть за однакового віку, діаметра стовбура та висоти модельних дерев (табл. 1). Лінія тренду (рис. 3) демонструє, що зі збільшенням таксаційних показників дерева відмічається тенденція до зростання маси абсолютно сухої речовини у листі досліджуваної породи. Для частки листя також не встановлено залежності да-

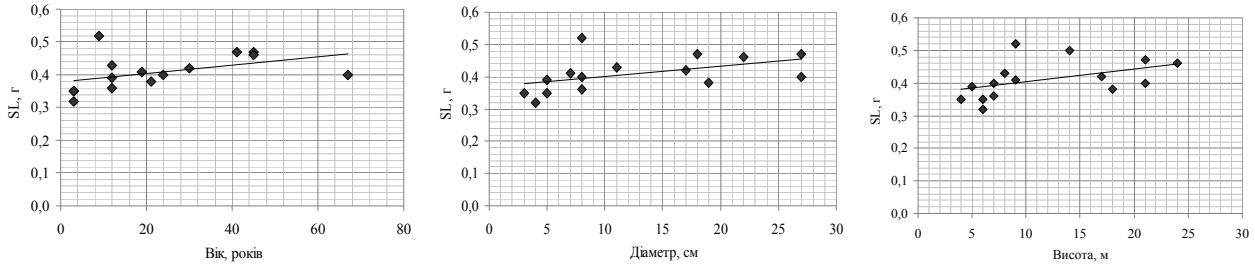
ного показника від віку, діаметра стовбура та висоти досліджуваних дерев робінії. Ймовірно, це пов'язано з фізіологічною активністю рослин і розвитком кореневих систем, які забезпечують листя водою та розчиненими мінеральними речовинами. У робінієвих насадженнях простежуються швидке розростання кореневих систем і крон у перші роки та зниження інтенсивності цих процесів у подальшому, рання чітка диференціація дерев за розмірами, положенням кореневих систем у ґрунті, високий рівень реалізації ростового потенціалу за сприятливих умов зволоження, неможливість такого за сухих умов. Таким чином, це може впливати на забезпеченість вегетативних органів надземної частини дерева водою, а також на вміст абсолютно сухої речовини у свіжому листі дерев.

Показники вмісту абсолютно сухої речовини у хвої сосни звичайної, навпаки, мають тенденцію до збільшення відносно визначених таксаційних параметрів. Аналіз вмісту абсолютно сухої речовини у хвої показав варіабельність значень від 0,426 до 0,620. У найбільшій кількості дослідні екземпляри модельних дерев мали значення даного показника близько 0,500 (рис. 4).



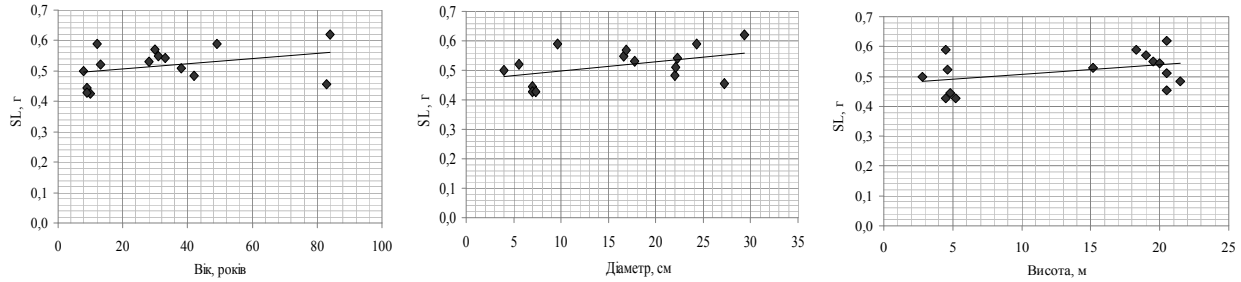
а *б* *в*

Рис 2. Залежність показника частки хвої у фракції деревної зелені (P_L) сосни звичайної від таксаційних показників дерев: *а* – віку деревостану, *б* – середнього діаметра, *в* – середньої висоти (n = 15)



а *б* *в*

Рис. 3. Залежність вмісту абсолютно сухої речовини (S_L) у листі робінії звичайної від таксаційних показників дерев: *а* – віку дерева, *б* – середнього діаметра, *в* – середньої висоти (n = 15)



а *б* *в*

Рис. 4. Залежність вмісту абсолютно сухої речовини (S_L) у хвої сосни звичайної від таксаційних показників дерев: *а* – віку деревостану, *б* – середнього діаметра, *в* – середньої висоти (n = 15)

Зафіксовано істотні коливання даного показника у межах однакових значень віку, висоти, діаметра стовбура модельних екземплярів сосни звичайної (рис. 4). Наведена на графіку лінія тренду демонструє загальну тенденцію до збільшення вмісту абсолютно сухої речовини у хвої досліджуваних деревних порід із підвищенням значень таксаційних параметрів модельних дерев сосни звичайної. Для розуміння залежностей між досліджуваними показниками асиміляційної складової фракції деревної зелені та таксаційними параметрами модельних дерев розраховано значення коефіцієнтів кореляції (табл. 2).

Аналіз отриманих коефіцієнтів кореляції для робінії звичайної дозволяє зробити висновок, що для частки листя деревної зелені встановлено статистично достовірну залежність від діаметра та висоти стовбура. Зв'язок зворотний, найбільш значущий для діаметра дерева.

Для вказаних таксаційних показників модельних дерев також відмічено статистично достовірну пряму помірну кореляційну залежність. Для віку, серед досліджених параметрів, установлено найменш значущу залежність частки деревної зелені в надземній фітомасі дерев робінії. Для сосни звичайної статистично достовірні коефіцієнти кореляції для P_L щодо всіх факторів впливу мають від'ємні значення (зворотний зв'язок). Статистично достовірної залежності показника частки хвої у фотосинтетично активній складовій від висоти дерева не встановлено. Прямий кореляційний зв'язок із додатними значеннями зафіксований для вмісту абсолютно сухої речовини залежно від усіх досліджуваних таксаційних параметрів.

Таблиця 2

Коефіцієнти кореляції частки листя (хвої) та вмісту абсолютно сухої речовини з таксаційними показниками дерев

Показник	Вік, років	Діаметр, см	Висота, м
Pinus sylvestris L.			
P_L	–0,391 ± 0,174*	–0,454 ± 0,167*	–0,280 ± 0,179
S_L	0,354 ± 0,176*	0,443 ± 0,166*	0,401 ± 0,173*
Robinia pseudoacacia L.			
P_L	–0,422 ± 0,170*	–0,670 ± 0,138***	–0,590 ± 0,152***
S_L	0,421 ± 0,170*	0,461 ± 0,167**	0,463 ± 0,167**

Примітки: * – P < 0,05, ** – P < 0,01, *** – P < 0,001.

Отже, найбільш значущий таксаційний показник, що демонструє помірну залежність частки деревної зелені, – середній діаметр стовбура модельних дерев двох досліджуваних порід. Отримані дані узгоджуються з даними інших дослідників (Bartelink, 1997; Tobin et al., 2006), які вивчали залежності між асимілювальною складовою та біометричними даними для деревостанів *Fagus sylvatica* L. у Нідерландах та *Picea* L. на території Лаосу. У цих працях проденстровано подібні закономірності щодо отриманих нами даних.

Показник деревної зелені має обернено пропорційну залежність від висоти, діаметра стовбура та віку, тобто збільшення значень даних показників викликає зменшення частки фотосинтетично активної складової дерев обох лісотвірних порід степової зони. Схожі закономірності встановлені у працях Fownes and Harrington (1990, 1991) для низки деревних рослин (*Acacia auriculiformis*, *Acacia mangium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Gliricidia septum* і *Leucaena diversifolia*), які зростали на острові Майя.

Висновки

У структурі асиміляційної активної складової фракції деревної зелені робінії звичайної показник частки листя має достатній діапазон значень: 43,0–72,8%, варіабельність показника частки хвої у фітомасі деревної зелені сосни звичайної також значна, перебуває у межах 49,1–75,4%. У досліджуваних деревних порід степових лісостанів спостерігається зменшення значень показників частки листя у фракції деревної зелені надземної фітомаси робінії та частки хвої у сосни звичайної зі збільшенням основних таксаційних параметрів дерев – віку, діаметра стовбура та його висоти.

Аналізуючи вміст абсолютно сухої речовини у свіжому листі робінії, необхідно зазначити, що даний показник має достатній діапазон 0,321–0,524, причому крайні значення характерні для дерев вікової групи молодняку. Тренд значень вмісту абсолютно сухої речовини у листках робінії демонструє підвищення значень у разі збільшення таксаційних параметрів дерев. Зміни вмісту абсолютно сухої маси хвої сосни звичайної з віком, діаметром стовбура та висотою відрізняються середньою величиною варіабельності та характеризуються поступовим підвищенням визначеного показника відповідно до збільшення таксаційних параметрів.

Прийняттям ефективних управлінських рішень, які визначатимуть лісогосподарські та лісокультурні заходи щодо створення, формування та оптимального функціонування робінієвих та соснових насаджень, вважаємо, можливо досягти збільшення асиміляційно активної складової надземної фітомаси досліджуваних порід. Це потребує подальших досліджень, спрямованих на встановлення залежностей наведених показників від типу лісорослинних умов і технологій створення лісових культур у степовій зоні України.

Бібліографічні посилання

Bartelink, N.N., 1997. Allometric relationships for biomass and leaf area of beech (*Fagus sylvatica* L). Ann. Sci. For. 54, 39–50.

Brygadyrenko, V.V., 2015. Community structure of litter invertebrates of forest belt ecosystems in the Ukrainian steppe zone. Int. J. Environ. Res. 9(4), 1183–1192.

Brygadyrenko, V.V., 2016. Effect of canopy density on litter invertebrate community structure in pine forests. Ekológia (Bratislava) 35(1), 90–102.

Bonan, G.B., 1993. Importance of leaf area index and forest type when estimating photosynthesis in boreal forests. Rem. Sens. Environ. 43, 303–314.

Carter, C.T., Ungar, I.A., 2002. Aboveground vegetation, seed bank and soil analysis of a 31-years of forest restoration on coal mine spoil in southeastern Ohio. Am. Midl. Nat. 147(1), 44–59.

Chen, J.M., 1996. Canopy architecture and remote sensing of the fraction of photosynthetically active radiation absorbed by boreal conifer forests. IEEE Trans. Geosci. Remote Sens. 34, 1353–1368.

Christensen, M.R., Graham, M.D., Vinebrooke, R.D., Findlay, D.L., Paterson, M.J., Turner, M.A., 2006. Multiple anthropogenic stressors cause ecological surprises in boreal lakes. Glob. Change Biol. 12, 2316–2322.

Clark, D., Brown, S., Kicklighter, D., Chambers, J., Thomlinson, J., Ni, J., Holland, E., 2001. Net primary production in tropical forests: An evaluation and synthesis of existing field data. Ecol. Appl. 11, 371–384.

Cosmo, L., Gasparini, P., Tabacchi, G., 2016. A national-scale, stand-level model to predict total above-ground tree biomass from growing stock volume Forest Ecol. Manag. 361, 269–276.

Dong, J, Kaufmann, R., Myneni, R., Compton, J., Kauppi, P., 2003. Remote sensing estimates of boreal and temperate forest woody biomass carbon pools, sources and sinks. Remote Sens. Environ. 84, 393–410.

Faly, L.I., Brygadyrenko, V.V., 2014. Patterns in the horizontal structure of litter invertebrate communities in windbreak plantations in the steppe zone of the Ukraine. J. Plant Prot. Res. 54(4), 414–420.

Fleming, R.A. The Weibull model and an ecological application: Describing the dynamics of foliage biomass on Scots pine. Ecol. Model. 138, 309–319.

Fownes, J.H., Harrington, R.A., 1991. Allometry of woody biomass and leaf area in five tropical multipurpose trees. J. Trop. For. Sci. 4(4), 317–330.

Galiano, L., Martínez-Vilalta, J., Lloret, F., 2011. Carbon reserves and canopy defoliation determine the recovery of Scots pine 4 yr after a drought episode. New Phytol. 190, 750–759.

Goudie, J.W., Parish, R., Antos, J.A., 2016. Foliage biomass and specific leaf area equations at the branch, annual shoot and whole-tree levels for lodgepole pine and white spruce in British Columbia. Forest Ecol. Manag. 361, 286–297.

Hensiruk, S.A., 2002. Lisy' Ukrai'ny [Forests of Ukraine]. USFU, Lviv (in Ukrainian).

Hulchak, V.P. (ed.), 2011. Osnovni polozhennja organizacii' i rozvytku lisovogo gospodarstva Dnipropetrovs'koi' oblasti [The main provisions of forest organization and management of Dnipropetrovsk region]. Irpin, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Jagodziński, A.M., Dyderski, M.K., Rawlik, K.K., Kątna, B., 2016. Seasonal variability of biomass, total leaf area and specific leaf area of forest understory herbs reflects their life strategies. Forest Ecol. Manag. 374, 71–81.

Jelonek, T., Pazdrowski, W., Arasimowicz, M., Tomczak, A., Szaban, J., 2009. The effect of site quality and biological tree class on the crown productivity in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Sylwan 153(5), 304–322.

Lakyda, P.I., 2003. Fitomasa lisiv Ukrai'ny [Phytomass of Ukrainian forests]. Sbruch, Ternopil (in Ukrainian).

Lakyda, P.I., Blishchik, I.B., 2010. Fitomasa vil'shnyakiv zaxidnogo Polissya Ukrai'ny [Phytomass alders in the west Polissya of Ukraine]. FOP Majdanchenko I.S., Korsun-Shevchenkivsky (in Ukrainian).

Lauri, P., Havlík, P., Kindermann, G., Forsell, N., Böttcher, H., Obersteiner, M., 2014. Woody biomass energy potential in 2050. Energ. Policy 66, 19–31.

Lovynska, V., Sytnyk, S., Kharytonov, M., Loza, I., 2016. Features of pine stands function in Dnieper North Steppe, Ukraine. Agriculture and Forestry 62(1), 155–163.

Lu, M., 2006. The potential and challenge of remote sensing-based biomass estimation. Int. J. Remote Sens. 27, 1297–1328.

Mattsson, E., Ostwald, M., Wallin, G., Nissanka, S.P., 2016. Heterogeneity and assessment uncertainties in forest characteristics and biomass carbon stocks: Important considerations for climate mitigation policies. Land Use Policy 59, 84–94.

Niinemets, U., 2010. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. Forest Ecol. Manag. 260, 1623–1639.

Sala, A., Woodruff, D., Meinzer, F., 2012. Carbon dynamics in trees: Feast or famine? Tree Physiol. 32, 764–775.

Sviridenko, V., Shvidenko, A., 1995. Lisivnictvo [Forestry]. Sil'gosposvita, Kyiv (in Ukrainian).

Sytnyk, S., Lovynska, V., Kharytonov, M., Loza, I., 2015. Effect of forest site type on the growing stock of forest-forming species under conditions of the Dnieper Steppe, Ukraine. Proc. 6th Int. Scientific Agricultural Symp. "Agrosym 2015". Jahorina, 2118–2125.

Tobin, B., Black, K., Osbone, B., Reidy, K., Bolger, T., Nieuwenhuis, M., 2006. Assessment of allometric algorithms for estimating leaf biomass, leaf area index and litter fall in different-aged Sitka spruce forests. Forestry 79, 453–465.

Turski, M., Beker, C., Kazmierczak, K., Najgrakowski, T., 2008. Allometric equations for estimationg the mass and volume of fresh assimilational apparatus of standing Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees. Forest Ecol. Manag. 255, 2678–2687.

Надійшла до редколегії 27.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 384–391.

doi:10.15421/011651

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 556.55:282.243.7(285.2)

Многолетняя динамика гидрологических и гидрохимических показателей озера Китай (Одесская область, Украина)

М.М. Джуртубаев[1], Т.В. Урбанская[2], Ю.М. Джуртубаев[1]

[1]Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина
[2]Дунайское бассейновое управление водных ресурсов, Измаил, Украина

В Одесской области расположен уникальный природный комплекс – придунайские озера. Одно из крупнейших – оз. Китай. После строительства во второй половине XX века защитных дамб резко изменилась экологическая ситуация в озерах, в том числе гидрологические и гидрохимические параметры. В 2004–2013 гг. на озере отобрано 120 проб воды. Проведено 1 390 измерений по 11 показателям. В работе использованы также архивные данные за 2004–2005 гг. Гидрологическая и гидрохимическая ситуация в оз. Китай с 2004 по 2013 год ухудшалась. Заметно снизилась прозрачность воды, постоянно возрастало количество взвешенного в воде вещества (с 29,4 в 2006 до 143,2 мг/дм³ в 2012 году). Сильно возросла минерализация воды (до 6 200 мг/дм³ в сентябре – ноябре 2012 г.). Постоянно и значительно превышают допустимые значения $БПК_5$, перманганатная окисляемость. Соответствовало норме количество растворенного кислорода, общего азота, фосфора, нитратов и pH, хотя ситуация и по этим показателям также постепенно ухудшалась. Среднегодовая температура воды составила 11,4–15,8 °C, что соответствует температурному режиму континентальных вод региона. Для улучшения экологической ситуации в озере необходимо обеспечить работу насосной станции для стабильной подачи дунайской воды, что прежде всего понизит чрезмерную минерализацию озера.

Ключевые слова: температурный и кислородный режим; прозрачность; растворенные вещества

Long-term dynamics of hydrological and hydro-chemical indicators of Kytai Lake (Odessa region, Ukraine)

M.M. Dzhurtubaev[1], T.V. Urbanskaya[2], Y.M. Dzhurtubaev[1]

[1]Odessa National University named after I.I. Mechnikov, Odessa, Ukraine
[2]Danube Basin Management of Water Resources, Izmail, Ukraine

Odessa region contains a unique natural complex – the Danube lakes. One of the largest is Kytai Lake. After their construction in the second half of the XX century, dams have drastically changed the ecological situation in the lakes, including hydrological and hydro-chemical parameters. 120 water samples were taken from the lake in the years 2004–2013. 1,390 measurements were taken according to 11 indicators. Our research also used historical data for 2004–2005. Studies have shown that the hydrological and hydrochemical situation in Kytai Lake deteriorated in the period 2004 to 2013. There was a marked decrease in the water transparency and a steady increase in the amount of suspended matter in the water (from 29.4 mg/dm³ in 2006 to 143.2 mg/dm³ in 2012). The salinity of the water greatly increased (up to 6200 mg/ dm³ in September – November 2012). Permanganate oxidization permanently and significantly exceeeds the maximum permissible value of BOD_5. The amount of dissolved oxygen, total nitrogen, phosphorus, nitrates and pH conform to the permitted norm, although the situation with these indicators has also gradually worsened. The average annual temperature of the water was 11.4–15.8 °C,

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина
Odessa National University named after I.I. Mechnikov, Dvorjanskaja Str., 2, Odessa, 65058, Ukraine
Tel. +38-048-268-77-93. E-mail: svarog-72@mail.ru

Дунайское бассейновое управление водных ресурсов, Болградское шоссе, 27-а, Измаил, 68600, Украина
Danube Basin Management of Water Resources, Bolgradsky Highway, 27-a, Izmail, 68600, Ukraine
Tel. +38-048-414-08-98. E-mail: dbuvr@ukrpost.ua

which corresponds to the temperature regime of the continental waters in the region. To improve the ecological situation in the lake, it is necessary to ensure that the pumping station supplies a stable inflow of water from the Danube, which would significantly lower the excessive salinity of the lake.

Keywords: temperature conditions; oxygen conditions; transparency; solute

Введение

Китай – одно из крупнейших придунайских озер Украины, расположено северо-западнее г. Килия (Dzhurtubaev et al., 2012). Площадь озера около 60 км², объем, по средним многолетним данным, – 102 млн м³ (Shvebs and Igoshin, 2003). Вместе с озерами Кагул, Ялпуг, Кугурлуй, Котлабух, а также большим количеством малых озер оз. Китай образует крупнейший озерный район страны, представляющий собой уникальный природный комплекс. Большинство придунайских озер Украины, как и причерноморских озер Румынии (Gâştescu et al., 2016), после сооружения во второй половине прошлого столетия системы защитных дамб утратили важнейшую особенность – связь с Дунаем. Ранее в половодье и паводки речная вода поступала в озера, проходя через мощный биофильтр из зарослей тростника, других плавневых растений. В настоящее время вода поступает по шлюзованным искусственным каналам и немногочисленным протокам, неся в озера большое количество взвеси и загрязняющих веществ. Увеличивается минерализация, заиливание дна, общее загрязнение придунайских водоемов.

Поэтому мы делим историю придунайских водоемов на две неравные части: (1) многие столетия – до сооружения системы дамб, когда они фактически представляли собой лиманы, и (2) последние несколько десятилетий, когда их связь с Дунаем заметно сократилась, а биота все в большей степени приобретала озерный облик.

Придунайские озера мелководны, их средняя глубина составляет 0,7–2,0 м, максимальная достигает в половодье и сильные паводки 6,4–7,0 м, в оз. Китай – 5,0 м (Shvebs and Igoshin, 2003). На химизм воды озер долины Дуная влияют их источники питания. Выделены четыре группы озер: (1) озера, питаемые паводками на Дунае, (2) озера, обильно питаемые источниками, (3) озера с собственным гидрографическим бассейном и (4) изолированные озера, питаемые склоновым стоком. Минерализация колеблется между 250 мг/л (первая группа) и 2 000–3 000 мг/л (четвертая группа) (Gjeshtesku 1969a, 1969b). Китай относится к группе придунайских водоемов с преобладающим вкладом сульфатов по составу основных анионов (Denga and Medinets, 2002).

Комплексное изучение придунайских озер в рамках международного проекта TACIS «Придунайские озера: устойчивое сохранение и восстановление естественного состояния и экосистем» выполнено сотрудниками Одесского национального университета, Украинского научного центра экологии моря и Одесского филиала ИнБЮМ (ныне – Институт биологии моря НАНУ). Установлено, что в оз. Китай сложилась наиболее неблагоприятная экологическая ситуация. В этих условиях актуальной задачей является исследование гидрологических и гидрохимических показателей, определяющих условия существования озерной биоты. Цель настоящей статьи – выявить многолетнюю динамику гидрологических и гидрохимических характеристик оз. Китай за период 2004–2013 годы.

Материал и методы исследований

Работа выполнена в лаборатории мониторинга вод Дунайского бассейнового управления водных ресурсов (далее – ДБУВР) и на кафедре гидробиологии и общей экологии Одесского национального университета имени И.И. Мечникова (далее – кафедра). Материалом послужили пробы воды, отобранные авторами в 2006–2013 гг., а также архивные данные ДБУВР за 2004–2013 гг. Всего собрано 220 проб, проведено 1 390 измерений по 11 обязательным показателям: температуре и прозрачности воды, содержанию взвешенных веществ, минерализации, растворенному кислороду, БПК$_5$, бихроматной и перманганатной окисляемости, общему фосфору, азоту нитратному, pH.

Пробы ДБУВР отбирали с периодичностью в один месяц, в средней части озера в районе Червоноярской главной насосной станции и, для сравнения, в сокращенном объеме в низовье озера (рис. 1).

Рис. 1. Карта-схема мест отбора проб на оз. Китай: ● – ОНУ, ■ – ДБВУР

В ходе 36 экспедиций кафедры пробы отбирали посезонно в верховье, средней части и низовье озера. Пробы отбирали на глубине около 50 см и обрабатывали соответственно методикам (Semenov, 1977; Romanenko, 2006). Для анализа полученных данных использованы показатели ГОСТ 2874-82 (Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды в централизованном питьевом и техническом водоснабжении), ГОСТ 2761-84 (Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Гигиенические, технические требования и правила выбора). Использованы также нормативы, принятые Евросоюзом (Council Directive 78/659 of 18 July 1978; Council Directive 80/778 EEC on 15 July 1980; Council Directive 98/83 EC on 3 November 1998). Рассчитывали средние значения для каждого показателя (M), а также ошибку среднего значения (m = 1,96·SD). Повторность измерений n = 12.

Результаты и их обсуждение

Температура воды. Среднегодовая температура воды в оз. Китай за 10-летний период находилась в пределах 13,1–15,8 °С (табл. 1). Максимальная температура воды – 34 °С зафиксирована 25.07.2011 г. и 25.06.2012 г. в средней части озера, когда температура воздуха на солнце достигала 46–48 °С. Обычно температура воды не превышала 29 °С. Минимальные температуры, как правило, положительные, не превышали 3,5 °С. Наименьшая температура (–0,5 °С) зафиксирована 08.02.2005 г. В 2009 и 2012 гг. она составила 0°С. В целом, температура воды в озере находилась в границах температурного диапазона для водоемов данного региона.

Таблица 1

Температура воды в оз. Китай в 2004–2013 гг. (n = 12)

Температура воды, °С	Годы									
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Средняя за год (M ± m)	12,8 ± 0,51	13,1 ± 0,52	14,0 ± 0,56	15,8 ± 0,63	15,8 ± 0,63	13,3 ± 0,55	13,5 ± 0,54	13,5 ± 0,54	15,3 ± 0,61	13,4 ± 0,53
Максимальная	26,0	27,0	28,0	27,0	29,0	26,0	29,0	34,0	34,0	25,0
Минимальная	1,0	–0,5	3,5	2,0	3,0	2,0	0,0	1,0	0,0	1,0

Примечание: M – среднее значение, m – ошибка среднего значения.

Прозрачность воды. В ДБУВР прозрачность определяли по шрифту прибором Снеллена. Согласно ГОСТ 2761-84 она должна составлять не менее 30 см. В анализируемый период среднегодовые значения прозрачности воды по шрифту колебались от 5,7 в 2013 г. до 17,1 см в 2005 году. Максимальная прозрачность достигала 30 см, минимальная – 2,0–2,5 см (табл. 2). Несколько выделялись 2004 и 2010 гг., когда максимальная прозрачность достигала указанных 30 см. Но в эти годы в половине случаев она не превышала 7 см, что обусловило небольшие среднегодовые значения. В 2005 и 2006 гг. среднегодовые значения наибольшие: в эти годы прозрачность лишь трижды была меньше 10 см. Наихудшие показатели зафиксированы в 2012 и в 2013 годах. В 2012 г. в большинстве случаев прозрачность не превышала 7,0 см, опускаясь до 2,0 см в сентябре. В 2013 г. максимальная прозрачность составила лишь 8,5 см (октябрь). В оба эти года больших значений достигала мутность воды.

Как правило, максимальные значения прозрачности приходились на январь – февраль, когда еще не развит фито- и зоопланктон и нет интенсивного поступления дунайской воды в озеро в половодье. Минимальные значения фиксировались в разные годы с марта (2013 г.) по октябрь (2007 г.). Такой широкий разброс минимальных значений во времени мы объясняем особенностями динамики вод и характеристикой биологических процессов в озере в разные годы. В целом, из 120 измерений прозрачности в 59 случаях (49%) ситуацию можно оценить как крайне неблагоприятную (причем количество случаев с годами постепенно возрастает).

Таблица 2

Прозрачность воды в оз. Китай в 2004–2013 гг. (n = 12)

Величина прозрачности, см	Годы									
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Средняя за год (M ± m)	12,2 ± 0,50	17,1 ± 0,68	15,8 ± 0,63	11,0 ± 0,44	11,3 ± 0,45	12,5 ± 0,50	10,8 ± 0,43	10,8 ± 0,43	7,5 ± 0,30	5,7 ± 0,22
Максимальная	30,0	30,0	26,0	22,0	28,0	28,0	30,0	22,5	27,5	8,5
Минимальная	4,0	3,5	5,0	3,5	5,0	4,0	4,0	2,5	2,0	2,5

Примечание: см. табл. 1.

Взвешенные вещества. Специфическая особенность вод Дуная в устьевой области – высокое по сравнению с другими реками региона содержание взвешенных веществ (Timchenko and Novikov, 1993). В анализируемый 10-летний период проведено 114 измерений содержания взвешенных веществ в озерной воде. Их среднегодовое количество колебалось от 29,4 в 2006 до 143,2 мг/дм³ в 2012 году (рис. 2). В целом же, как следует из рисунка 2, количество взвешенных веществ в озерной воде постепенно возрастает.

Рис. 2. Динамика количества взвешенных веществ в оз. Китай в 2004–2013 гг.

Минерализация воды. Среди придунайских озер Китай характеризуется наибольшей минерализацией, которая постоянно увеличивается (Dzhurtubaev and Dzhurtubaev, 2011). Из-за особенностей конфигурации береговой линии южный плес озера больше подвержен распресняющему действию Дуная. Северный плес в зна-

чительной степени подвержен влиянию стока высокоминерализованных малых рек Алияга и Киргиж-Китай. Минерализация этих периодически пересыхающих рек очень сильно зависит от их водности и изменяется от 3 500–3 800 до 7 600 мг/дм³ и более (Gopchenko and Belash, 2005, Gopchenko and Medvedjeva, 2007). По данным ДБУВР, в 2010 г. минерализация р. Алияга в среднем составляла 8 219 мг/дм³. В 2001 г. минерализация в оз. Китай была в пределах 1 290–3 490 мг/дм³ (Enaki and Zhuravljova, 1993). Величина минерализации заметно отличается по участкам озера. В 2007 г. минерализация в низовье составила 2 000–4 000 мг/дм³, в средней части – около 6 000, а в верховье достигала 8 000–8 500 мг/дм³ (Gopchenko and Medvedjeva, 2007).

В анализируемый период уровень минерализации в озере постепенно повышался; небольшие колебания не влияли на общую картину (рис. 3). В 2004–2006 гг. среднегодовая величина минерализации не превышала 3 500 мг/дм³; в период весеннего половодья она опускалась до 2 833 мг/дм³. Период 2007–2009 гг. также характеризовался относительной стабильностью, но величина минерализации была в среднем на уровне 4 500 мг/дм³. В 2010 г. минерализация в среднем по озеру понизилась, но в верховье, по данным кафедры, достигала в августе 4 060, а в низовье – 3 910 мг/дм³.

В 2011 г. минерализация вновь возросла и в 2012 г. вышла на максимальное среднегодовое значение – 5 140 мг/дм³. Летом 2011 г., минерализация в верховье достигала 6 000 мг/дм³, а летом 2012 г. – 6 360 мг/дм³. Большая величина минерализации в 2012 г. во многом объяснялась непоступлением дунайской воды в озеро из-за закрытых шлюзов, из-за хозяйственных споров арендаторов озера.

Вследствие увеличения минерализации воды в озере, по данным кафедры, практически исчезли многие пресноводные виды: двустворчатые моллюски – перловица *Unio*, беззубки *Anodonta* и др. Количество видов макрозообентоса на прибрежном мелководье озера в целом уменьшилось с 65 в 2006–2009 гг. до 39 в 2010 г. и 23 в 2011–2012 годы. Вдвое (с 13 до 6) сократилось количество видов кольчатых червей, с 15 до 7 – ракообразных, с 21 до 8 – насекомых (водные личинки), с 10 до 2 видов – брюхоногих моллюсков. Небольшое уменьшение минерализации в 2013 г. до 4 066 мг/дм³ – очевидно, не является изменением тенденции, учитывая, что максимальные значения превышали 5 000 мг/дм³.

Рис. 3. Величина минерализации оз. Китай в 2004–2013 гг.

В настоящее время величина минерализации в озере зависит в первую очередь от объемов поступающей дунайской воды и величины испарения. Изъятие воды на орошение в расчет не принимали в связи с его полным отсутствием. Влияние рек Алияга и Киргиж-Китай – нестабильный фактор вследствие их частого и длительного пересыхания. Предельное значение минерализации для поверхностных источников водоснабжения составляет 1 000–1 500 мг/дм³ (Council…, 1980, 1998). Исходя из этого, в настоящее время озеро не пригодно даже для некоторых форм рыбохозяйственного использования – для разведения пресноводных рыб минерализация не должна превышать 1 000 мг/дм³ (Council…, 1978).

Растворенный кислород. В анализируемый период среднегодовое количество растворенного кислорода колебалась от 10,2 мг O_2/дм³ в 2012 г. до 11,4 мг O_2/дм³ в 2009 г. (табл. 3). Всего проведено 120 измерений. Максимальное количество растворенного кислорода (23,7 мг O_2/дм³) зафиксировано в марте 2012 г., минимальное (6,1 мг O_2/дм³) – в августе 2010 г. и в июне 2012 года. В 2007–2009 гг. среднегодовое количество растворенного кислорода составило около 11,0 мг O_2/дм³. С 2010 г. этот показатель в большинстве случаев был несколько меньше.

Во все годы максимальные значения растворенного кислорода приходились на зиму – первые месяцы весны вследствие относительно низкой температуры воды, что способствовало повышению растворимости кислорода, поступающего из атмосферы, а также из-за весенней «вспышки» фитопланктона. Минимальные показатели приходились обычно на осень вследствие снижения численности фитопланктона, а также других внутриводоемных процессов. В 2012 г. зафиксированы как максимум, так и минимум количества растворенного кислорода. Резкое его снижение пришлось на конец апреля и продолжалось все лето. Такую картину можно связать с наблюдавшимся очень сильным «цветением» воды. Температура воды и воздуха также достигала максимальных значений, что снижало растворимость кислорода в воде.

В 2001 г. количество растворенного кислорода составило 6,1–11,8 мг O_2/дм³ (Denga and Medinets, 2002), что в целом соответствовало анализируемому нами периоду. В это время насыщение воды кислородом составляло 92–102%, что свидетельствовало о благоприятном кислородном режиме в озере во все сезоны. В целом, на протяжении 10 лет среднегодовые значения растворенного кислорода отличались максимум на 1,2 мг O_2/дм³, что позволило считать кислородный режим стабильным и благоприятным для гидробионтов: содержание растворенного кислорода должно быть не меньше 4–6 мг O_2/дм³ (Council…, 1978, 1980, 1998; Dzhurtubaev, 2011). Однако, говоря о кислородном режиме озера, нельзя забывать о заморах рыб и зообентоса, которые во многом – результат ежегодной температурной дихотомии и, как следствие, температурной и плотностной стратификации воды.

Таблица 3

Количество растворенного кислорода в воде оз. Китай в 2004–2013 гг. (n = 12)

Количество растворенного кислорода, мгO_2/дм³	Годы									
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Среднее за год (M ± m)	11,3 ± 0,45	11,3 ± 0,45	10,7 ± 0,42	10,7 ± 0,42	11,3 ± 0,45	11,4 ± 0,45	10,5 ± 0,42	10,7 ± 0,42	10,2 ± 0,40	10,6 ± 0,42
Максимальное	15,7	15,7	13,9	14,7	15,5	18,9	15,5	13,8	23,7	13,8
Минимальное	9,0	8,7	7,7	6,9	9,5	8,5	6,1	6,4	6,1	7,9

Примечание: см. табл. 1.

БПК$_5$ – биохимическое (биологическое) потребление кислорода. Выполнено 114 измерений БПК$_5$. Колебания этого показателя составили от 2,0 в январе 2005 до 15,0 мг O_2/дм³ в июне 2012 года. В среднегодовом выражении БПК$_5$ колебалось от 5,8 в 2005 до 11,3 мг O_2/дм³ в 2012 г. (рис. 4). Отметим для сравнения, что в 2001 г. колебания составили 4,9–14,2 мг O_2/дм³ (Denga and Medinets, 2002). Согласно указанным выше нормативным документам, величина БПК$_5$ не должна превышать предельно допустимую величину 6 мг O_2/дм³. Нами установлено 109 случаев ее превышения (96% количества измерений), частота которых возрастала с 2004 до 2013 г. Больших значений достигали внутригодовые колебания БПК$_5$. Так, в 2005 г., когда среднегодовое значение БПК$_5$ было наименьшим, колебания по месяцам составили от 2,0 в январе до 9,9 мг O_2/дм³ в июле; в 2008 г. (небольшой пик БПК$_5$ в среднем за год) – 5,1 и 11,0 мг O_2/дм³, соответственно в январе и сентябре. В 2012 г., когда БПК$_5$ достигло среднегодового максимума, в 10 случаях из 12 этот показатель превышал 9,3 мг O_2/дм³; минимальное значение зафиксировано в январе – 4,9 мг O_2/дм³. Отметим для сравнения, что в 2001 г. колебания БПК$_5$ практически совпадали с 2012 г.: 4,9–14,2 мг O_2/дм³, что являлось худшим показателем среди крупных придунайских озер в 2001 году. В целом (рис. 4) БПК$_5$ имеет тенденцию к росту, что свидетельствует об ухудшении качества воды и условий обитания гидробионтов.

Бихроматная окисляемость. Выполнено 113 измерений. Ни в одной из проб величина бихроматной окисляемости не соответствовала требованиям нормативных документов (до 30 мг O_2/дм³). Минимальное значение (59,7 O_2/дм³) зафиксировано в феврале 2010 г., максимальное (277,1 O_2/дм³) – в середине 2011 года. То есть допустимое значение постоянно превышалось в 2–9 раз. Среднегодовые величины бихроматной окисляемости в анализируемый период колебались от 101,0 в 2005 г. до 176,8 O_2/дм³ в 2012 г. (рис. 5).

Рис. 4. Среднегодовая величина БПК$_5$ (мг O_2/дм³) в оз. Китай в 2004–2013 гг.

Рис. 5. Среднегодовые величины бихроматной и перманганатной окисляемости (O_2/дм³) в оз. Китай в 2004–2013 гг.: —— – бихроматная окисляемость, - - - – перманганатная окисляемость

Колебания среднегодовых показателей бихроматной окисляемости имеют волнообразный характер с тенденцией роста. Заметное уменьшение этого показателя в 2009–2010 гг. связано, очевидно, с поступлением значительных объемов дунайской воды: 39,31 млн м³ в 2009 г. и 43,64 млн м³ в 2010 г. (данные ДБУВР). Дальнейшее резкое увеличение величины бихроматной окисляемости в 2011 г. (среднегодовая – около 155,0, максималь-

ная – 277,1 O_2/дм³ в сентябре) произошло, очевидно, из-за аккумуляции органических веществ в озере. В 1988–1990 гг. ее величина в оз. Китай колебалась в пределах 13,4–56,0, в среднем составила 29,6 O_2/дм³ (Enaki and Zhuravljova, 1993). Как видно, значение бихроматной окисляемости в 2012 г. увеличилось по сравнению с 1988–1990 гг. на порядок.

Перманганатная окисляемость. Проведено 111 определений. Величина перманганатной окисляемости ни разу не соответствовала норме (до 5 мг O_2/дм³). В отдельные месяцы зафиксированы превышение предельно допустимых величин в 1,5–8,5 раза, по среднегодовым показателям – в 2,4–5,2 раза. Наименьшее значение (7,3 мг O_2/дм³) зафиксировано в апреле 2010 г., наибольшее (42,7 мг O_2/дм³) – в апреле 2012 года. Среднегодовые величины перманганатной окисляемости колебались от 11,9 в 2005 г. до 25,8 мг O_2/дм³ в 2012 г. (рис. 5). Таким образом, показатель в исследуемый период увеличился вдвое. Характер кривой в целом соответствует таковому для бихроматной окисляемости: снижение с 15,4 мг O_2/дм³ в 2004 г. до минимума среднегодовых значений в 2005 г., постепенный рост к 2008 г., снижение в 2009–2010 гг., резкий рост в 2011 г. и стабилизация в зоне максимума в 2012–2013 годы. В 1998–1990 гг. среднегодовая величина была в пределах 9,3–17,3 мг O_2/дм³, в среднем составляла 11,7 мг O_2/дм³ (Enaki and Zhuravljova, 1993). Можно сделать вывод, что состояние кислородного режима в оз. Китай постепенно ухудшилось.

Общий фосфор. Выполнено 114 измерений. В 2004–2013 гг. среднегодовое содержание общего фосфора в воде оз. Китай колебалось от 0,061 в 2005 до 0,111 мг/дм³ в 2012 г. (рис. 6). Минимальное количество (0,030 мг/дм³) зафиксировано в мае 2008 г., максимальное (0,234 мг/дм³) – в октябре 2011 года. Предельно допустимая концентрация (ПДК) общего фосфора при различном использовании водных объектов, согласно указанным выше нормативным документам, составляет 0,2–0,4 мг/дм³. То есть за весь период 2004–2013 гг. среднегодовые показатели ни разу не превысили допустимый уровень. В отдельные месяцы зафиксировано лишь три случая небольшого превышения ПДК (при норме 0,2 мг/дм³): в ноябре 2004 г. – 0,215, в октябре 2011 г. – 0,234 и в сентябре 2012 г. – 0,232 мг/дм³. В 2004–2010 гг. среднегодовые величины содержания общего фосфора изменялись незначительно. Пределы колебаний составили 0,060–0,077 мг/дм³ (рис. 6). Резкое увеличение его содержания произошло в 2011 г. – до 0,093 мг/дм³ и продолжилось в 2012 г. до указанного среднегодового максимума. В 2013 г. отмечено уменьшение до 0,097 мг/дм³. Тем не менее, эта величина оставалась большей, чем в 2011 году. Содержание общего фосфора в воде оз. Китай относительно стабильно на протяжении длительного времени. В 1988–1990 гг. оно составило 0,017–0,180 мг/дм³, в среднем – 0,089 мг/дм³ (Enaki and Zhuravljova, 1993). В 2001 г. в среднем по озеру его содержание колебалась от 0,030 до 0,190 мг/дм³ (Denga and Medinets, 2002).

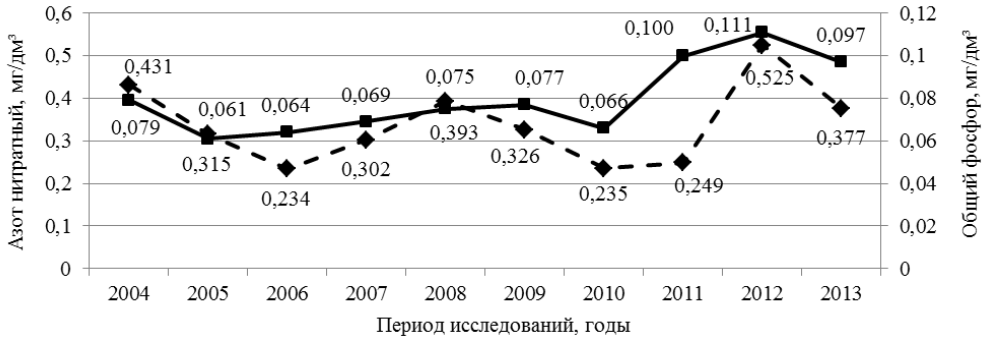


Рис. 6. Среднегодовые концентрации общего фосфора и азота нитратного в воде оз. Китай в 2004–2013 гг.:
— общий фосфор; - - - – азот нитратный

Азот нитратный. В 2004–2013 гг. выполнено 114 измерений. Не было выявлено ни одного превышения ПДК, которая составляет 50 мг/дм³. Среднегодовое содержание азота нитратного колебалось от 0,234 в 2006 до 0,525 мг/дм³ в 2012 г. (рис. 6). Наименьшее значение зафиксировано в феврале 2010 г. (0,015 мг/дм³), максимальное – в октябре 2004 г. (3,110 мг/дм³). Сезонная динамика содержания азота в воде зависит от условий в конкретном озере. Например, в оз. Пейси (Чудское озеро) эта динамика противоположна обнаруженной нами – максимум азота фиксировался в зимний период (Punning and Kapanen, 2009; Buhvestova et al., 2011). Более сходная с нашими результатами картина зафиксирована в греческом озере Памвотис (Kagalou et al., 2007). Среднегодовое содержание азота нитратного имело довольно сложную динамику (рис. 6), выделялись три пика: в 2004, 2008 и 2012 гг. – соответственно, 0,431, 0,393 и 0,525 мг/дм³. Помимо минимума в 2006 г., выделялся довольно длительный период минимальных значений в 2010–2011 гг. (0,235–0,249 мг/дм³). В 2001 г. содержание азота нитратного в среднем по озеру колебалось в пределах 0,030–0,750 мг/дм³ (Denga and Medinets, 2002). Среднее содержание за время наших исследований составило 0,379 мг/дм³.

pH. Согласно указанным нормативным документам, величина pH для питьевого водоснабжения и рыбохозяйственного использования водоемов ограничена значениями 6,50–8,50 (9,00). В 2004–2013 гг. среднегодовая величина pH колебалась от 8,20 в 2008–2009 до 8,70 в 2012 г. (рис. 7). Минимальная величина pH (7,85) отмечена в декабре 2008, максимальная (9,10) – в сентябре 2012 года. В этом году значения pH были особенно велики: из ежемесячных 12 измерений в восьми величина pH превышала 8,50, в пяти – 8,84. График pH четко разделяется на несколько частей: с 2004 по 2008 г. среднегодовая величина pH снизилась с 8,50 до 8,20 и остава-

лась на прежнем уровне в 2009 году. Затем наблюдался довольно резкий ступенчатый подъем до указанного максимума в 2012 году. В целом, в течение длительного периода времени величина pH практически постоянно находилась в пределах нормы: в 1988–1990 гг. – 7,50–9,20 (превышение даже при норме 9,0 (Enaki and Zhuravljova, 1993)), в 2001 г. – 8.11–8.62 (Denga and Medinets, 2002).

Рис. 7. Среднегодовые показатели pH в воде оз. Китай в 2004–2013 гг.

Рассмотренные показатели являются важнейшими факторами, определяющими гидрологическую и гидрохимическую ситуацию в озерах и позволяющими управлять качеством воды в водоемах (Spears et al., 2007). На их величину оказывают существенное влияние как внутриводоемные процессы, так и ситуация на водосборных площадях озер, погода. Например, заметно увеличивается концентрация азота в воде вследствие взмучивания донных осадков (Kristensen et al., 1992). Выявлено влияние на концентрацию азота прибрежной растительности (Canham et al., 2012). На концентрацию общего фосфора в воде заметно влияют температура и уровень воды в озере, фотосинтетическая активность водных растений, ветер (Tammeorg et al., 2014).

Относительно благополучная ситуация в оз. Китай сохранялась по растворенному в воде кислороду, общему фосфору, азоту нитратному и pH. Причем небольшое содержание азота и фосфора не обязательно означает невысокий уровень загрязнения, а может объясняться замедлением ряда внутриводоемных процессов (Tiberti et al., 2010). В летнее время быстро ассимилируются нитраты, особенно в эвфотическом слое (Tsunogai et al., 2011).

По большинству рассмотренных в работе гидрологических и гидрохимических характеристик прослежено ухудшение экологической обстановки в оз. Китай от 2004–2005 к 2012–2013 годам. Причем в большинстве случаев лучшая ситуация наблюдалась в 2005, наихудшая – в 2012 году. Последнее, как указывалось выше, – следствие аномально высокой летней температуры воздуха и воды, а также антропогенного влияния – закрытия шлюзов и недопуска дунайской воды в озеро в половодье.

Выводы

Анализ гидрологических и гидрохимических характеристик показал, что экологическая ситуация в оз. Китай в 2004–2013 гг. постепенно ухудшалась. В течение всего анализируемого периода озерная вода не соответствовала ГОСТ по прозрачности, которая снижалась к 2012–2013 годам. Постоянно возрастало среднегодовое количество взвешенных в воде веществ: от 29,4 в 2006 до 143,2 мг/дм³ в 2012 году.

Заметно возросла минерализация, среднегодовое значение в 2012 г. составило 5 140 мг/дм³. В течение всего анализируемого периода уровень минерализации значительно превышал допустимые значения для питьевого водоснабжения и некоторых форм ведения рыбного хозяйства. Постоянно превышены допустимые значения показателей БПК$_5$, бихроматной и перманганатной окисляемости; по всем трем параметрам ситуация ухудшалась к 2012–2013 годам.

Содержание растворенного в воде кислорода, общего фосфора, азота нитратного и показатель pH соответствовали ГОСТ и другим нормативным документам. Тем не менее, ситуация по всем этим показателям ухудшалась к 2012–2013 годам. Среднегодовая температура воды была в пределах 11,4–15,8 °C, что соответствует температурному режиму водоемов данного региона.

Благодарности

Авторы искренне благодарны за предоставленные материалы и поддержку заведующей лабораторией мониторинга вод ДБУВР Ирине Витальевне Куриловой, начальнику отдела водных объектов, использования водных ресурсов, мониторинга вод ДБУВР Григорию Анатольевичу Ромалийскому, а также биологу кафедры гидробиологии и общей экологии ОНУ Ольге Леонтьевне Соловьевой за обработку гидрохимических проб.

Библиографические ссылки

Buhvestova, O., Kangur, K., Haldna, M., Mȍls, T., 2011. Nitrogen and phosphorus in Estonian rivers discharging into Lake Peipsi: Estimation of loads and seasonal and spatial distribution of concentrations. Eston. J. Ecol. 60(1), 18–38.

Canham, C.D., Pace, M.L., Weathers, K.C., McNeil, E.W., Bedford, B.L., Murphy, L., Quinn, S., 2012. Nitrogen deposition and nitrogen concentrations: A regional analysis of terrestrial controls and aquatic linkages. Ecosphere 3(7), 1–16.

Denga, J.M., Medinets, V.I., 2002. Gidrohimicheskij rezhim i kachestvo vod Pridunajskih ozjor [Hydrochemical regime and water quality of the Danube lakes]. Visnik Odes'k. Nac. Univ 7(2), 17–23 (in Russian).

Dzhurtubaev, J.M., Dzhurtubaev, M.M., 2011. Nekotorye limnologicheskie harakteristiki pridunajskih ozjor Odesskoj oblasti v sovremennyh uslovijah [Some limnological characteristics of the Danube lakes Odessa region in modern conditions]. Nauk. Zap. Ternop. Nac. Ped. Univ. Ser. Biol. 49, 26–31 (in Russian).

Dzhurtubaev, M.M., Dzhurtubaev, J.M., Zamorov, V.V., 2012. Brjuhonogie molljuski pridunajskih ozjor i vodotokov Odesskoj oblasti [Gastropods Danube lakes and streams of Odessa region]. Pechatnyj Dom, Odessa (in Russian).

Enaki, I.G., Zhuravljova, L.A., 1993 Gidrohimicheskij rezhim [Hydrochemical regime]. Gidrojekologija ukrainskogo uchastka Dunaja i sopredel'nyh vodojomov. Naukova Dumka, Kyiv. P. 23–40 (in Russian).

Gâştescu, P., Bretcan, P., Teodorescu, D.C., 2016. The lakes of the Romanian Black Sea coast. Man-induced changes, water regime, present state. Rev. Roum. Gëogr./Rom. Journ. Geogr. 60(1), 27–42.

Gjeshtesku, P., Brajer, A., 1969a. Gidrologicheskaja svjaz' mezhdu rukavami i ozjorami del'ty Dunaja [The hydrological connection between the sleeve and the lakes of the Danube delta]. Limnologicheskie issledovanija Dunaja. Naukova Dumka, Kyiv. P. 109–118 (in Russian).

Gjeshtesku, P., Brajer, A., 1969b. Gidrohimicheskie harakteristiki ozjor, raspolozhennyh v del'te Dunaja [Hydrochemical characteristics of lakes located in the Danube Delta]. Limnologicheskie issledovanija Dunaja. Naukova Dumka, Kyiv. P. 119 (in Russian).

Gopchenko, J.D., Belash, J.S., 2005. Osoblyvosti vodnosol'ovogo rezhymu prydunajs'kyh ozer (na prykladi ozera Kytaj) [Features water-salt regime of the danube lakes (for example Lake Kytai)]. Nauk. Zap. Ternop. Nac. Ped. Univ. Ser. Biol. 26, 98–100 (in Ukrainian).

Gopchenko, J.D., Medvedjeva, J.S., 2008. Osoblyvosti vodnogo i sol'ovogo rezhymiv oz. Kytaj u 2007 r [Eatures of water and salt regimes of Kytai lake in 2007 year]. Visn. Odes'k. Derzh. Ekol. Univ. 6, 129–132 (in Ukrainian).

Kagalou, I., Papastergiadou, E., Leonardos, I., 2008. Long term changes in the eutrophication process in a shallow Mediterranean lake ecosystem of W. Greece: Response after the reduction of external load. J. Environ. Manage. 87, 497–506.

Kristensen, P., Søndergaard, M., Jeppesen, E., 1992. Resuspension in a shallow eutrophic lake. Hydrobiologia 228(1), 101–109.

Punning, J.M., Kapanen, G., 2009. Phosphorus flux in Lake Peipsi sensu stricto, Eastern Europe. Eston. J. Ecol. 58(1), 3–17.

Romanenco, V.D. (ed.), 2006. Metody gidrologichnyh doslidzhen' poverhnevyh vod [Methods of hydrological studies of surface waters]. Logos, Kyiv (in Ukrainian).

Semenov, A.D. (ed.), 1977. Rukovodstvo po himicheskomu analizu poverhnostnyh vod sushi [Guidelines for chemical analysis of surface waters]. Gidrometeoizdat, Leningrad (in Russian).

Shvebs, G.I., Igoshyn, M.I., 2003. Katalog richok i vodojm Ukrajiny [Product rivers and ponds Ukraine that occurred]. Astroprynt, Odesa (in Ukrainian).

Spears, B.M., Carvalho, L., Peterson, D.M., 2007. Phosphorus partitioning in a shallow lake: Implications for water quality management. Water Environ. J. 21, 47–53.

Tammeorg, O., Mȍls, T., Kangur, K., 2014. Weather conditions influencing phosphorus concentration in the growing period in the large shallow Lake Peipsi (Estonia/Russia). J. Limnol. 73(1), 27–35.

Tiberti, R., Tartari, G.A., Marchetto, A., 2010. Geomorphology and hydrochemisti of 12 Alpine lakes in the Gran paradise National Park, Italy. J. Limnol. 69(2), 242–256.

Timchenko, V.M., Novikov, B.I., 1993. Vzveshennoe v vode veshhestvo – kljuchevoj jekologo-gidrologicheskij jelement ust'evogo uchastka Dunaja i sopredel'nyh vodojomov [Weighted substance in the water – a key ecological and hydrological element of the mouth of the Danube and adjacent bodies of water]. Gidrojekologija ukrainskogo uchastka Dunaja i sopredel'nyh vodojomov. Naukova Dumka, Kyiv. P. 3–14 (in Russian).

Tsunogai, U., Daita, S., Komatsu, D.D., Nakagava, F., Tanaka, A., 2011. Quantifying nitrate dynamies in an oligotrophic using Δ^{17} O. Biogeosciences 8, 687–702.

Надійшла до редколегії 29.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 392–397.

doi:10.15421/011652

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 616.831+611.3.018

Розподіл астрогліальних білків у мозку щурів за дії доксорубіцину та гуміліду

Я.В. Бабець[1], Г.О. Ушакова[1], Л.М. Степченко[2]

[1]*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна*
[2]*Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпропетровськ,Україна*

Застосування доксорубіцину протягом 4 тижнів у дозі 1 мг/кг викликає розвиток кардіоміопатії у щурів, що було показано раніше. Порушення роботи серця та, як наслідок, виникнення гіпоксичного стану спричинюють ризик утворення ішемії мозку. Астроглія перша відповідає на порушення метаболізму у мозку. Досліджено рівень астроцитспецифічних білків: кальцийзв'язувального білка S-100b і гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ), у моделі доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії та дії цього цитостатика окремо або у комплексі з гумілідом. Унаслідок впливу доксорубіцину відбувається підвищення вмісту фібрилярного ГФКБ у гіпокампі щурів, імовірно через проліферацію астроцитів. Не визначено вірогідних змін рівня розчинного ГФКБ у гіпокампі за впливу доксорубіцину, при цьому в мозочку відмічено зменшення рівня рГФКБ порівняно з контрольною групою. У гіпокампі, таламусі та корі великих півкуль спостерігається збільшення концентрації S-100b на 20–26% порівняно з контрольними тваринами. Застосування доксорубіцину разом із гумілідом частково сприяє запобіганню збільшення концентрації ГФКБ та S-100b у гіпокампі щурів. У периферічній нервовій системі серцевої тканини визначено реципрокну зміну рівня S-100b та ГФКБ із високим ступенем кореляційного зв'язку за вливу доксорубіцину. У разі застосування доксорубіцину рівні білків ГФКБ та S-100b у мозку на порядок–два вищі за концентрацію цих самих білків у плазмі крові та серці, що свідчить про збереження цілісності гематоенцефалічного бар'єру за впливу досліджуваного антибіотика.

Ключові слова: кардіопатія; ГФКБ; S-100b; гіпокамп; мозочок; кора півкуль

The role of astroglial proteins in the brains of rats under the influence of doxorubicin and Humilid

Y.V. Babets[1], G.A. Ushakova[1], L.M. Stepchenko[2]

[1]*Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine*
[2]*Dnipropetrovsk State Agrarian-Economics University, Dnipropetrovsk, Ukraine*

Doxorubicin causes toxic side effects which result in profound changes in various organs including the heart muscle, which leads to the development of cardiomyopathy, with further complications, as our earlier studies have shown. But there are complications in treatment by anthracycline chemotherapy. The reduction of toxicity of cytotoxic drugs without reduction of their antitumor action remains an important medical challenge. The S-100b and glial fibrillar acid protein (GFAP) are the key astroglial proteins which are widely used as biomarkers for neurotraumas and strokes. Thus the purpose of our work was to study the GFAP and S-100b levels under the experimental model of doxorubicin-induced cardiomyopathy and the effect of the cytostatic separately or combined with Humilid. The level of studied proteins was measured by ELISA using monospecific antibodies against GFAP and S-100b (Sigma, USA), secondary anti-IgG labeled with horseradish peroxidase (Sigma, USA) and GFAP and S-100b standards (Sigma, USA). The study was conducted on white Wistar male rats weighing 210 ± 50 g, which were divided into 3 groups with 8 animals in each: 1 – control, rats received saline i/p, 2 – doxorubicin 1 mg/kg i/p once weekly during 4 weeks, 3 – doxorubicin by the same scheme plus 0.01% solution of Humilid during 4 weeks. Under impact of doxorubicin an increase of fibrillar GFAP content in the rats' hippocampus was shown, which may have occurred as a result of the proliferation of astrocytes.

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, 72 Gagarina ave., Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-097-789-66-43. E-mail: kristalxx@yandex.ru

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ 49600, Україна
Dnipropetrovsk State Agrarian-Economics University, 25 Voroshilova str., Dnipropetrovs, 49600, Ukraine

An increase of concentration of S-100b to 20–26% compared with the control animals was also detected in the hippocampus, thalamus and the cerebral cortex of the studied animals. Concomitant administration of doxorubicin with Humilid partially prevented the increase in concentration of GFAP and S-100b in the rats' hippocampus. The reciprocal change in the level of S-100b and GFAP in the peripheral nervous system of the heart tissue was defined with a high degree of correlation under impact of doxorubicin. Accordingly, we have proposed the hypothesis that the increase in of the filament GFAP in the hippocampus may occur due to the development of the ischemic state under the impact of doxorubicin-induced cardiomyopathy. Humilid with doxorubicin prevented changes in the researched astroglial proteins of the heart muscle and brain parts of rats.

Keywords: cardiomyopathy; GFAP; S-100b; hippocampus; cerebellum; cortex

Вступ

Антрациклінові антибіотики – одні з найефективніших препаратів у лікуванні пухлин різної етіології, зокрема мозку (Gupta et al., 2014; Inoue et al., 2014). Однак застосування доксорубіцину спричинює розвиток побічних токсичних ефектів, які викликають глибокі зміни у різних органах, у тому числі серцевому м'язі, та зумовлюють розвиток кардіоміопатії з подальшими ускладненнями, що показано в наших дослідженнях раніше (Gordienko et al., 2012; Babets et al., 2013, 2015). Порушення роботи серця та, як наслідок, виникнення гіпоксичного стану сприяють ризику утворення ішемії мозку.

Астрогліальні клітини відіграють ключову роль у захисті мозку, підтриманні гомеостазу мозку як активні учасники нейронного метаболізму, синаптичної пластичності та нейропротекції (Colangelo et al., 2014). Астроглія характеризується присутністю унікального структурного білка – гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) та регуляторного кальційзв'язувального білка S-100b, які широко використовуються як біомаркери пошкодження мозку від різних чинників і прогнозу перебігу хвороби, у тому числі ішемії (Yardan et al., 2011; Yang et al., 2015).

ГФКБ – основний білок проміжних філаментів астроцитів, відповідальний за цитоскелетну структуру цих клітин, підтримує їх механічну міцність, а також вливає на архітектоніку сусідніх нейронів, бере участь у формуванні та функціональній спроможності гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) (Yang et al., 2015).

Патогенез багатьох хвороб пов'язаний із порушенням рівноваги внутрішньоклітинного кальцію. Зв'язування кальцію з S-100b індукує конформаційні зміни протеїну, що дозволяє гідрофобним залишкам взаємодіяти з іншими білками. S-100b міститься в цитоплазмі та ядрі астроцитів, регулює структуру цитоскелета та проліферацію. Хоча S-100b присутній головним чином в астрогліальних і шваннових клітинах, він також знайдений в адипоцитах, хондроцитах, лімфоцитах, клітинах кісткового мозку, а також у меланоцитах (Yardan et al., 2011).

Дія доксорубіцину та розвиток гіпоксичного стану супроводжуються активацією окисного стресу та посиленням вільнорадикальних процесів, а також зміною обміну вуглеводів, білків та ліпідів. Нині розглядають різні протоколи застосування антиоксидантів різної природи як допоміжних речовин для зменшення токсичних ефектів антрациклінів (Distefano, 2009; Inoue et al., 2014).

Гумілід – біологічно активна речовина, розроблена співробітниками проблемної лабораторії з гумінових речовин ім. Л.А. Христєвої Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету (Paronik, 2015). Незважаючи на велику кількість досліджень, пов'язаних із визначенням лікувально-профілактичних ефектів гуміліду у тварин, дані щодо впливу цього препарату на розподіл нейроспецифічних білків на фоні дії доксорубіцину досі відсутні.

Мета дослідження – оцінити рівень астрогліальних білків ГФКБ та S-100b у плазмі крові, екстракті з серця та головного мозку за умов експериментальної моделі доксорубіцин-індукованної кардіоміопатії у щурів та ефекту цього цитостатика разом із речовиною гумінової природи.

Матеріал і методи досліджень

Тварини. Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар вагою 210 ± 50 г. Тварин поділено на три групи по 8 особин у кожній. Тварин утримували у віварії ДЗ «Дніпропетровська медична академія» у стандартних умовах із вільним споживанням води та їжі протягом усього експериментального періоду. Всі експериментальні протоколи поводження з тваринами схвалені місцевим етичним комітетом (Дніпропетровськ, Україна).

Модель доксорубіцин-індукованої кардіотоксичності. До першої групи увійшли контрольні тварини, які отримували ін'єкції фізіологічного розчину. У другій групі щурам уводили внутрішньочеревинно доксорубіцин у дозі 1 мг/кг один раз на тиждень протягом чотирьох тижнів. Третя група отримувала доксорубіцин за такою самою схемою, як і друга, а також водний розчин гуміліду (0,01%, ТУУ 15.7-00493675-004 2009) у питній воді протягом усього експерименту. Після закінчення п'ятого тижня експерименту всіх тварин декапітували з використанням тіопенталу натрію в дозі 60 мкг/кг згідно з вимогами Міжнародної конвенції з правил гуманного поводження з дослідними тваринами.

Імуноферментний аналіз. Із тканин мозку та серцевого м'яза виділили цитозольну та філаментну фракції білків. Спочатку тканину гомогенізували у співвідношенні 1 : 10 у буфері (Трис-HCl – 25 мМ; ЕДТО – 1 мМ; дитіотреїтол – 0,01%; суміш протеазних інгібіторів – 2 мМ; pH 7,4), після чого центрифугували за 20 000 g 60 хв, супернатант відокремили для подальшого аналізу. Осад використали для отримання філаментної фракції білків за допомогою 4 М сечовини у відповідному буфері. Рівень S-100b або ГФКБ вимірювали імуноферментним аналізом із використанням моноспецифічних антитіл проти S-100b або ГФКБ (Sigma, США), вторинних анти-IgG мічених пероксидазою хрону (Sigma, США). Субстратом для пероксидази слугував розчин ортофенілендифосфату та H_2O_2 (Sigma, США). Вимірювання проводили за допомогою імуноферментного ридера Antos 2010 (Фінляндія) за 492 нм.

Статистичну обробку результатів проводили, застосовуючи однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Вірогідними вважали відмінності за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Цілісність цитоскелета гліальних клітин, їх структуру та механічну міцність, а також пітримку сусідніх нейронів і гематоенцефалічного бар'єру забезепечує гліальний фібрилярний кислий білок (Yang et al., 2015). У даному дослідженні показано, що в контрольних умовах рівень філаментного ГФКБ (фГФКБ) коливався від 5,2 ± 0,5 до 63,4 ± 5,5 мкг/100 мг тканини залежно від відділу мозку. За дії доксорубіцину протягом місяця у гіпокампі визначено збільшення концентрації фГФКБ на 236%, P < 0,003 порівняно з контролем (рис. 1).

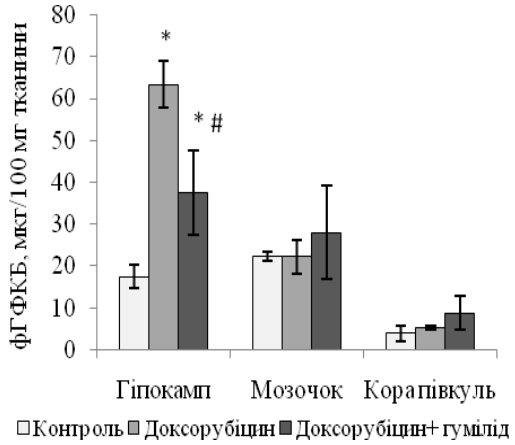


Рис. 1. Концентрація фГФКБ у гіпокампі, мозочку та корі великих півкуль щурів у контрольних умовах, за впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та гуміліду (0,01% у питній воді протягом чотирьох тижнів):
n = 8, * – P < 0,05 відносно контрольної групи

Застосування доксорубіцину та гуміліду наближає рівень фГФКБ до рівня контрольної групи на 147% і становить 37,6 ± 10,0 мкг/100 мг тканини. Літературні дані показують, що дія доксорубіцину на пухлинні клітини гліобластоми 101/8 щурів супроводжується зниженням рівня ГФКБ (Wohlfart et al., 2011). У нашому дослідженні виявлено, що рівень фГФКБ у гіпокампі здорових щурів підвищується за доксорубіцинової токсикації. Отримані результати дають підставу припускати, що один із механізмів підвищення адаптації нервової тканини до доксорубіцин-індукованої кардіотоксичності реалізується за участю цитоскелетних структур гліальних клітин. Пластичність цитоскелета астроцитів – один з адаптивно-компенсаторних механізмів функціонування клітинного мікрооточення нейронів у разі пошкодження ЦНС. Підвищення концентрації філаментного ГФКБ астроглії, що належить до найстабільніших компонентів цитоскелета в нормі, за умов відповіді на токсичну дію доксорубіцину може бути тільки одним із багатьох етапів адаптації до доксорубіцин-індукованої інтоксикації (Frias, 2013). Отже, в нашому дослідженні встановлено, що за дії доксорубіцину протягом місяця синаптична пластичність у гіпокампі зберігається у межах значень контрольної групи. З іншого боку, зареєстровано перебудову цитоскелета астроцитів (збільшення рівня філаментного ГФКБ) у відповідь на токсичну дію доксорубіцину для захисту гематоенцефалічного бар'єру та нейронів. Значно менша концентрація ГФКБ міститься у розчинній фракції, де ГФКБ презентований у водорозчинній низькомолекулярній формі, що надалі використовується для формування полімера – філаментного ГФКБ, або є продуктом деструкції філаментної мережі цитоскелета астроцитів (Li et al., 2006).

У нашому експерименті не визначено вірогідних змін рівня розчинного ГФКБ у гіпокампі за впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів, при цьому у мозочку спостерігалося зменшення рівня рГФКБ (на 33%, P < 0,05 порівняно з контролем, рис. 2).

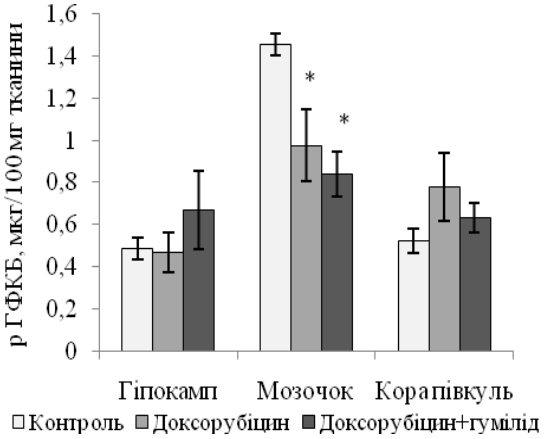


Рис. 2. Концентрація рГФКБ у гіпокампі, мозочку та корі великих півкуль щурів у контрольних умовах, за впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень), та спільного застосування доксорубіцину та гуміліду (0,01% у питній воді протягом чотирьох тижнів):
n = 8, * – P < 0,05 відносно контрольної групи

У корі великих півкуль спостерігалася тенденція до збільшення рівня рГФКБ (на 49%, P < 0,19) за дії доксорубіцину, але не в усіх тварин. Нещодавно показано, що на першому етапі розвитку запалення активовані астроцити втрачають експресію ГФКБ та інших генів (Gabel et al., 2016). Не виключено, що на фоні розвитку доксорубіцин-індукованної кардіопатії, зниження трофіки мозку, згодом можуть виникати локальні місця запалення, де на початковій стадії може відбуватися активація астроцитів і, відповідно, зниження розчинної форми ГФКБ саме у мозочку, де знижена функція гематоенцефалічного бар'єру.

Застосування доксорубіцину разом із гумілідом не запобігало зменшенню рГФКБ і, вірогідно, не відрізнялось від значень групи, що отримувала тільки доксорубіцин.

Стан ГФКБ модулюється ендогенно за допомогою кальційзалежного зв'язування з EF-рецептором S-100b. S-100b сприяє розбиранню проміжних філаментів за рахунок гальмування фосфорилювання ГФКБ (Yang et al., 2015). Отримані концентрації S-100b складаються як із концентрації цитозольної його форми, так і з концентрації експресованих астроглією позаклітинних молекул S-100b. Експресія S-100b може підвищуватись у випадку астрогліозу, після мозкового інсульту, що ставить під загрозу цілісність тканини мозку, або під час хронічних запальних станів мозку (Sorci, 2013). Також є дані, що S-100b бере участь у регулюванні взаємодії компонентів

нейронів і глії (Sorci et al., 2010). У нашому дослідженні визначено, що у гіпокампі та корі великих півкуль спостерігається збільшення концентрації S-100b (від 20–26%, P < 0,05, рис. 3) за умов розвитку доксорубіцин-індукованої кардіопатії, що може свідчити про декілька процесів, які, можливо, відбуваються одночасно: активацію проліферації астроцитів, збільшення експресії S-100b за рахунок збільшення концентраціїї вільного Ca^{2+}, що характерне для ішемічного стану (Skrebickiy et al., 2012) та узгоджується із загальними принципами підвищення S-100b за умов нейродегенерації (Mao et al., 2012).

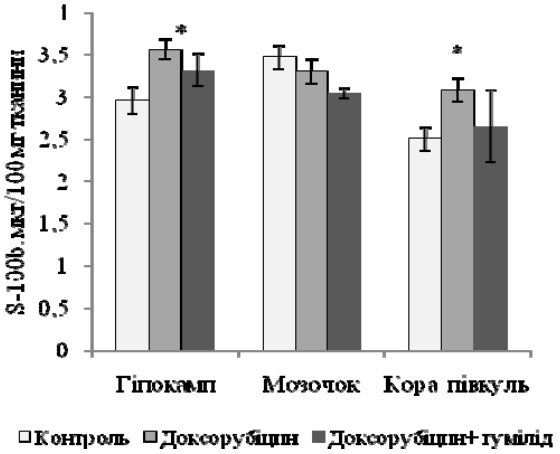


Рис. 3. Концентрація рівня S-100b у гіпокампі, мозочку та корі великих півкуль щурів у контрольних умовах, за впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та гуміліду:
n = 8, * – P < 0,05 відносно контрольної групи

У даному дослідженні визначено, що дія гуміліду зумовила наближення рівня S-100b до рівня контрольної групи у гіпокампі та корі великих півкуль. За літературними даними, підвищений рівень S-100b частіше за все пов'язаний із патологічною травмою або клінічною тяжкістю різних розладів, що впливають на центральну нервову систему (Yardan et al., 2011), при цьому рівень цього білка змінюється у рази. В нашому дослідженні підвищення S-100b було значно меншим, скоріше за все зумовлене астрогліальною пластичністю, а застосування доксорубіцину разом із гумілідом запобігало змінам рівня цього білка у мозку щурів за дії застосованого антрацикліну.

Як доповнення до переліку важливих функцій кальційзв'язувального білка S-100b треба зазначити, що цей білок залучається також до регуляції формування серцево-судинної системи та вважається біохімічним маркером ушкодження цієї системи після шунтування та дилатаційної кардіоміопатії, після інфаркту міокарда (Faa et al., 2012), травм серця та головного мозку (Tsoporis et al., 2010). S-100b запропонований як маркер негативного прогнозу у пацієнтів із вадами серця для виявлення ризику розвитку гіпоксіє-ішемічної енцефалопатії (Faa et al., 2012).

За даними літератури, вплив доксорубіцину у дозі 2 мкМ/л на кардіоміцити підвищує експресію S-100b, що було показано на культурах кардіоміоцитів, зростання якого автори пов'язують із підвищенням апоптозу цих клітин (Yao-hui et al., 2013). У нашому дослідженні хоча і спостерігається розвиток кардіоміопатії за дії доксорубіцину у дозі 1 мг/кг, однак не порушується гомеостаз нейроспецифічних білків у плазмі крові, про що свідчать слідові кількості S-100b, ГФКБ у плазмі крові. Аналіз концентрації S-100b у плазмі крові щурів та відповідних фракціях розчинних білків серцевого м'яза показав, що рівень даного білка (0,01 ± 0,001 мкг/мл у плазмі та 0,11 ± 0,008 мкг/100 мг тканини – у серці) був на порядок–два нижчим за концентрацію S-100b у мозку. Це – основа для ствердження, що цілісність ГЕБ у цілому не була порушена за місячної дії доксорубіцину. І все ж безпосередньо у серці спостерігали зменшення вмісту S-100b (на 83%, P < 0,05, рис. 4) та підвищення філаментного ГФКБ (на 206%, P < 0,05) за дії доксорубіцину (рис. 5).

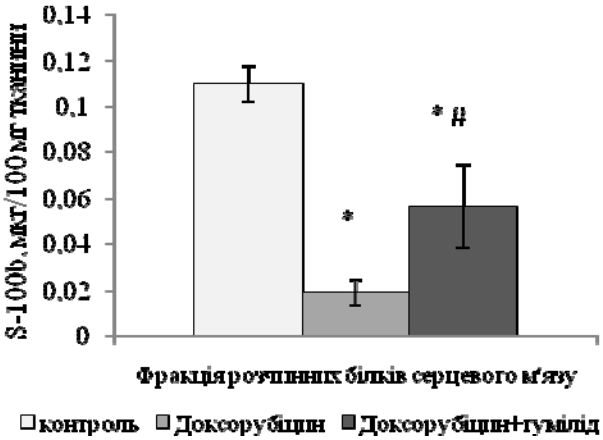


Рис. 4. Концентрація рівня S-100b у фракції розчинних білків серцевого м'яза в контрольних умовах, за впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та гуміліду:
n = 8, * – P < 0,05 відносно контрольної групи, # – P < 0,05 відносно групи, яка отримувала тільки доксорубіцин

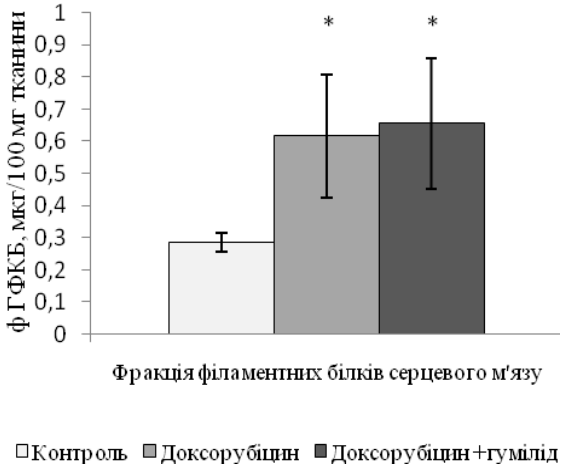


Рис. 5. Концентрація рівня ГФКБ у фракції філаментних білків серцевого м'яза у контрольних умовах, за впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та гуміліду:
n = 8, * – P < 0,05 відносно контрольної групи

Спираючись на властивості визначених білків, відмічені рівні S-100b та філаментного ГФКБ у серці, можна припустити активну участь S-100b у регуляції полімеризації ГФКБ, тобто формування її філаментної форми (Ziegler et al., 1998).

Застосування доксорубіцину та гуміліду дещо наблизило рівень S-100b до значень контрольної групи, однак не в повному обсязі. Проте за дії доксорубіцину та гуміліду визначено запобігання підвищенню рівня ГФКБ, який залишався на рівні значень групи, що отримувала тільки доксорубіцин.

Порушення роботи серця спричинює розвиток гіпоксії в мозку, за якої відбувається втрата АТФ, порушення аеробного метаболізму глюкози, розлад роботи плазматичних мембран нейронів, активація фосфоліпази, що викликає ліполіз, вивільнення арахідонової кислоти, глутамату та інших токсичних нейротрансмітерів, що збільшують внутрішньоклітинний кальцій та спричинюють порушення роботи нервових клітин мозку (Skrebickiy et al., 2012). Захисна реакція астроглії в мозку стимулюється опосередковано, скоріше за все за рахунок продукування окисних продуктів метаболізму доксорубіцину та прозапальних цитокінів під час розвитку кардіопатії, індукованої цим цитостатиком, і потраплянням їх перш за все в астроцити, що формують ГЕБ. Гіпокамп – структура мозку, яка, за літературними даними, найбільше піддається ушкодженню за дефіциту надходження кисню. Раніше підтверджено розвиток астрогліозу у CA1 області гіпокампа за умов ішемії (Kovalenko et al., 2011; Rajkowska et al., 2013). Відповідно ми запропонували гіпотезу, що підвищення філаментної форми ГФКБ у гіпокампі за дії доксорубіцину може відбуватися через розвиток ішемічного стану за рахунок доксорубіцин-індукованої кардіопатії. Застосування гуміліду на фоні дії доксорубіцину запобігає розвитку виражених токсичних наслідків від цього антибіотика та суттєвих змін дослідних астрогліальних білків у фракції розчинних білків серцевого м'яза та головному мозку щурів.

Висновки

Розвиток доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії у щурів супроводжується змінами розподілу астроцитспецифічних білків у ЦНС та ПНС. За впливу доксорубіцину підвищується вміст фібрилярного ГФКБ у гіпокампі щурів, що може відбуватись внаслідок проліферації астроцитів або їх пластичності. Спільне застосування доксорубіцину разом із гумілідом частково сприяє запобіганню інтоксикаційним наслідкам у мозку та серці щурів.

Бібліографічні посилання

Babets, Y.V., Ushakova, G.A., 2013. Toksychni efekty ta biohimichnyj kontrol' nasoidkiv antracyklinovoi' terapii' [Toxic effects and biochemical control of consequence anthracycline therapy]. Archives of Clinical and Experimental Medicine 22(1), 242–248 (in Ukrainian).

Babets, Y.V., Ushakova, G.A., Shevtsova, A.I., 2015. Rozpodil astrocytspecyfichnyh bilkiv pry dii' doksorubicynu na shhuriv [Distribution of asrtocyte and specific proteins under doxorubicin ffect on rats]. Medical and Clinical Chemistry 17(1), 36–41 (in Ukrainian).

Colangelo, A.M., Alberghina, L., Papa, M., 2014. Astrogliosis as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. Neurosci. Lett. 565, 59–64.

Distefano, G., 2009. Molecular pathogenetic mechanisms and new therapeutic perspectives in anthracycline-induced cardiomyopathy. Ital. J. Pediatr. 35(1), 1–8.

Faa, A., Senes, G., Locci, A., Pampaloni, P., Pais, M.E., Piras, B., d'Aloja, E., Faa, G., 2012. S100B protein expression in the heart of deceased individuals by overdose: A new forensic marker? Clinics 67(7), 821–826.

Frias, C.P., Wierenga, C.J., 2013 Activity-dependent adaptations in inhibitory axons. Front. Cell Neurosci. 7, 1–16.

Gabel, S., Koncina, E., Dorban, G., Heurtaux, T., Birck, C., Glaab, E., Michelucci, A., Heuschling, P., Grandbarbe, L., 2016. Inflammation promotes a conversion of astrocytes into neural progenitor cells via NF-κB activation. Mol. Neurobiol. 53(8), 5041–5055.

Gordienko, Y.A., Baklanova, Y.V., Kovalenko, M.V., Stepchenko, L.M., Shevtsova, A.I., Ushakova, G.A., 2012. Zminy fiziologichnyh ta biohimichnyh pokaznykiv u shhuriv z doksorubicyn-indukovanoju kardiomiopatijeju na tli zastosuvannja preparativ z antyoksydantnoju dijeju [Changes of phisiological and biochemical parameters in rats with doxorubicin-induced cardiopathy under influence of substances with antioxidant action]. Anim. Biol. 14, 74–79 (in Ukrainian).

Gupta, R, Mala, T.A., Mathur, P., 2014. Stage 4S bilateral adrenal neuroblastoma in a newborn. APSP J. Case Rep. 5(1), 9–11.

Han, Y., Pan, H., Mao, J., Zhou, Y., Zhang, Y., Wang, H., Bao, Y., Zhao, L., Liu, L., Zhang, G., 2013. Expression and role of S100B on the injury of cardiomyocytes induced by doxorubicin. Journal of Jiangsu University 23(3), 216–220.

Inoue, S., Setoyama, Y., Odaka, A., 2014. Doxorubicin treatment induces tumor cell death followed by immunomodulation in a murineneuroblastomamodel. Exp. Ther. Med. 7(3), 703–708.

Kovalenko, T.N., Ushakova, G.A., Osadchenko, I., Skibo, G.G., Pierzynowski, S.G., 2011. The neuroprotective effect of 2-oxoglutarate in the experimental ischemia of hippocampus. J. Physiol. Pharmacol. 62(2), 239–246.

Li, H., Guo, Y., Teng, J., Ding, M., Yu, A.C., Chen, J., 2006. 14-3-3gamma affects dynamics and integrity of glial filaments by binding to phosphorylated GFAP. J. Cell Sci. 119, 4452–4461.

Mao, X., Schwend, T., Conrad, G.W., 2012. Expression and localization of neural cell adhesion molecule and polysialic acid during chick corneal development. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 53(3), 1234–1243.

Paronik, V., Stepchenko, L., Diachenko, L., Lievykh, A., Shevtsova, A., 2015. Vplyv korvitynu ta gumilidu na stan oksydantno-antyoksydantnoi' systemy shhuriv na foni vvedennja adrenalinu [Influence of corvitin and humilid on the oxidant-antioxidant system in rats after injectoin of adrenalin]. Anim. Biol. 17(4), 109–114 (in Ukrainian).

Rajkowska, G., Stockmeiera., C.A., 2013. Astrocyte pathology in major depressive disorder: insights from human postmortem brain tissue. Curr. Drug Targets 14(11), 1225–1236.

Skrebickiy, V.G., Shtark, M.B., 2012. Fundamental'nyye osnovyy plastychnosty nervnoj tkany [The fundaments of neuronal plasticity]. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences 9, 39–44 (in Russian).

Sorci, G., Bianchi, R., Riuzzi, F., Tubaro, C., Arcuri, C., Giambanco, I., Donato, R., 2010. S100B Protein, a damage-associated molecular pattern protein in the brain and heart, and beyond cardiovasc psychiatry. Neurology 2010, Pii 656481.

Sorci, G., Riuzzi, F., Arcuri, C., 2013. S100B protein in tissue development, repair and regeneration. World J. Biol. Chem. 4(1), 1–12.

Tsoporis, J.N. Mohammadzadeh, F., Parker, T.G., 2010. Intracellular and extracellular effects of S100B in the cardiovascular response to disease. Cardiovasc. Psychiatry Neurol. 10, 6073–6079.

Wohlfart, S., Khalansky, A.S., Gelperina, S., Maksimenko, O., Bernreuther, C., Glatzel, M., Kreuter, J., 2011. Efficient chemotherapy of rat glioblastoma using doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles with different stabilizers. PLoS One 6(5), e19121.

Yang, Z., Wang, K.W., 2015. Glial fibrillary acidic protein: From intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. Trends Neurosci. 38(6), 364–374.

Yardan, T., Erenler, A.K., Baydin, A., Aydin, K., Cokluk, C., 2011. Usefulness of S100B protein in neurological disorders. J. Pak. Med. Assoc. 61(3), 276–281.

Ziegler, D.R., Innocente, C.E., Leal, R.B., Rodnight, R., Gonçalves, C.A., 1998. The S100B protein inhibits phosphorylation of GFAP and vimentin in a cytoskeletal fraction from immature rat hippocampus. Neurochem. Res. 23(10), 1259–1263.

Надійшла до редколегії 29.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 398–404.

doi:10.15421/011653

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 595.121:[599.6.73](477.52)

Фізіологічний стан розвитку личинок і зараженість домашніх копитних *Echinococcus granulosus* (Cyclophyllidea, Taeniidae) у Північно-Східній Україні

О.М. Ємець, В.М. Деменко, В.В. Кабанець

Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна

Echinococcus granulosus (Batsch, 1786) – один із найпоширеніших видів цестод канід, диких і свійських копитних. Поширення ехінокока та залучення у його циркуляцію проміжних хазяїв має значну неодноманітність в агро- та біоценозах світу та України зокрема, що, як правило, зумовлено штамовою належністю ехінокока. Наведено результати 10-річних досліджень поширення *E. granulosus* у домашніх копитних Північно-Східної України (Сумська та Чернігівська обл.). На матеріалі, отриманому від 1 884 свиней, 1 025 овець, 1 406 голів великої рогатої худоби вивчено екстенсивність та інтенсивність інвазії, локалізацію личинок, фізіологічний стан розвитку ларвоцист залежно від віку проміжного хазяїна. Встановлено загальну ураженість свиней личинками ехінококів на рівні 10,2 ± 0,6%, овець – 0,7 ± 0,2%. Ларвоцисти гельмінта у великої рогатої худоби не виявлено. У заражених тварин переважав низький рівень інтенсивності інвазії (менше 6 личинок). Цисти локалізувалися переважно у печінці. Відмічено зростання кількості фертильних цист у свиней, віком понад 10 місяців. Аналіз особливостей поширення та стану розвитку ехінокока в домашніх копитних у Поліській та Лісостеповій природно-кліматичних зонах суттєвих відмінностей не виявив, продемонстрував їх відповідність загальній картині ураження тварин. Результати досліджень дали можливість визначити групу свійських копитних, які забезпечують активно функціонуючий цикл *E.granulosus* у північно-східній частині України.

Ключові слова: екстенсивність інвазії; інтенсивність інвазії; личинки; фізіологічний стан розвитку; Північно-Східна Україна

The physiological state of the larvae and infestation of domestic ungulates by *Echinococcus granulosus* (Cyclophyllidea, Taeniidae) in North-Eastern Ukraine

A.M. Yemets, V.M. Demenko, V.V. Kabanyets

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Echinococcus granulosus (Batsch, 1786) has a worldwide distribution. Different types of carnivores (dogs, jackals, wolves, foxes), domestic and wild ungulates are included in its life cycle. There are significant differences in its pattern of contamination of domestic ungulates in the various regions of Ukraine. Pigs are major intermediate hosts of *E. granulosus* in the northern and western regions of the country, sheep and cattle in the southern and eastern regions. These differences are associated with strains of *Echinococcus*. The article presents the results of research conducted on 1,884 pigs, 1,025 sheep and 1,406 cattle in Polesia and the forest-steppe zone of the north-east of Ukraine. We have established the development of *Echinococcus* larvae in pigs (extent of invasion 10.2 ± 0.6%) and sheep (extent of invasion 0.7 ± 0.2%). The cysts did not develop in cattle. Pigs generally had a low invasion intensity (less than 6 larvae). A high level of invasion intensity (more than 10 larvae) was infrequently recorded in these animals. All sheep had a low level of invasion intensity.The *E. granulosus* larvae found in sheep were dead. In pigs, most cysts developed to fertile state (139 cases). Young, sterile and dead larvae were less common (39, 10, 4 cases). Pigs older than 10 months had the highest number of fertile cysts. Young larvae dominated in pigs younger than 10 months. In these animals, larvae were localized predominantly in the liver. The kidneys and lungs were infected less frequently. The large number of fertile cysts in pigs older than 10 months made this group of animals the main intermediate hosts of *E. granulosus* in the north-eastern part of

Сумський національний аграрний університет, вул. Г. Кондратьєва, 160, Суми, 40021, Україна
Sumy National Agrarian University, G. Kondratyiva Str., 160, Sumy, 40021, Ukraine
Tel.: +38-095-499-57-98. E-mail: Yemets_A@ukr.net

Ukraine. They enable the parasite to function actively here. Analysis of infestation by *E. granulosus* larvae of domestic ungulates of the Polesia and the forest-steppe zone showed no significant differences. Identified differences were not statistically confirmed.

Keywords: invasion intensity; invasion extensity; larvae; physiological state of development; North-East Ukraine

Вступ

Серед значного різноманіття способів співіснування тварин у біоценозах особливий інтерес викликають паразитичні відносини, оскільки більшість тварин і сама людина часто залучені у кругообіг великої кількості паразитичних організмів. Один із них – стьожковий гельмінт *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786). Вивчення цієї цестоди має надзвичайне теоретичне та практичне значення. Достатньо зауважити, що як дефінітивний хазяїн *E. granulosus* використовує понад 10 видів диких хижих тварин (дика собака дінго, шакал, вовк, лисиця, степовий вовк, койот тощо) (Sadykov, 1978) і понад 60 видів травоїдних і всеїдних (кабани, гіпопотами, яки, дикі буйволи, козероги, муфлони, архари, шляхетні олені, лосі, косулі, жирафи, кенгуру тощо) (Geller, 1989).

E. granulosus – один із найпоширеніших у світі видів цестод свійських собак і копитних (Bessonov, 1999). Аналіз літературних джерел показує, що *E. granulosus* поширений на всіх континентах планети із залученням у його циркуляцію різних домашніх тварин (Varcasia et al., 2006; Eryıldız and Şakru, 2012). Еволюція цього паразита нерозривно пов'язана з розвитком людського суспільства. Процесу «синантропізації» ехінокока сприяв інтенсивний розвиток тваринництва. Нині циркуляція ехінококів базується на взаємодії популяції паразита з «перевантаженою», «скупченою» популяцією проміжного хазяїна – стадом тварин у тваринницьких господарствах в умовах більш або менш обмеженої території. Наслідком цього стала адаптація ехінокока до паразитування у певному проміжному хазяїні із формуванням відповідних ізолятів гельмінта.

Вивчення *E. granulosus* від різних хазяїв із багатьох географічних зон виявило чимало внутрішньовидових варіантів. Такі глибоко адаптовані до певного проміжного хазяїна внутрішньовидові варіації ехінокока прийнято називати штамами. Низка цестодологів (Thompson and Smyth, 1975; Gemmell, 1978; Smyth, 1979; Thompson, 1979; Thompson and Kumaratilaka, 1982) свого часу намагалися дійти спільної думки щодо таксономічного статусу таких ізолятів, однак робота над цим питанням триває донині. Сучасними молекулярно-генетичним методами виявлено суттєві відмінності структури ДНК внутрішньовидових варіацій ехінококу (Kamenetzky et al., 2002; Erdem et al., 2008; Saarma et al., 2009; Rue et al., 2011; Hanifian et al., 2013; Piccoli et al., 2013; Sharma et al., 2013; Hizem et al., 2016), на основі чого запропоновано розглядати як достовірне існування щонайменше 10 штамів *E. granulosus*, проте питання надання їм статусу окремих видів або, принаймні, підвидів залишається відкритим.

В Україні *E. granulosus* серед домашніх тварин має повсюдне поширення. Цестоду виявляють у всіх видів свійських копитних. За повідомленнями Lytvynenko (2015a), в нашій країні з 2004 по 2013 рік *E. granulosus* виявлено у 1 550 814 сільськогосподарських тварин (свиней, овець, великої рогатої худоби). Екстенсивність їх зараження ехінококами суттєво різниться за областями та роками (рис. 1).

Рис. 1. Зараженість (%) тварин *E. granulosus* на території України у 2004–2013 роках (за Lytvynenko, 2015a)

Водночас відмічається суттєва неоднорідність у домінуванні того або іншого виду домашніх тварин як проміжного хазяїна в регіонах країни. У Кіровоградській, Тернопільській, Чернівецькій, Київській, Хмельницькій, Сумській та Херсонській областях основні проміжні хазяї – свині (Lytvynenko, 2015b). Поряд із ними в Одеській, Кіровоградській, Чернівецькій областях значна роль у циркуляції ехінококів належить великій рогатій худобі, а у південних та східних регіонах до цього процесу приєднуються вівці (Lytvynenko, 2012). Така вибірковість

ехінококів до зараження проміжного хазяїна може бути пов'язана з його штамовою належністю, яка, у свою чергу, зумовлює порушення фізіологічних процесів в організмі личинки ехінокока, за умови її розвитку у невідповідного до її штаму проміжному хазяїні. Це викликає припинення розвитку чи загибель самої личинки, відтак роль тих або інших домашніх тварин у циркуляції ехінококів далеко не однозначна.

Активно функціонуючим цикл ехінокока може бути лише за наявності у проміжних хазяїв значної кількості фертильних цист. Враховуючи певну строкатість у зараженні ехінококами домашніх копитних та території Північно-Східної України (Сумська, Чернігівська області), ми провели опис фізіологічного стану ларвоцист ехінококів в основних видів свійських копитних. Результати таких досліджень дали можливість встановити групу домашніх тварин, які забезпечують активно функціонуючий цикл *E. granulosus* у північно-східній частині України.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження зараженості копитних личинками ехінококів проведено на територіях Сумської та Чернігівської областей. Матеріал для досліджень протягом останніх 10 років відбирали переважно в Сумській області на Шостківському, Глухівському, Конотопському, Сумському та Лебединському м'ясокомбінатах. На Шосткінський та Глухівський м'ясокомбінати тварини надходили переважно з поліських районів – Середино-Будського, Ямпільського, Шостківського Сумської області та Новгород-Сіверського, Коропського Чернігівської області. На три інші – з лісостепових районів – Срібнянського, Талалаївського Чернігівської області та Кролевецького, Путивльського, Конотопського та інших Сумської області. Зафіксовані зразки уражених ехінококами органів поступово опрацьовували. Під час досліджень усього оглянуто 1 884 свині, 1 025 овець, 1 406 голів великої рогатої худоби.

Дослідження внутрішніх органів проводили таким чином: селезінку оглядали ззовні та на розрізі, легені та нирки вивчали ззовні, пальпували паренхіму та у разі виявлення патологічних змін, розрізали. Печінку оглядали та пальпували з діафрагмального та вісцерального боків, на вісцеральному боці уздовж жовчних проток робили 2–3 ненаскрізні розрізи. На серці проводили два ненаскрізні розрізи уздовж і один упоперек. Ларвоцисти ехінококів з уражених органів колекціонували для подальшого опрацювання.

За даними обстежень визначали екстенсивність та інтенсивність інвазії. За наявності у тварин від однієї до п'яти ларвоцист інтенсивність інвазії оцінювали як низьку, від шести до десяти – середню, від одинадцяти і більше – високу.

Реєстрували також локалізацію, ступінь розвитку та стан личинок паразитів. Розрізняли чотири категорії ларвоцист: молоді, фертильні (плодоносні), стерильні (ацефалоцисти) та загиблі. Фертильність цист визначали таким чином: із ларвоцист видаляли невеликі фрагменти гермінативної оболонки, які злегка компресували між двома предметними скельцями та вивчали під мікроскопом. За наявності протосколексів цисту вважали фертильною, за відсутності – стерильною. Стерильні ларвоцисти, розміром менше 15 мм, вважали молодими.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за загальноприйнятими методами (Lakin, 1990). Порівняння даних і встановлення достовірності різниці між ними проводили за формулою:

$$t_D = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m^2_{M_1} + m^2_{M_2}}},$$

де t_D – критерій достовірості, M_1 – середнє арифметичне першого варіаційного ряду, M_2 – середнє арифметичне другого варіаційного ряду; m^2_{M1} – квадрат похибки першого варіаційного ряду, m^2_{M2} – квадрат похибки другого варіаційного ряду. У випадку, якщо $t_D > 2$, різницю між середніми арифметичними вважали достовірною (Merkur'eva, 1964).

Результати та їх обговорення

За результатами досліджень *E. granulosus* виявлено у 192 свиней. Інтенсивність зараження більшості свиней низька (менше 6 личинок) – 148 випадків. Поряд із цим у 37 свиней зареєстровано середній рівень інтенсивності інвазії (6–10 личинок) і лише у 7 – високу інтенсивність інвазії (понад 10 личинок) (табл. 1).

Таблиця 1

Екстенсивність та інтенсивність зараження домашніх копитних *E. granulosus*

Вид тварин	Екстенсивність інвазії, %	Інтенсивність інвазії, %		
		висока	середня	низька
Свині	10,2 ± 0,6	3,6 ± 1,3	19,2 ± 2,8	77,1 ± 3,0
Вівці	0,7 ± 0,2	–	–	100,0
Велика рогата худоба	0	–	–	–

Переважання низької інтенсивності інвазії дає підстави припускати, що у більшості випадків зараження проміжних хазяїв відбувалося не за безпосереднього контакту із собаками або їх фекаліями, а в результаті випадкового проковтування ними окремих яєць, занесених у приміщення для утримання копитних.

В овець ехінококи траплялись значно рідше. Екстенсивність зараження їх дорівнює 0,7 ± 0,2% (7 тварин із 1 025 досліджених). Інтенсивність інвазії в усіх випадках низька. Усі досліджені вівці за віком старші одного року. Виявлені в овець личинки ехінококів були загиблими. У великої рогатої худоби цист ехінококів не знайдено (досліджено 1 406 голів).

В органах від свиней виявлено молоді, фертильні, стерильні та загиблі личинки ехінококів (рис. 2).

У свиней найчастіше траплялися фертильні цисти – 139 випадків із 192, молоді цисти виявлено у 39 випадках, стерильні – у 10, загиблі – у 4 випадках. Із віком екстенсивність зараження свиней ехінококами збільшується. Молоді тварини, віком до 10 місяців, заражені лише на 5,8 ± 1,1% (27 випадків із 467 досліджених тварин цієї вікової групи), для свиней, старших за 10 місяців, цей показник збільшується до 11,6 ± 0,8% (165 випадків із 1 417 досліджених) Різниця достовірна (t_D = 4,4). Із віком у свиней суттєво змінюється частка зрілих личинок ехінококів (рис. 3).

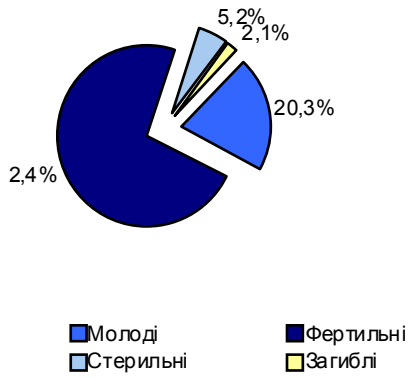


Рис. 2. Співвідношення личинок ехінококів різного ступеня розвитку у свиней різного віку (n = 192)

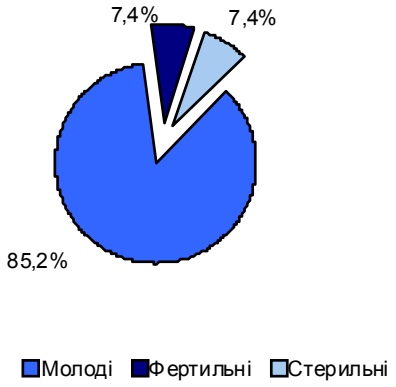


Рис. 3. Співвідношення личинок ехінококів різного ступеня розвитку у свиней віком до 10 місяців (n = 27)

У тварин віком молодших 10 місяців переважають молоді личинки (23 випадки із 27), кількість фертильних і стерильних незначна (по 2 випадки). У свиней старших 10 місяців (рис. 4), кількість особин, заражених молодими личинками ехінококів, невелика (16 випадків із 165), фертильні личинки виявлено у 137 тварин. У цій віковій категорії свиней траплялися також стерильні цисти (8) та загиблі паразити (4 випадки). Таким чином, молоді свині рідко є носіями фертильних цист *E. granulosus*, інвазійних для дефінітивного хазяїна – собак.

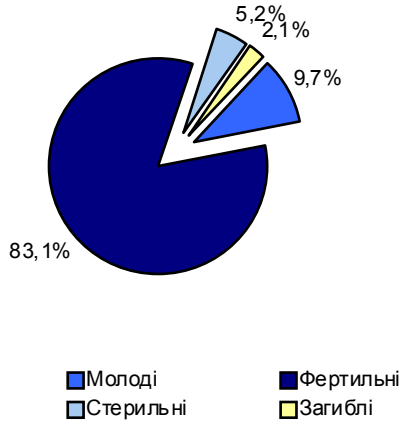


Рис. 4. Співвідношення личинок ехінококів різного ступеня розвитку у свиней, старших 10 місяців (n = 165)

У досліджених тварин личинки ехінококів найчастіше зосереджені у печінці (табл. 2).

Таблиця 2

Локалізація личинок *E. granulosus* в організмі домашніх тварин (відносна частка)

Вид тварин	Заражено особин	Локалізація личинок, %		
		печінка	легені	нирки
Свині	192	98,4 ± 0,9	0	1,6 ± 0,9
Вівці	7	85,7 ± 13,2	14,3 ± 13,2	0

Така локалізація цист характерна як для свиней, так і для овець (189 та 6 випадків відповідно). Лише зрідка личинок виявляли у нирках або легенях (3 та 1 випадок відповідно). Паразитування *E. granulosus* переважно у печінці вказує на певну вибірковість паразита до локалізації і, швидше за все, це пов'язано саме з його штамовою належністю.

Порівняльний аналіз зараженості домашніх копитних із поліських та лісостепових районів суттєвих відмінностей не виявив (табл. 3). Із поліських районів досліджено 781 свиню, із лісостепових – 1 103, личинки ехінококів виявлено відповідно у 90 та 102 тварин. Хоч кількість інвазованих ехінококами свиней у лісостепових районах виявилась більшою, все ж екстенсивність інвазії їх дещо менша порівняно із зараженістю цих самих тварин у поліській зоні, однак статистично така різниця не підтверджується (t_D = 1,7).

Таблиця 3

Зараженість *E. granulosus* домашніх копитних із різних природно-кліматичних зон регіону

Зона	Свині					Вівці				
	n	екстенсивність інвазії, %	інтенсивність інвазії, екз.			n	екстенсивність інвазії, %	інтенсивність інвазії, екз.		
			1–5	6–10	>10			1–5	6–10	>10
Полісся	781	11,5 ± 1,1	75,6 ± 4,8	21,1 ± 4,3	3,3 ± 1,8	450	0,7 ± 0,3	100	0	0
Лісостеп	1 103	9,2 ± 0,8	78,5 ± 4,1	17,6 ± 3,7	3,9 ± 1,3	575	0,7 ± 0,3	100	0	0

Вівці з обох природно-кліматичних зон заражені ехінококами значно рідше, ніж свині (для обох зон різниця достовірна t_D = 9,8 та t_D = 11,3). Рівень екстенсивності інвазії овець в обох зонах однаковий – 0,7 ± 0,3%. У великої рогатої худоби в обох природно-кліматичних зонах личинок E. granulosus не знайдено (із поліських районів досліджено 574 тварини, з лісостепових – 832).

Свині з обох природно-кліматичних зон найчастіше мали низьку інтенсивність інвазії (до 6 личинок). У поліських районах її зареєстровано у 68 із 90 заражених ехінококами тварин. Середній рівень зараження (6–10 личинок) зареєстровано у 19 випадках, високий (понад 10 личинок) – у трьох. У тварин із лісостепових районів низьку інтенсивність інвазії виявляли дещо частіше (80 ви-

падків із 102), а середню та високу – майже з такою самою частотою, як і у тварин із районів Полісся (18 та 4 випадки відповідно). Всі показники інтенсивності інвазії для тварин із поліської та лісостепової зон достовірної різниці не мають ($t_D = 0,4$, $t_D = 0,6$, $t_D = 0,3$ відповідно).

Аналіз стану розвитку личинок, виявлених у тварин з обох зон, суттєвої різниці не виявив. У свиней переважали фертильні личинки – 71,1 ± 4,7% для поліської зони та 73,5 ± 4,3% для лісостепової ($t_D = 0,3$) (відповідно по 64 та 75 випадків із 90 та 102 обстежених тварин). Молоді та загиблі личинки траплялись майже однаково часто: молоді – 20,0 ± 4,2% (18 випадків) для поліських та 20,6 ± 4,0% (21 випадок) для лісостепових районів ($t_D = 0,1$); загиблі – відповідно 2,2 ± 1,5% (2 випадки) та 2,0 ± 1,3% (2 випадки) ($t_D = 0,1$); стерильні – 6,7 ± 2,6% (6 випадків) та 3,9 ± 1,9% (4 випадки) ($t_D = 0,8$). В овець обох зон знаходили лише загиблих личинок.

У тварин обох зон переважна більшість фертильних цист виявлена у свиней віком понад 10 місяців (рис. 5).

У тварин поліської зони фертильні личинки знайдено у понад 2/3 свиней цієї вікової категорії (63 випадки з 79). Це дещо менше, ніж у свиней цієї вікової категорії в лісостеповій зоні (74 випадки із 86, $t_D = 0,5$). У тварин цього віку, поряд із фертильними, виявили молодих личинок (відповідно 9 і 7 випадків, $t_D = 0,2$), стерильних (5 та 3 випадки, $t_D = 0,4$) та загиблих личинок (по 2 випадки).

У свиней молодшого віку (до 10 місяців) в обох зонах виявляли переважно молоді цисти (рис. 6). У районах поліської зони – 9 із 11 випадків, у лісостепових дещо частіше – 14 із 16. Статистично така різниця не підтверджувалася ($t_D = 0,9$).

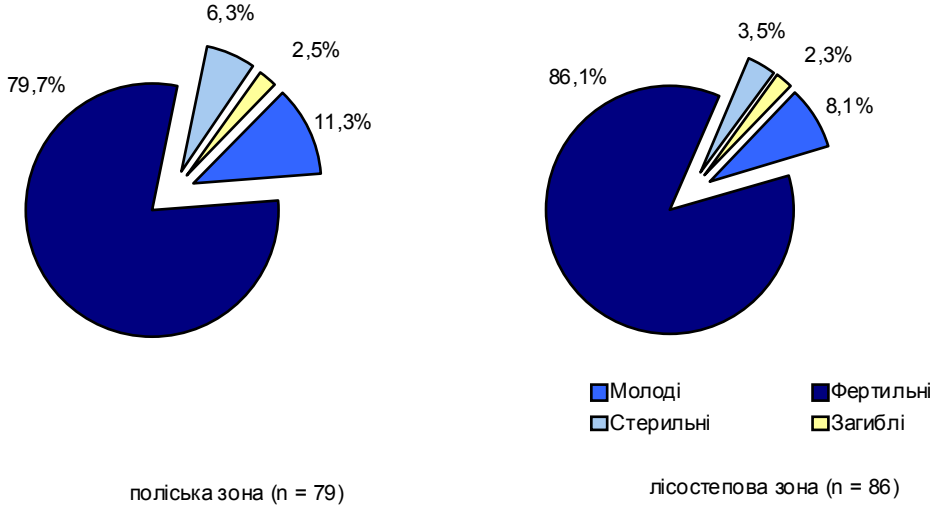


Рис. 5. Співвідношення зараженості свиней віком понад 10 місяців личинками ехінококів певного ступеня розвитку

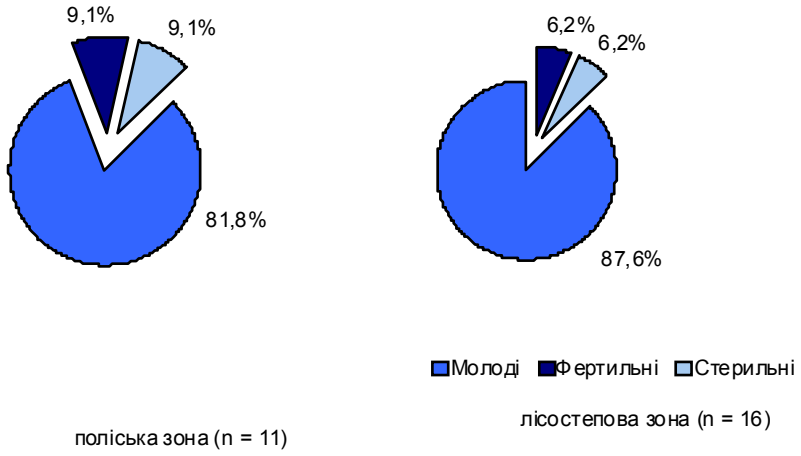


Рис. 6. Співвідношення зараженості свиней віком менше 10 місяців личинками ехінококів певного ступеня розвитку

Фертильні личинки траплялись значно рідше (по одному випадку). Так само рідко виявляли стерильні цисти. Личинки *E. granulosus* у тварин із районів обох природно-кліматичних зон в основному локалізувалися у печінці. У свиней із поліських районів ехінококи у печінці виявлено у 88 випадках, у тварин із лісостепової зони – у 101. У 3 випадках зареєстровано локалізацію личинок у нирках: у двох свиней із поліських районів, в

однієї – із лісостепових (табл. 4). В овець переважала локалізація цист ехінококів у печінці, лише зрідка їх виявляли в легенях. У тварин із поліської зони ехінококи у печінці локалізувалися в усіх випадках, а у тварин із лісостепових районів один раз їх виявили також у легенях. Нирки, на відміну від свиней, не уражались.

Проведені дослідження виявили певні закономірності у зараженні свійських копитних личинками ехінококів у північно-східній частині України. Системно заражені тут тільки свині, в окремих випадках фіксується зараження в овець і зовсім не заражена велика рогата худоба. Така вибірковість, скоріше за все, пов'язана зі штамовою належністю ехінокока (свинячий штам). Ця думка може бути підтверджена результатами вивчення стану розвитку ехінококів від свиней і овець. В останніх виявлено лише загиблі личинки, у той час як у свиней вони досягали нормального розвитку та фертильного стану. Тобто у природних умовах яйцями ехінококів інвазуються всі види домашніх копитних, однак подальший розвиток личинок відбувається лише у проміжному хазяїні, який є гомоксенним до циркулюючого штаму ехінокока. У нашому випадку це свині. В організмі овець личинки ехінококів починають свій розвиток, але швидко гинуть, не досягши фертильного стану. В організмі великої рогатої худоби, напевне, відбувається тільки вивільнення онкосфер без їх подальшого розвитку в органах-мішенях. Тобто у випадку з вівцями та великою рогатою худобою відбувається перехресне їх зараження свинячим штамом ехінокока. В експерименті із перехресного зараження тварин подібні результати отримано в Чехії (Wikerhanser, 1986) та Німеччині (Hahn, 1988). У Німеччині проведено зараження овець, свиней і кіз (гетероксенні хазяї) онкосферами від собак, заражених місцевим штамом ехінокока, поширеним серед великої рогатої худоби. Контролем була група великої рогатої худоби (гомоксенний хазяїн). Розвиток ларвоцист спостерігали тільки у контрольної групи тварин. В овець, свиней і кіз ларвоцисти або були відсутні, або загинули на ранніх стадіях розвитку.

Таблиця 4

Локалізація личинок ехінококів (%) у домашніх копитних поліських та лісостепових районів

Зона	Свині				Вівці			
	n	печінка	нирки	легені	n	печінка	нирки	легені
Полісся	90	97,8 ± 1,5	2,2 ± 1,5	0	3	100	0	0
Лісостеп	102	99,9 ± 0,3	0,1	0	4	75,0 ± 21,6	0	25,0 ± 21,6

Отже, повноцінний розвиток цист ехінококів відбувається тільки в організмі свиней, які є гомоксенним хазяїном до циркулюючого штаму ехінокока. Значна кількість фертильних цист, виявлених в організмі свиней, підтверджує значення цих тварин як єдиних серед домашніх копитних, які забезпечують активно функціонуючий цикл *E. granulosus* в умовах Північно-Східної України. Подібна ситуація описана у західних та північних областях України (Lytvynenko, 2015c; Jampol'skij, 2009).

На розвиток личинок ехінококів у проміжному хазяїні ніяким чином не впливає природно-кліматичний чинник. Порівняльний аналіз екстенсивності та інтенсивності інвазії домашніх копитних ехінококами у Поліській та Лісостеповій зонах не виявив достовірних відмінностей за цими показниками. В обох випадках активно функціонуючий цикл забезпечують свині віком понад 10 місяців, які мають найбільшу кількість фертильних ларвоцист.

Певні негативні зміни у розвитку тваринництва в Україні – зменшення поголів'я свиней, поширення на територію нашої країни карантинних захворювань, зокрема, африканської чуми, які потребують тотального винищення свиней у вогнищі інфекції, та деякі інші – неодмінно вплинуть на перебіг життєвого циклу *E. granulosus* у найближчому майбутньому. Це зумовлює необхідність подальшого вивчення цієї цестоди.

Висновки

У Північно-Східній Україні в життєвий цикл *E. granulosus* із домашніх копитних як проміжних хазяїв включені винятково свині. В організмі свиней личинки ехінококів закінчують свій розвиток і досягають фертильного стану. В організмі овець ларвоцисти можуть починати свій розвиток, але у подальшому гинуть. В організмі великої рогатої худоби личинки не розвиваються.

Найбільша кількість фертильних цист властива свиням віком понад 10 місяців. Саме ця вікова категорія тварин забезпечує активно функціонуючий життєвий цикл ехінокока. Вибірковість до проміжного хазяїна пов'язана зі штамовою належністю *E. granulosus*.

Бібліографічні посилання

Bessonov, A.S., 1999. Jehinokokkozy – biologija vozbuditelej, jepizootologija, profilaktika i bor'ba (po materialam XVIII Mezhdunarodnogo kongressa po gidatidologii. Lissabon, nojabr' 1997 g.) [Echinococcosis – biology of pathogens, epizootiology, prevention and control (based on the 18th International Congress on gidatidologii Lisbon, November 1997)]. Veterinarija 4, 78–81(in Russian).

Erdem, A., Simsek, S., Koroglub, E., Donald, P., 2008. Molecular genetics characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. Acta Trop. 107, 192–194.

Eryıldız, C., Şakru, N., 2012. Molecular characterization of human and animal isolates of *Echinococcus granulosus* in the Thrace Region, Turkey. Balkan Med. J. 29(3), 261–267.

Geller, I.J., 1989. Jehinokokkoz [Echinococcosis]. Medicine, Moscow (in Russian).

Gemmell, M.A., 1978. Perspective on options from hydatidosis and cysticercosis control. Vet. Med. Rew. 1, 3–40.

Hahn, E., Horchner, F., Sanft, S., 1988. Zur frag der stammspezifitat van *Echinococcus granulosus* (Rind) in Dentshland. Wienn. Tierazztl. Monatsschr. 2, 429–476.

Hanifian, H., Diba, K., Tappeh, K.H., Mohammadzadeh, H., Mahmoudlou, R., 2013. Identification of *Echinococcus granulosus* strains in isolated hydatid cyst specimens from animals by PCR-RFLP method in West Azerbaijan – Iran. Iran J. Parasitol. 8(3), 376–381.

Hizem, A., M'rad, S., Oudni-M'rad, M., Mestiri, S., Hammedi, F., Mezhoud, H., Zakhama, A., 2016. Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* using formalin-fixed paraffin-

embedded preparations from human isolates in unusual tissue sites. J. Helminthol. 90, 417–421.
Jampol'skij, B.V., 2009. Sanitarnaja ocenka kachestva tush i organov krupnogo rogatogo skota pri jehinokokkoze [Sanitary evaluation of the quality of carcasses and organs of cattle with echinococcosis]. Odessa (in Russian).
Kamenetzky, L., Gutierrez, A.M., Canova, S.G., Haag, K.L., Guarnera, E.A., 2002. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. Infect. Genet. Evol. 2, 129–136.
Lakin, G.F., 1990. Biometrija [Biometrics]. Vysshaja Shkola, Moscow (in Russian).
Lytvynenko, O.P., 2012. Poshyrennja ehinokokozu velykoi' rogatoi' hudoby na terytorii' Ukrai'ny [Distribution echinococcosis cattle in Ukraine]. Dosjagnennja Biologii' ta Medycyny 20, 72–77 (in Ukrainian).
Lytvynenko, O.P., 2015b. Dynamika poshyrennja ehinokokoznoi' invazii' sered svynej v Ukrai'ni [Dynamics of echinococcosis infestation of pigs in Ukraine]. Veterynarna Medycyna 101, 179–181(in Ukrainian).
Lytvynenko, O.P., 2015c. Preventyvni zahody z ehinokokozu tvaryn [Preventive measures echinococcosis animals]. Tvarynnyctvo Ukrai'ny 6, 23–26 (in Ukrainian).
Lytvynenko, O.P., Pavlikovs'ka T.M., 2015a. Ehinokokoz ljudej i tvaryn v Ukrai'ni [Echinococcosis in humans and animals in Ukraine]. Veterynarna Biotehnologija 26, 102–110 (in Ukrainian).
Merkur'eva, E.K., 1964. Biometrija v zhivotnovodstve [Biometrics in animal husbandry]. Kolos, Moscow (in Russian).
Piccoli, L., Bazzocchi, C., Brunetti, E., Mihailescu, P., Bandi, C., Mastalier, B., Cordos, I., Beuran, M., Popa, L.G., Meroni, V., Genco, F., 2013. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in south-eastern Romania: Evidence of G1–G3 and G6–G10 complexes in humans. Clin. Microbiol. Infect. 19(6), 578–582.
Rue, M., Takano, K., Brochado, J.F., Costa, C.V., Soares, A.G., Yamano, K., Yagi, K., Katoh, Y., Takahashi, K., 2011. Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E. ortleppi* in Southern Brazil. Vet. Parasitol. 177, 97–103.
Saarma, U., Jõgisalu, I., Moks, E., Varcasia, A., Lavikainen, A., Oksanen, A., Simsek, S., Andresiuk, V., Denegri, G., González, L.M., Ferrer, E., Gárate, T., Rinaldi, L., Maravilla, P., 2009. A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. Parasitology 136(3), 317–328.
Sadykov, V.M., 1978. Jehinokokkoz i bor'ba s nim [Echinococcosis and fight with him]. Medicine, Moscow (in Russian).
Sharma, M., Sehgal, R., Fomda, B., Malhotra, A., Malla, N., 2013. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* cysts in North Indian patients: Identification of G1, G3, G5 and G6 genotypes. Neglested Tropical Diseases
Smyth, J.D., 1979. An *in vitro* approach to taxonomic problems in trematodes and cestodes, especially *Echinococcus granulosus.* Symp. Brit. Soc. Parasitol. 17, 75–101.
Thompson, R.C.A., 1979. Biology and speciation of *Echinococcus granulosus*. Austral. Vet. J. 55, 93–98.
Thompson, R.C.A., Kumaratilaka, L.M., 1982. Intraspecific variation in *Echinococcus granulosus* the Australian situation and perspectives for the future. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. 1, 13–16.
Thompson, R.C.A., Smyth, J.D., 1975. Equince hydatidosis (echinococcosis) in Great Britain. Prec. Soc. European Multicoloqui of Parasitol. Trogir. Yugoslavia 301–309.
Varcasia, A., Canu, S., Lightowlers, M.W., Scala, A., Garippa, G., 2006. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. Parasitol. Res. 98, 273–277.
Wikerhanser, T., Brgler, J., 1986. Eksperementalno istrazivanje jtpornosti teladi i jagjadi na *Echinococcus granulosus* svinjisoy porijekla. Vet. Arh. 1, 7–11.

Надійшла до редколегії 30.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 405–409.

doi:10.15421/011654

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 578.81+578.85/.86

Адаптація бактеріофагів до нового хазяїна під час подолання міжвидового бар'єру

О.М. Андрійчук, Т.А. Компанець, С.М. Петренко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Проводили дослідження чотирьох ізолятів фагів дикого типу до *Pseudomonas syringae*, виділених із бульб картоплі. Зразки для аналізів відібрані в Київській та Чернігівській областях. Виділені фаги утворюють прозорі негативні колонії та мають різні розміри (2–12 нм). Електронограма показала, що фаги мають подібну будову, являють собою ізометричні частки з коротким хвостовим відростком. Група досліджуваних фагів належить до родини Podoviridae. Визначили ефективність посіву фагів за умов зміни бактерій-хазяїв із використанням двох штамів фітопатогенних бактерій *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 та *P. syringae* pv. *tabaci* 223. Із проб, які виявляли літичну активність на перших етапах до *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*, не вдалось виділити стабільні ізоляти фагів, оскільки вони втрачали активність після наступних пасажів на бактеріальній культурі. Щоб подолати захисні системи клітини, виділені фаги спочатку пасивували на *P. syringae* pv. *tabaci*, а потім на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*. Отримані титри порівнювали з числовими значеннями титрів фагів на власній бактерії-хазяїні. Встановили необоротність змін у фагів під час переходу до пасажів фагів на *Pseudomonas* штам 4013. Оцінено характер змін шляхом порівняння ефективності посіву фагів після циклу пасажів на штамах 4013 та 223. Досліджувані фаги після пасивування на штамі 223 адаптували до штаму 4013. Визначали ефективність посіву на *Pseudomonas* штам 223. Зміна ефективності посіву для всього ряду фагів свідчить про наявність захисного бар'єру в бактерій при переході з культури *Pseudomonas* штам 223 на культуру *Pseudomonas* штам 4013. Установили зміни у фагах за впливу бактерії хазяїна, про що свідчить різна ефективність посіву. Перевірка необоротності змін, набутих у процесі пасивування на штамі 4013, показала, що фаги 223/4 та 7591/2 швидко адаптувались до вихідного хазяїна, відновивши початковий титр. Для фага 7591/1 також спостерігається збільшення титру, проте до значень, нижчих за вихідні. Перевірка необоротності змін, набутих під час пасивування на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*, показала, що три фаги швидко адаптувались до вихідного хазяїна, відновивши початковий титр, на відміну від фага 7591/1. Одним із пояснень у даному випадку може бути послідовна подальша адаптація фагів до бактерії в процесі великого числа репродукційних циклів.

Ключові слова: літична активність; ефективність посіву; пасаж; титр; негативні колонії

Adaptation of bacteriophages to new hosts through overcoming the interspecific barrier

E.N. Andriychuk, T.A. Kompanets, S.M. Petrenko

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Four wild type phage isolates were tested on *P. syringae* isolated from potato tuber samples collected in the Kiev and Cherkasy regions of Ukraine. The isolated phages formed clear plaques and had a virion size of 2 to 12 nm. Electron microscopy showed that the phages were of similar size and structure and consisted of isometric particles with long tails characteristic of the Podoviridae family. The effectiveness of phage culturing on bacteria different from the original host was also studied on two phytopathogenic strains of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 and *P. syringae* pv. *tabaci* 223. However, no stable isolates could be extracted from *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* as the plages became inactive after a few passages on the bacterial culture. In order to overcome this, the phages were first cultured on *P. syringae* pv. *tabaci* before being transferred to *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*. The titers obtained were compared with phage titers from the original host bacteria. Thus, it was determined that the changes occuring in phages after their transfer to the *Pseudomonas* strain 4013 were irreversible. The changes were evaluated by comparing the effectiveness of phage culturing after a cycle of passages on strains 4013 and 223 where the phages were adapted to strain 4013 after being cultured on strain 223. Additionally, the effectiveness of phage culturing on strain 223 was

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна
Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64/13, Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine
Tel.: +38-067-504-55-49. E-mail: svetlana_mp@yahoo.com, aom502@ukr.net, tarkompanets@gmail.com

also determined. The change in the effectiveness of phage culturing for the entire phage range suggests the presence of a defensive system in bacteria when the phages were transferred from strain 223 to strain 4013. The irreversibility of the changes occuring in phages was also tested and it was determined that phages 223/4 and 7591/2 adapt to original hosts and swiftly restore their original titers. Phage 7591/1, however, showed titers that were lower than the ones obtained from the original host culture. The testing of the irreversibility of changes in phages after culturing on *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* was then tested and the results showed that three phage isolates adapted to their original hosts quickly, but not isolate 7591/1. A possible explanation in this case could be a gradual adaptation of the phages to bacteria through a large number of reproductive cycles.

Keywords: lytic activity; effectiveness; passages; titers; clear plaques

Вступ

Бактеріофаги поширені в усіх екосистемах, де присутні бактерії. Еволюційні процеси дозволяють розглядати фаги за впливу природного середовища, де важливий їх титр в екосистемі, щільність відповідних бактеріальних популяцій, а також фізіологічний стан і специфічні властивості мікроорганізмів. Взаємодії у системі популяцій фагів і бактерій в умовах природного середовища мають складний характер. Їх вивчення дає можливість досліджувати динаміку процесу взаємодії та розвитку популяції, її зв'язок із факторами навколишнього середовища, що розширить наші знання про властивості бактеріофагів та їх коеволюцію із мікроорганізмами-хазяями (Davison et al., 2003).

Відношення кількості вірусних частинок (фагів) до кількості бактерій у природі складає в середньому 10 : 1. Отримані дані дають підстави вважати, що бактеріофаги – найчисленніші організми на Землі з популяцією, що перевищує 10^{30} вірусних частинок (Wommack, 2000). Враховуючи таку чисельність, навіть малоймовірні події, спричинені фагами, такі як трансдукція, відбуваються досить часто. Причому сумарна чисельність зумовлена не лише величезною кількістю вірусних частинок, а й досить значним видовим різноманіттям (Ackermann, 1998).

Відмінність природних умов від лабораторних для бактеріофагів полягає ще й у тому, що у природному середовищі за високої концентрації бактерій (частинок на мілілітр) можуть домінувати бактерії, до яких даний фаг не специфічний. Для морської води прибережної смуги розрахована концентрація бактерій, за якої репродукція фага залишається можливою, проте фаги зберігають чисельність своїх популяцій за значно менших концентрацій бактерій-хазяїв (Chibani-Chennoufi et al., 2004).

Для лабораторних фагів установлена досить вузька видова специфічність, характерна для великої кількості природних штамів (Hennes et al., 1995). Через це багатьма вченими західного світу була відкинута думка про можливість промислового застосування бактеріофагів як засобу для контролю за чисельністю бактерій і боротьби з ними (Sulakvelidze et al., 2005).

Від початку вивчення бактеріофагів дослідники намагалися застосовувати їх для боротьби з бактеріальними захворюваннями. Проводячи експерименти з монобактеріальними культурами, встановили, що додавання фага до чутливої популяції бактеріальних клітин призводить до зниження щільності популяції на певний час, після чого вона поступово відновлюється за рахунок утворення та збільшення чисельності резистентних штамів, незважаючи на різке зменшення кількості чутливих бактерій. Подібний ефект спостерігається навіть у випадку, коли вірусам вдається подолати захисні механізми бактерій (Harcombe and Bull, 2005).

На відміну від лабораторних експериментів, у природі бактерії практично не існують у монокультурах, а отже, резистентні до фага бактерії стикаються з проблемою міжбактеріальної конкуренції. W.R. Harcombe та J.J. Bull підтвердили припущення, що міжвидова конкуренція між бактеріями суттєво зменшує їх можливість протистояти інфекції за рахунок утворення резистентних штамів (Harcombe and Bull, 2005).

Bohannan and Lenski (2000) вивчали взаємодії літичного фага з бактеріальною популяцією, вплив на ці взаємодії появи у популяції резистентних до фага бактерій, вплив зовнішніх умов на поширення резистентних бактерій, залежності між індивідуальними взаємодіями та динамікою розвитку всієї популяції. Під час взаємодії фагів із бактеріальними клітинами можливі дві головні стратегії поведінки: літична, коли фаг одразу після інфікування вбиває клітину, та лізогенна, за якої фаг на тривалий час може вбудовуватись у геном клітини, не спричиняючи її загибелі.

Мета цієї статті – визначити ефективність посіву фагів за умов зміни бактерій-хазяїв із використанням двох штамів фітопатогенних бактерій *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 та *P. syringae* pv. *tabaci* 223. Зміна ефективності посіву дозволяє припускати присутність впливу рестрикційно-модифікаційних систем бактерій на фаг.

Матеріал і методи досліджень

Аналізували культури фітопатогенних бактерій, отримані з колекції музею Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, відділ фітопатогенних бактерій (штами *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 223 та *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013). Фаги виділяли зі зразків картоплі та буряку із симптомами бактеріального захворювання агроценозів Київської та Чернігівської областей. Індикаторною для фагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 була бактеріальна культура *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 223.

Титри фагів визначали у бляшкоутворювальних одиницях на мілілітр (БУО/мл) методом двошарового агару за Граціа (Adams, 1961). Чисті лінії бактеріофагів отримували шляхом шестиразового пасивування з використанням методу виколювання окремих негативних колоній. Отримані ізоляти фагів використовували далі для напрацювання їх у препаративних концентраціях і об'ємах (Semhuk et al., 1988).

Морфологію віріонів вивчали методом трансмісійної електронної мікроскопії за допомогою електронного мікроскопа JEOL-1400 (Японія) за інструментального збільшення 40 000 та 60 000. Препарати контрастували 2% водним розчином уранілацетату (Budzanivska, 2009).

Вираховували ефективність посіву фага – відношення його титру за висівання на досліджувану бактеріальну культуру до титру за висівання на культуру, взяту за вихідну. Для підтвердження достовірності отриманих даних проводили титрування у трьох повторах.

Результати та їх обговорення

Досліджували фаги 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 дикого типу до бактерії *P. syringae* pv. *tabaci* 223, виділеної з коренеплодів цукрового буряку та бульб картоплі. Фітопатогенні бактерії обрані для дослідження за їх інфекційними властивостями (здатністю викликати хвороби на технічних культурах), що мають практичне значення для сільськогосподарської галузі. Фаги 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 після пасажів на бактеріях *P. syringae* pv. *tabaci* 223 та *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 утворювали прозорі негативні колонії. Як видно з рисунка 1, фаги після виділення в чисту лінію на обох культурах мали вигляд прозорих колоній без ореола. Колонії мали такий діаметр: для фага 223/4 на культурі *P. syringae* pv. *tabaci* 223 – 5–8 мм, для фага 7591/1 на культурі *P. syringae* pv. *tabaci* 223 – 6–8 мм, для фага 7591/2 на культурі *P. syringae* pv. *tabaci* 223 – 5–7 мм, для фага 7591/1 на культурі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 – 2–6 мм.

Аналіз електронограм показав (рис. 2), що фаги мають подібність за будовою віріонів та розміром. Вони являють собою частинки з ікосаедричною головкою та коротким хвостовим відростком, які належать до родини Podoviridae, C1 морфотипу, порядку Caudovirales.

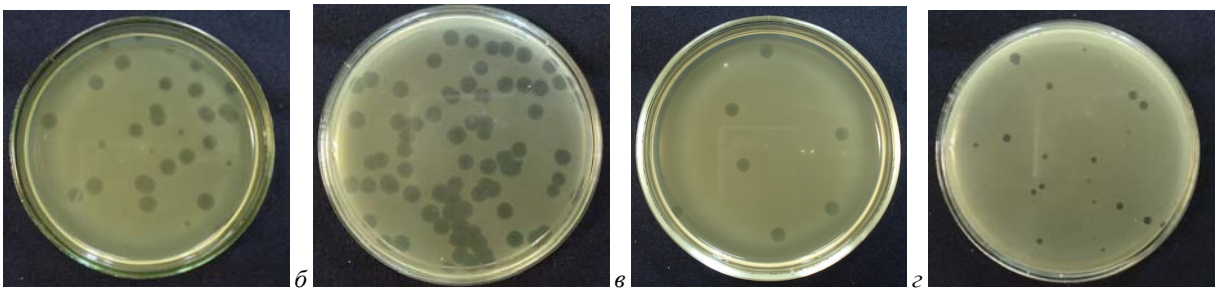


Рис. 1. Морфологія негативних колоній фагів дикого типу: *а* – 223/4 на культурі *P. syringae* pv. *tabaci* 223, *б* – 7591/1 на культурі *P. syringae* pv. tabaci 223, *в* – 7591/2 на культурі *P. syringae* pv. *tabaci* 223, *г* – 7591/1 на культурі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013

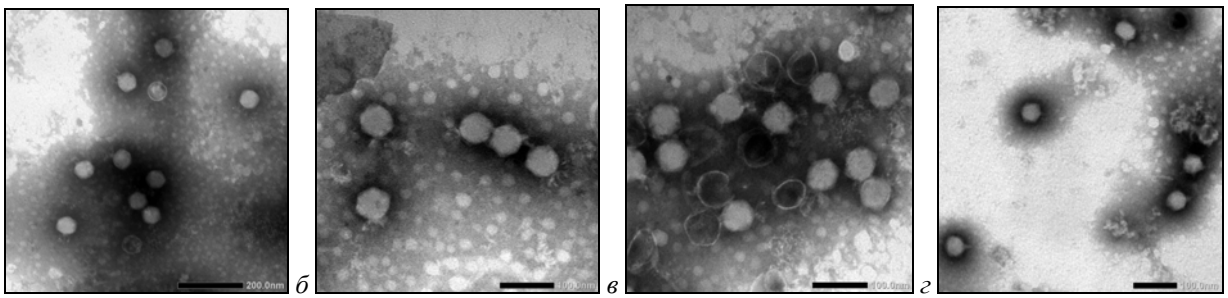


Рис. 2. Електронограма фагів: *а* – 223/4, *б* – 7591/1, *в* – 7591/2, *г* – 7591/3

Вивчали особливості літичної активності фагів, що пройшли пасажі на *P. syringae* pv. *tabaci* 223 до штаму *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. У процесі пасажів на культурі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 спостерігалася втрата літичної здатності, яка могла вказувати на наявність у даного штаму рестрикційних систем.

Із проб, які виявляли літичну активність на перших етапах до *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013, у жодній не вдалось виявити активність фагів. На перших пасажах виявляли зони лізису, які втрачали свою активність після наступних пасажів (табл. 1).

Порівняння «диких» фагів, виділених із природи, з ізолятами, отриманими після адаптації до певної бактерії, дає можливість виявити модифікації, зумовлені хазяїном, які можуть формуватись унаслідок адаптації. Ці модифікації дозволяють прослідкувати етапи можливої коеволюції вірусів та бактерій у природі.

Окремо проводили аналіз ізолятів фагів після зміни хазяїна та пасивування зі зміною хазяїна. Всі виділені фаги (223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3) після пасажів на штамі *P. syringae* pv. *tabaci* 223 виявляли стабільну літичну активність на штамі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. Даний факт дуже цікавий. Такі зміни властивостей фагів зумовлені впливом на дикі типи фагів бактерій-хазяїв, на яких проводили пасажі.

Таблиця 1

Зміна літичної активності ізолятів під час проведення пасажів на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013

Фаг	Наявність літичної активності, пасаж					
	I	II	III	IV	V	VI
223/4	+	+	+	–	–	–
7591/1	+	–	–	–	–	–
7592/2	+	+	–	–	–	–
7591/3	+	–	–	–	–	–

Примітки: «+» – наявність літичної (біологічної) активності, «–» – відсутність літичної (біологічної) активності.

Це випливає з того, що на початку аналізу фаги із рослинних проб не пручалися пасивуванню на штамі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013, а також із того, що після їх пасажів на культурах *P. syringae* pv. *tabaci* 223 та *P. syringae lachrymans* 7591 фаги почали виявляти та

генетично закріпили ознаку здатності до розмноження на штамі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013.

Така властивість фагів диких типів поширена у природі. У біоценозі, на відміну від лабораторних умов, фаги взаємодіють із мікробними общинами, які складаються з численних різновидів фагів і чутливих бактерій. Це, очевидно, має вплив на структури екосистем. Еволюційні процеси, які відбуваються у природних екосистемах, можуть дозволяти фагам адаптуватись до нових хазяїв (Ashelford et al., 2003).

Літична активність фагів, які після пасажів виявляли властивість стабільно лізувати *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013, могла бути пов'язана із процесами рекомбінації та трансдукції між геномами бактерії та фагів.

Аналізували також необоротність змін у фагів за умов переходу до їх пасажів на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. Характер змін оцінювали шляхом порівняння ефективності посіву фагів після циклу пасажів на штамі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 та *P. syringae* pv. *tabaci* 223. Використовували перехресну адаптацію фагів. Фаги 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3, після пасивування на *P. syringae* pv. *tabaci* 223 адаптували до *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. При цьому визначали (табл. 2) титр фагів на *P. syringae* pv. *tabaci* 223. Ефективність посіву на *P. syringae* pv. *tabaci* 223 приймали за одиницю. Визначали також титр фагів, що пройшли пасивування на *P. syringae* pv. *tabaci* 223, на культурі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013. Інтерес викликала ефективність посіву фагів після пасивування на *P. syringae* pv. *tabaci* 223 на культурі *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013, титр фагів після повернення з культури на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 на вихідну культуру *P. syringae* pv. *tabaci* 223, ефективність посіву після повернення на вихідну культуру *P. syringae* pv. *tabaci* 223.

Таблиця 2

Порівняння середньої ефективності посіву (ЕП) фагів на різних штамах бактеріальних культур

Бактеріальна культура	Титри та ЕП фагів після пасажів на *P. syringae* pv. *tabaci* 223 та *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013							
	223/4		7591/1		7591/2		7591/3	
	титри фагів, БУО/мл	ЕП	титри фагів, БУО/мл	ЕП	титри фагів, БУО/мл	ЕП	титри фагів, БУО/мл	ЕП
P. syringae pv. *tabaci* 223	$7{,}50\cdot10^{7}$	–	$7{,}75\cdot10^{6}$	–	$5{,}28\cdot10^{8}$	–	$7{,}50\cdot10^{8}$	–
P. savastanoi pv. *phaseolicola* 4013	$7{,}5\cdot10^{5}$	$1\cdot10^{2}$	10^{5}	0,1	$1{,}0\cdot10^{6}$	$1{,}9\cdot10^{-3}$	$1{,}0\cdot10^{5}$	$1{,}3\cdot10^{-4}$

Як видно з наведених результатів, спостерігаються зміни біологічної активності фагів. Для фагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 змінилась ефективність посіву, що свідчить про можливий влив на них R-M систем клітини. Найбільша зміна ефективності посіву спостерігалась для фага 7591/3, найменша – для фага 7591/1.

Зміна ефективності посіву для всього ряду фагів свідчить про наявність захисного бар'єру в бактерій під час переходу з культури *P. syringae* pv. *tabaci* 223 на культуру *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 (рис. 4).

Проводили контролі: чи виявлені зміни у фагів після використання як хазяїна *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 є необоротними або тимчасовими? З цією метою фаги 223/4 (4013), 7591/1 (4013), 7591/2 (4013), 7591/3 (4013) повертали шляхом шестиразових пасажів на вихідний штам *P. syringae* pv. *tabaci* 223.

Можна говорити про певну генетичну пам'ять популяції фагів (Abedon, 2003; Gómez et al., 2015). Зміни, зазнані фагами за пасивування на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013, не вплинули на швидке відновлення титру під час повернення на вихідну культуру *P. syringae* pv. *tabaci* 223. Таким чином, отримані результати вказують на ймовірність змін у фагах за впливу бактерії хазяїна, про що свідчить різна ефективність посіву (рис. 3, 4).

Під час переходу з *P. syringae* pv. *tabaci* 223 на культуру *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 ефективність посіву різко знижується, що свідчить про можливу наявність рестрикційно-модифікаційних бар'єрів у останнього штаму. Зміна хазяїна для фага – це здатність адаптації до нового штаму за умов дії на нього систем рестрикції-модифікації бактерії («host-controlled restriction») (Luria and Human, 1952; Arber and Dussoix, 1962; Harcombe and Bull, 2005).

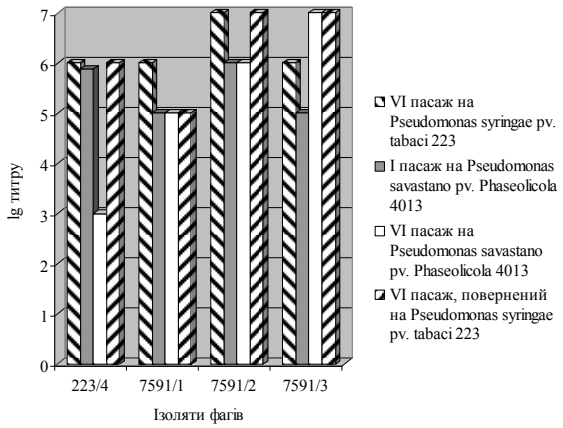


Рис. 3. Порівняння титрів фагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3

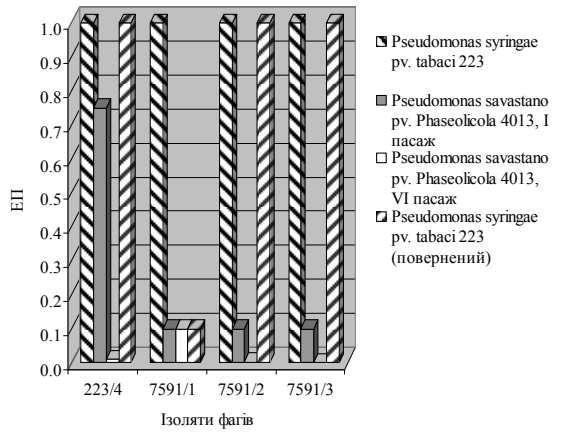


Рис. 4. Ефективність посіву фагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 відносно вихідної культури *P. syringae* pv. *tabaci* 223

Перевірка необоротності змін, набутих під час пасивування на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013, показала, що фаги 223/4 та 7591/2 швидко адаптувались до вихідного хазяїна, відновивши початковий титр. Для фагів 7591/1 та 7591/2 також спостерігається збільшення титру, проте до значень нижчих за вихідні.

Актуальність дослідження взаємовідносин «фаг – бактерія» у біоценозах зумовлена регулювальним впливом фагів на чисельність мікрофлори. Дослідження ефективності реплікації фагів фітопатогенних бактерій за умов зміни бактерій-хазяїв дозволяє вивчати як захисні реакції бактерій, так і адаптаційні модифікації фагів (Semchuk and Romashev, 2013).

Бактеріальні віруси залежать від бактерій хазяїна та пов'язані довгою історією коеволюції. У сучасних умовах зростає значення фагів як антагоністів бактерій в екосистемах. Це зумовлює важливість спостережень за динамікою розвитку та виживання фагових популяцій у природі: їх адаптації до зовнішнього середовища, фактору хазяїна, генетичного обміну між членами біоценозу.

Дослідження популяцій фагів і бактеріальних клітин дозволяє прослідкувати еволюцію взаємодії вірусів і бактерій, з'ясовувати вплив зміни певних генів на подальший спільний розвиток вірусної та бактеріальної популяцій.

Під час зміни хазяїна у фагів спостерігається розширення спектра літичної активності, пов'язане з рекомбінацією фагів із профагами хазяїна або з наявністю ділянки CRISPR-локусів (Vos et al., 2009).

Висновки

Визначено морфологію та розмір негативних колоній фагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 *P. syringae* pv. *tabaci* 223, виділених з агроценозів Київської та Чернігівської областей України. Діаметр колоній – 2–12 мм. Під час зміни хазяїна бактеріофагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3 на штам *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 знижується ефективність посіву з одиниці до $1 \cdot 10^{-4}$–$1 \cdot 10^{-5}$. Титр фагів, адаптованих до *P. syringae* pv. *tabaci* 223, після пасажів на *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 різко зменшився та практично відновився після повернення до вихідної індикаторної культури *P. syringae* pv. *tabaci* 223. Виявлені особливості досліджуваних фагів 223/4, 7591/1, 7591/2, 7591/3, на нашу думку, пов'язані із процесом їх адаптації до різних хазяїв і необхідністю швидко еволюціонувати, що дозволить їм перебувати в екосистемі. Дослідження ефективності реплікації фагів фітопатогенних бактерій за умов зміни бактерій-хазяїв дозволяє вивчати як захисні реакції бактерій, так і адаптаційні модифікації фагів.

Бібліографічні посилання

Abedon, S.T., 2009. Phage evolution and ecology. Adv. Appl. Microbiol. 67, 1–45.

Ackermann, H.-W., 1998.Tailed bacteriophages: The order caudovirales. Adv. Virus Res. 51, 135–201.

Adams, M., 1961. Bakteriofagi [Bacteriophage]. Medgiz, Moscow (in Russian).

Arber, W., Dussoix, D., 1962. Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli*. I. Host controlled modification of bacteriophage lambda. J. Mol. Biol. 5, 18–36.

Ashelford, K.E., Day, M.J., Fry, J.C., 2003. Elevated abundance of bacteriophage infecting bacteria in soil. Appl. Environ. Microbiol. 69, 285–289.

Bohannan, B.J.M., Lenski, R.E., 2000. Linking genetic change to community evolution: Insights from studies of bacteria and bacteriophage. Ecol. Lett. 3, 362–377.

Budzanivska, I.H., 2009. Diahnostyka virusnykh infektsii [Diagnosis of viral infections]. Ukrainskyi Fitosotsiolohichnyi Tsentr, Kyiv (in Ukrainian).

Chibani-Chennoufi, S., Bruttin, A., Dillmann, M.-L., Brüssow, H., 2004. Phage-host interaction. An Ecological Perspective Journal of Bacteriology 186(12), 3677–3686.

Davison, A.J., Benko, M., Harrach, B., 2003. Genetic content and evolution of adenoviruses. J. Gen. Virol. 84, 2895–2908.

Gómez, P., Bennie, J., Gaston, K.J., Buckling, A., 2015. The impact of resource availability on bacterial resistance to phages in soil. PLoS ONE 10(4), 56.

Harcombe, W.R., Bull, J.J., 2005. Impact of phages on two-species bacterial communities. Appl. Environ. Microbiol. 71(9), 5254–5259.

Hennes, K.P., Suttle, C.A., Chan, A.M., 1995. Fluorescently labeled virus probes show that natural virus populations can control the structure of marine microbial communities. Appl. Environ. Microbiol. 61, 3623–3627.

Luria, S.E., Human, M.L., 1952. A nonhereditary, host-induced variation of bacterial viruses. J. Bacteriol. 64(4), 557–569.

Semchuk, L.I., Romashev, S.A., 2013. Vlijanie smeny hozjaina na fagi 223-17 i 7591-14 *Pseudomonas savastanoi* pv. *tabaci* [Effect of host change on phages 223-17 and 7591-14 *Pseudomonas savastanoi* pv. *tabaci*]. Mikrobiolohichnyi Zhurnal 75(3), 74–80 (in Russian).

Semchuk, L.I., Tokarchuk, L.V., Samojlenko, V.I., 1988. Metody poluchenija, koncentracii i ochistki bakteriofagov, porazhajushhih fitopatogennye bakterii roda *Pseudomonas* [Methods of obtaining, concentration and purification of bacteriophages infecting phytopathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas*]. Probl. Obshh. Molekul. Biol. 16, 38–41 (in Russian).

Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., Morris, G., 2001. Bacteriophage therapy. Antimicrob. Agents Chemother. 45(3), 649–659.

Vos, M., Birkett, P.J., Birch, E., Griffiths, R.I., Buckling, A., 2009. Local adaptation of bacteriophages to their bacterial hosts in soil. Science 325, 833.

Wommack, K.E., 2000. Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64, 69–114.

Надійшла до редколегії 01.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 410–415.

doi:10.15421/011655

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 577.1:616-092.9

Біологічна активність препаратів на основі гумінових речовин у печінці піщанок (*Meriones unguiculatus*)

Д.О. Сєрова, О.В. Таран, О.О. Дьомшина

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

Одна з важливих причин відмови від застосування лікарських препаратів – їх гепатотоксичність. Пошук нових природних біологічно активних речовин із гепатопротекторними властивостями – важливе завдання сьогодення. Наведено дані щодо впливу кормових біологічно активних добавок Гумілід (окремо та у комплексі з аскорбіновою кислотою) та Еко-Імпульс на печінку піщанок *Meriones unguiculatus* Milne-Edwards, 1867. Доведено гепатомоделювальні властивості гумінових речовин у складі Гуміліду, що підтверджено стимуляцією активності трансаміназ, підвищенням загальної кількості протеїну, особливо за умов комбінації з аскорбіновою кислотою. Спостерігали гальмування накопичення окиснених продуктів у клітині внаслідок активації каталази та супероксиддисмутази. Інтенсифікація каталази розглядається як один із важливих механізмів адаптації клітини за дії ксенобіотиків. Додавання до розчину Гуміліду аскорбінової кислоти посилювало антиоксидантну дію його діючих речовин, завдяки як власним антиоксидантним властивостям, так і захисту гумінових кислот від окиснення. Формування відповідної реакції клітин печінки піщанок на потрапляння діючих речовин препарату Еко-Імпульс супроводжувалося збільшенням кількості ТБК-активних продуктів та цитохрому С, що свідчить про формування оксидативного стресу, який супроводжується підвищенням проникності мітохондріальної мембрани. Отримані результати вказують на гепатопротекторні властивості діючих речовин препарату Гумілід як окремо, так і в комбінації з аскорбіновою кислотою, та необхідність корекції концентрації препарату Еко-Імпульс для використання у клінічній практиці.

Ключові слова: Гумілід; Еко-Імпульс; амінотрансферази; каталаза; супероксиддисмутаза; ТБК-активні продукти; цитохром С

Biological activity of humic substances in the liver of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*)

D. Serova, O. Taran, O. Dyomshina

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

One important reason for non-use of medicinal drugs is their hepatotoxicity. The search for new natural biologically active substances with hepatoprotective properties and which are cost-effective is an important task today. This article presents the data on the impact of the fodder-dietary supplement Humilid alone and in combination with ascorbic acid, and Eco-Impulse on the liver of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus* Milne-Edwards, 1867). Hepatomodulation of properties of humic substances in the Humilid confirmed that stimulation of the activity of the enzyme transaminase increases the total amount of protein, especially in combination with ascorbic acid. There was inhibition of accumulation of oxidized products in the cell due to activation of catalase and superoxidedismutase. Intensification of catalase is regarded as one of the important mechanisms of adaptation of the cell under the influence of xenobiotics. Addition of ascorbic acid to the solution Humilid increased the antioxidant action of its active ingredients both through its own antioxidant properties and protection of humic acids from oxidation. Formation of response in liver cells of gerbils receiving active ingredients of the drug Eco-Impulse was accompanied by an increase in the number of TBA-active products and cytochrome C, which indicates the formation of oxidative stress, which is accompanied by increased permeability of mitochondrial membranes. The results indicate the hepatoprotective properties of the active ingredients of the drug Humilid, alone and in combination with ascorbic acid, and the need for correcting the concentration of the drug Eco-Impulse for use in clinical practice.

Keywords: Humilid; Eco-Impulse; aminotransferases; catalase; superoxidedismutase; TBA-active products; cytochrome C

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-050-607-52-83. E-mail: olga-d2009@ukr.net

Вступ

За своїм генезисом гумінові речовини – особлива гранична стадія фізичного, хімічного та мікробіологічного процесів трансформації органічної речовини у природі. Унікальність їх властивостей визначають ґрунтотвірні процеси та родючість ґрунтів, а також розкладання гірських порід та мінералів, зв'язування, фіксація, концентрація, розсіювання та перевідкладання хімічних елементів (Kocsis et al., 2008; Fedosyeyeva et al., 2009; Fisinin and Chapter, 2011; Vorobyov and Lapushkina, 2012).

Природні гумінові речовини регулюють процеси росту рослин, поліпшують фізико-хімічні властивості ґрунту, активізують мікроорганізми, впливають на міграцію поживних речовин, стимулюючи дихання, синтез білків і вуглеводів, ферментативну активність, широко використовуються в рослинництві та у ветеринарній практиці (Islam et al., 2005; Derho and Kolesnik, 2011; Stepchenko, 2011; Mikhailenko et al., 2014;). Прояв біологічної активності як природних гумінових речовин, так і їх промислових препаратів спостерігається не тільки відносно вищих рослин; це явище значною мірою універсальне для живих організмів. Незважаючи на широке використання таких препаратів у рослинництві та ветеринарії, механізми впливу гумінових речовин на організм тварин, яких використовують у преклінічних дослідженнях із метою впровадження нових лікарських засобів у терапевтичну практику лікування хвороб у людей, практично не вивчені.

Уважають встановленим той факт, що стимулювальний вплив гумінові речовини дають за певних, досить низьких концентрацій (10^{-2}–10^{-4}%), а за вищих концентрацій проявляється інгібування біологічної активності організмів. Така реакція властива для багатьох біологічно активних речовин. Хоча спроби ідентифікації гормонів у складі гумінових речовин досі не увінчалися успіхом, гормоноподібна активність як природних, так і промислових препаратів не залишає сумнівів (Khristeva, 1973; Perminova, 2008; Stepchenko, 2010; Buchko, 2011; Buchko and Maksimovic, 2011; Buchko 2013). Незважаючи на широке використання гуматів у різних галузях господарства, впровадження цих речовин у медичну та фармакологічну галузь триває. Тому проведення досліджень впливу похідних гумінових кислот на формування різних патологій – перспективний і актуальний напрям медицини, фармакології та біохімії.

Печінка – один із центральних органів метаболізму, де активно відбуваються процеси біосинтезу та розпаду молекул, біотрансформація метаболітів ендогенного та екзогенного походження, перетворення та екскреція з організму токсичних метаболітів і ксенобіотиків (Jaeschke et al., 2002; Shirakami et al., 2012; Zhu et al., 2012). Надходження ксенобіотиків до клітин викликає оксидативний стрес, пов'язаний з утворенням активних форм кисню. Кількість окисних продуктів контролюється антиоксидантною системою, яка включає низько- та високомолекулярні сполуки (Surai et al., 2005).

Ензим, який першим вступає в реакцію з перекисами у клітині, – каталаза. Найвища її активність характерна для клітин печінки, нирок і еритроцитів (Maltsev et al., 2010, Shmarakov et al., 2014), які мають високі значення продукції перекисів. Компоненти антиоксидантного захисту клітини від токсичної дії супероксиданіона, який інтенсивно утворюється у дихальному ланцюзі, – ензим супероксиддисмутаза (СОД) та цитохром С. Найвищі їх рівні реєструються саме у печінці (Demin et al., 2008; Rakytyanskyy and Efimov, 2010; Donghong et al., 2015). У печінці СОД представлена Mn- і Cu/Zn-ізоферментами. Однак домінує у клітині та складає понад 65% загальної активності ферменту мітохондріальна форма (Mn-СОД) (Surai et al., 1999). Цитохром С – гемовмісний протеїн, що потребує наявності феруму у середовищі. Окиснена форма цитохрому С (Fe^{3+}) виявляє потужні антиоксидантні властивості за рахунок ефективнішого, ніж СОД, окиснення супероксиданіона в молекулярний оксиген (Demin et al., 2008). Тому ця форма – один із маркерів ефективності функціонування антиоксидантної системи. Вивільнення цього протеїну в цитоплазму – наслідок розвитку оксидативного стресу у клітині, який впливає на цілісність мітохондріальної мембрани (Donghong et al., 2015). Підвищення концентрації цитохрому С у цитоплазмі запускає каскад реакцій апоптозу.

Дослідження біохімічних маркерів стану печінки та інтенсивності функціонування її антиоксидантної системи – актуальне та важливе питання біохімії, медицини та фармакології. Пошук лікарських препаратів, які б виявляли одночасно біологічну активність і гепатопротекторні властивості – також актуальне завдання сучасності.

У зв'язку з цим питання ефективності застосування препаратів на основі гумінових речовин із гепатопротекторною метою залишається відкритим. Мета цієї статті – визначити зміни біохімічних маркерів стану та ефективності антиоксидантної системи печінки піщанок за умов застосування кормових біологічно активних добавок Гумілід (окремо та в комбінації з аскорбіновою кислотою та Еко-Імпульс).

Матеріал і методи досліджень

Експеримент проводили на монгольських піщанках (*Meriones unguiculatus* Milne-Edwards, 1867) зрілого віку (6 місяців), середньою вагою 63–83 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Маніпуляції з тваринами проводили відповідно до правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Тварин поділили на чотири дослідні групи (по 5 тварин у кожній): I група – інтактні тварини (контроль), які отримували звичайну дієту, II – тварини, яким у питну воду додавали 1% розчин Гуміліду, III – у питну воду додавали суміш 1% розчинів Гуміліду та аскорбінової кислоти, IV – у питну воду додавали 1% розчин препарату Еко-Імпульс. Експеримент тривав 24 доби. Наприкінці тварин зважували та виводили з експерименту під етерним наркозом, видаляли печінку, промивали її у фізіологічному розчині та використовували для подальших досліджень.

Отримання гомогенату печінки та її водорозчинної фракції проводили шляхом диференційного центрифугування у градієнті сахарози методом Jonson and Lardy (1969). Для визначення загальної кількості протеїну, активності аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1),

аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), каталази (КТ, КФ 1.11.1.6), супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1), ТБК-активних продуктів, цитохрому С використовували водорозчинну фракцію печінки та стандартні лабораторні тест-набори (Фелісіт, Україна, м. Дніпропетровськ) методами Bertis (2006) та Young (2001) згідно з протоколом фірми виробника.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за критерієм Манна – Уїтні. Вірогідними відмінності вважали за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Важливий параметр гомеостазу цілісного організму – кількість загального протеїну. Визначення даного показника у печінці дає інформацію про інтенсивність синтетичних процесів за умов екзогенного впливу. Кількість загального протеїну у водорозчинній фракції печінки, основна частина якої представлена цитозольними протеїнами, за умов застосування 1% розчину препарату Гумілід, суміші 1% розчинів Гуміліду та аскорбінової кислоти та 1% розчину препарату Еко-Імпульс змінювалась не односпрямовано (рис. 1).

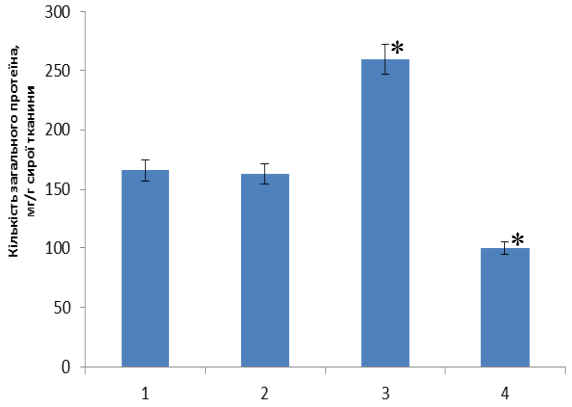


Рис. 1. Кількість загального протеїна у водорозчинній фракції печінки піщанок: *1* – контрольна група тварин, *2* – тварини, які отримували у питній воді 1% Гуміліду, *3* – у питній воді суміш 1% Гуміліду та 1% аскорбінової кислоти, *4* – у питній воді 1% препарату Еко-Імпульс; * – $P < 0,05$ відносно контрольної групи; $x \pm SD$, $n = 5$

Кількість загального протеїну у водорозчинній фракції печінки тварин, яких випоювали 1% розчином Гуміліду, залишалась на рівні контрольної групи. У піщанок, яких випоювали сумішшю 1% розчину Гуміліду в комбінації з 1% розчином аскорбінової кислоти, кількість протеїну достовірно підвищувалась (у 1,5 раза порівняно з контрольною группою). У тварин, яких випоювали 1% розчином препарату Еко-Імпульс, кількість протеїну знижувалась до 60% порівняно з контрольною групою. Отримані результати вказують на чутливість білкового обміну печінки за впливу ксенобіотиків гумінової природи. Додаткове введення до раціону аскорбінової кислоти знижувало ксенобіотичне навантаження на печінку, що супроводжувалось відновленням протеїн-синтетичної функції цього органу.

Важливі ланки азотного, вуглеводного та енергетичного обмінів печінки – активність аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази (рис. 2, 3). У тварин, яких випоювали 1% розчином Гуміліду, активність аспартатамінотрансферази залишалась на рівні контрольної групи. У піщанок, яких випоювали сумішшю 1% розчину Гуміліду, аскорбінової кислоти та 1% розчином препарату Еко-Імпульс, активність ензиму підвищувалась у 2,5 раза порівняно з контрольною групою та групою тварин, яких випоювали 1% розчином Гуміліду. Можливо, за умов застосування цих препаратів відбувалося посилення малатаспартатного човникового механізму, опосередковано пов'язаного з вуглецевим і енергетичними обмінами, та аспартатаргініносукцинатного циклу, пов'язаного з азотним обміном. У групі, де як поживну добавку додавали 1% препарат Гуміліду у комбінації із 1% розчином аскорбінової кислоти, вказані процеси пов'язані з посиленням біосинтетичних реакцій, а у разі використання 1% розчину препарату Еко-Імпульс – із посиленням процесів протеолізу та утилізації його метаболітів. Це підтверджується даними щодо загальної кількості протеїну в даній дослідній групі (рис. 1).

Помітні зміни відбувалися в активності аланінамінотрансферази у водорозчинній фракції печінки піщанок: випоювання тварин 1% розчином Гуміліду спричинювало до зниження активності ферменту на 47% порівняно з контрольною групою.

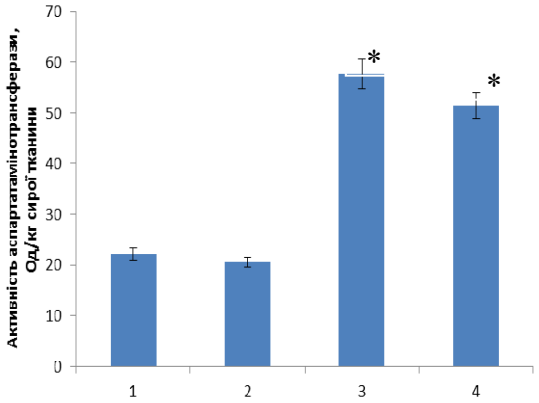


Рис. 2. Активність аспартатамінотрансферази у водорозчинній фракції печінки піщанок: див. рис. 1

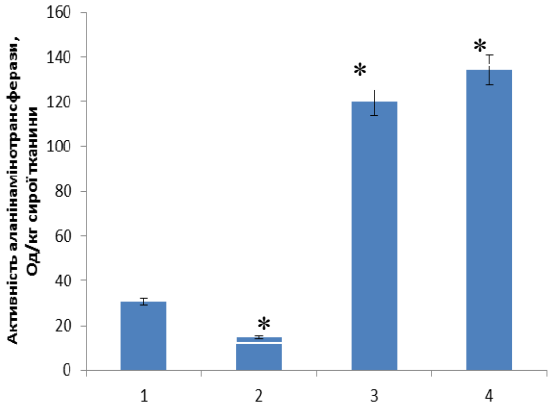


Рис. 3. Активність аланінамінотрансферази у водорозчинній фракції печінки піщанок: див. рис. 1

Можливо, це пов'язано з переключенням метаболізму пірувату й аланіну на метаболізм аспартату у печінковій тканині піщанок у наведених умовах, що підтверджується даними щодо аспартатамінотрансферази у даній групі

тварин (рис. 2). Такий ефект характерний для свійських тварин (Derho and Kolesnik, 2011).

У піщанок, яких випоювали сумішшю 1% розчинів Гуміліду та аскорбінової кислоти та 1% розчином препарату Еко-Імпульс, активність аланінамінотрансферази підвищувалась у 4,5 раза порівняно з контрольною групою. Отримані результати можуть вказувати на активізацію процесів трансамінування внаслідок підвищення концентрації субстратів, а саме аланіну, до якого виявляє високу специфічність печінкова ізоформа ензиму та можливої активізації глюконеогенезу або процесів енергозбереження. У групі тварин, яких випоювали 1% розчином препарату Еко-Імпульс відбувалось підвищення активності аспартатамінотрансферази у 2,5 раза та аланінамінотрансферази у 4,5 раза у водорозчинній фракції печінки піщанок. Враховуючи дані щодо зниження кількості загального протеїну в цій дослідній групі на 60% порівняно з контрольною групою, отримані дані щодо активності аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази можуть вказувати на інтенсифікацію процесів утилізації продуктів протеолізу. Також це може свідчити про залучення даних ензимів до процесів використання продуктів розпаду амінокислот, пул яких збільшується за умов розпаду протеїнів.

Для встановлення впливу похідних гумінових речовин на прооксидантно-актиоксидантну систему печінки піщанок визначали біохімічні показники: кількість ТБК-активних продуктів, основний із яких – малоновий діальдегід (МДА), цитохрому С, активність каталази, супероксиддисмутази (рис. 4–7).

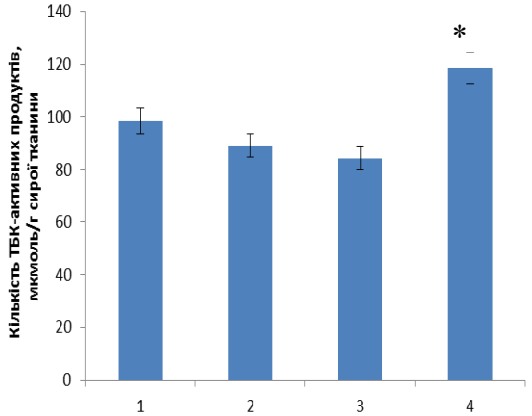


Рис. 4. Вміст ТБК-активних продуктів у водорозчинній фракції печінки піщанок: див. рис. 1

У водорозчинній фракції печінки піщанок (рис. 4), яких випоювали 1% розчином Гуміліду та 1% розчину Гуміліду в комбінації з 1% розчином аскорбінової кислоти, кількість ТБК-активних продуктів перебувала у межах контрольної групи, що вказує на відсутність прооксидантних властивостей досліджених препаратів. Однак застосування 1% розчину препарату Еко-Імпульс зумовлює підвищення цього показника на 20% порівняно з контрольною групою, що можна пов'язати з активізацією перекисного окиснення ліпідів і, як наслідок, збільшення його продукту – малонового діальдегіду. Отримані результати вказують на підвищену біологічну активність компонентів препарату Еко-Імпульс у дослідженій концентрації, яка потребує корекції та подальших досліджень.

Зміни активності супероксиддисмутази у водорозчинній фракції печінки (рис. 5) спостерігали у піщанок, яких випоювали 1% розчином препарату Еко-Імпульс – відбувалось підвищення активності майже удвічі. Таке явище супроводжувалось підвищенням кількості ТБК-активних продуктів у даній дослідній групі. У піщанок, яких випоювали 1% розчином Гуміліду та сумішшю 1% розчинів Гуміліду та аскорбінової кислоти, активність ензиму у даній фракції коливалась у межах контрольної групи (1,0–1,5%).

Не менш важливий показник реактивності антиоксидантної системи – активність каталази (рис. 6). У першій і другій дослідних групах цей показник змінювався у межах 25% порівняно з контрольною групою, що розглядається як активізація процесів адаптації у клітинах печінки за дії гумінових речовин і аскорбінової кислоти. Слід зазначити, що у піщанок, яких випоювали водою із додаванням 1% розчину препарату Еко-Імпульс, активність каталази підвищувалась на 40%. Однак, враховуючи дані щодо підвищення кількості ТБК-активних продуктів (рис. 4) та активності супероксиддисмутази (рис. 5) у цій дослідній групі, можна зробити висновок про активізацію захисних систем в умовах впливу ксенобіотиків, які ініціюють утворення перекисних продуктів. Також результати проведених досліджень підтверджують необхідність оптимізації концентрації діючих речовин препарату Еко-Імпульс для подальшого застосування у дослідах на тваринах із метою впровадження у клінічну практику.

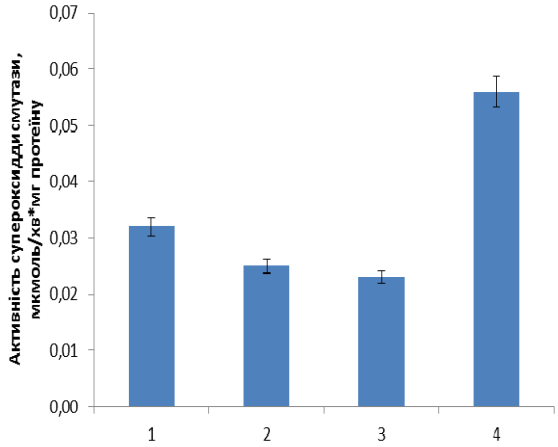


Рис. 5. Активність супероксиддисмутази у водорозчинній фракції печінки піщанок: див. рис. 1

Одні з параметрів рівня оксидативного стресу, стану мітохондріальної мембрани, інтенсивності дихання та життєздатності клітини – зміни концентрації цитохрому С (рис. 7), який виконує роль транспортера електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій і, таким чином, бере участь у процесах, що забезпечують клітини енергією; ефективний антиоксидант, який інтенсивніше, ніж супероксиддисмутаза, перетворює супероксид-аніон на молекулярний оксиген; регулятор процесу загибелі клітини шляхом апоптозу (Demin et al., 2008; Donghong, 2015).

Результати дослідження показали незначне збільшення концентрації цитохрому С у водорозчинній фракції печінки у групі тварин, яких випоювали 1% розчином Гуміліду. Випоювання піщанок 1% розчином Гуміліду в комбінації з 1% розчином аскорбінової ки-

слоти спричинювало зниження концентрації цитохрому С на 20% порівняно з контрольною групою та на 48% порівняно з групою тварин, яким у питну воду додавали лише 1% розчин Гуміліду. За таких умов спостерігали додатковий захист у печінці завдяки фізико-хімічним властивостям аскорбінової кислоти, яка знижує концентрацію як окиснених ендогенних метаболітів, так і окиснених продуктів гумінових кислот.

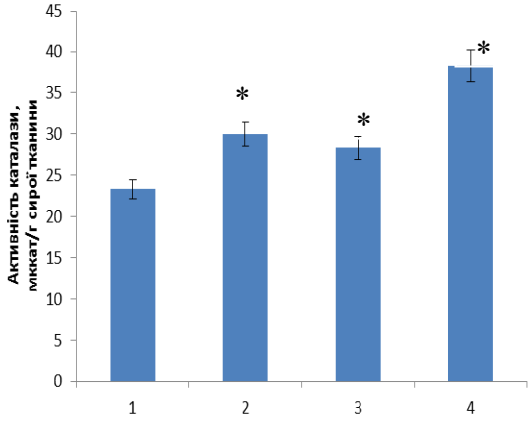


Рис. 6. Активність каталази у водорозчинній фракції печінки піщанок: див. рис. 1

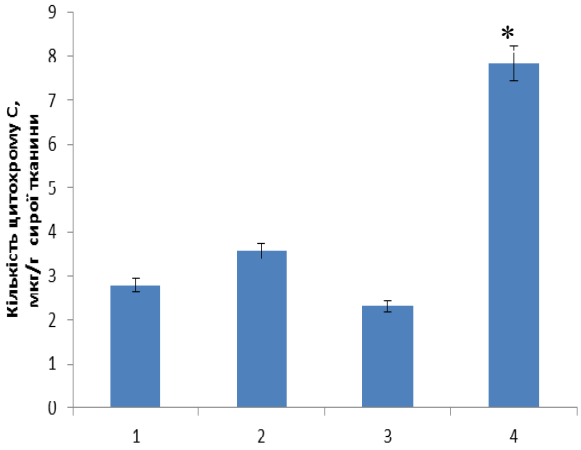


Рис. 7. Вміст цитохрому С у водорозчинній фракції печінки піщанок: див. рис. 1

У печінці піщанок, яких випоювали розчином препарату Еко-Імпульс кількість цитохрому С збільшувалась у 2,5 раза порівняно з контрольною групою тварин. Враховуючи дані щодо кількості ТБК-активних продуктів, активності каталази та супероксиддисмутази у даній дослідній групі, можна зробити висновок про інтенсифікацію окисних процесів у клітинах печінки піщанок. Також отримані результати вказують на активізацію пероксидазної активності комплексу цитохрому С і кардіоліпіну (Demin et al., 2008) внаслідок підвищення концентрації перекисних продуктів, що є причиною підвищення проникності мітохондріальної мембрани та вивільнення цитохрому С у цитоплазму.

Експериментальні дані наукового дослідження підтверджують відомі факти чутливості білкового, азотного та енергетичного обмінів до дії біологічно активних речовин гумінової природи (Islam et al., 2005; Fedosyeyeva et al., 2009; Stepchenko, 2010, 2011; Derho and Kolesnik, 2011; Vorobyov and Lapushkina, 2012; Mikhailenko et al., 2014). Активізація процесів трансамінування викликана підвищенням концентрації субстратів, що забезпечують і контролюють процеси амінокислотного та вуглеводного обмінів за впливу препаратів на основі гумінових речовин (Derho and Kolesnik, 2011; Mikhailenko et al., 2014). Надходження ксенобіотиків до клітин викликає оксидативний стрес з утворенням активних форм оксигену. Кількість окисних продуктів контролюється антиоксидантною системою, яка включає низько- та високомолекулярні сполуки (Jaeschke et al., 2002; Surai et al., 2005; Shirakami et al., 2012; Zhu et al., 2012; Donghong et al., 2015). За таких умов підвищується проникність мітохондрільної мембрани (Demin et al., 2008; Maltsev et al., 2010; Shmarakov et al., 2014; Donghong, 2015), внаслідок чого підвищується концентрація цитохрому С у цитозолі та знижується інтенсивність клітинного дихання, перетворення супероксиданіона на молекулярний оксиген за його участю та життєздатність клітини в цілому. Біологічно активна кормова добавка Гумілід активізує функціонування захисних систем печінки та стимулює адаптаційні процеси (Stepchenko, 2010; Buchko, 2011, 2013), а аскорбінова кислота виступає додатковим фактором їх стимуляції та захищає гумінові кислоти від окиснення.

Висновки

Установлено чутливість білкового, азотного та енергетичного обмінів у печінці піщанок до дії препаратів на основі гумінових речовин. Препарат Гумілід виявив гепатопротекторні властивості, а додавання аскорбінової кислоти до раціону посилювало біологічну активність гумінових речовин. Підтверджено його антиоксидантні властивості та стимуляцію адаптаційних процесів у печінці піщанок. Печінкова тканина особливо чутливо відреагувала на дію складових препарату Еко-Імпульс, що супроводжувалось посиленням процесів протеолізу та утилізації його метаболітів, інтенсифікацією реакцій утворення окиснених продуктів, підвищенням проникності зовнішньої мітохондріальної мембрани. Результати досліджень – підстава для рекомендації корекції концентрації діючих речовин препарату Еко-Імпульс із метою подальших досліджень у пошуку оптимальних схем застосування та впровадження у клінічну практику.

Подяки

Дякуємо завідувачу кафедри фізіології та біохімії ДДАУ, науковому керівнику науково-дослідної лабораторії з гумінових речовин імені професора Л.А. Христєвої професору Лілії Михайлівні Степченко за надані дослідні препарати.

Бібліографічні посилання

Bertis, S.A., Ashvud, E.R., Bruns, D., 2006. Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th Ed. WB Saunders, Filadelfiya, PA.

Buchko, O.M., 2011. Protein metabolism in pigs under the influence of the feed additive humic. Nature Anim. Ukr. 10, 27–30.

Buchko, O.M., 2012. Antioxidant defense system of pigs under the influence of the additive nature of humic. Vìsn. Lviv. Unìv. Ser. Bìol. 58, 68–73.

Buchko, O.M., 2013. Free radical processes in the pig lets for the actions of humic additives. Anim. Biol. 15(1), 27–33.

Buchko, O.M., Maksimovic, I.Y., 2011. Link glutathione antioxidant protection of pigs under the influence of humic additives. Nature Anim. Biol. 13, 60–65.

Demin, E.M., Proskurnina, E.V., Vladimirov, Y., 2008. Antioxidant effect of DHQ and rutin in peroxidase reactions catalyzed by cytochromec. Moscow Univ. Bull. Chem. 49(5), 354–360.

Derho, M.A., Kolesnik, E.A., 2011. Correlation of weight gain and the preservation of broilers ISA-15 cross-country with the level of blood biochemical parameters. Vestn. Agric. Urals. 3, 27–29.

European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, 18 March 1986).

Fedosyeyeva, Y.E., Patsayeva, S.V., Terekhova, V.A., 2009. Efluence of kaliy of humic on same physiology characteristics of deferent pigments of microscopy mushrum. Mikolohiya i Fitopatolohiya 43(3), 243–249.

Fedosyeyeva, Y.E., Terekhova, V.A., Yakymenko, O.S., Hladkova, M.M., 2009. Ecotoxicological assessment of humic substances of different origin using microalgae *Scenedesmus quadricauda*. Theor. App. Eco. 4, 45–50.

Fisinin, V.I., Chapter, P., 2011. Effective protection from stress in poultry, from vitamins to animal breeding. Bird Poult. Prod. 5, 23–26.

Islam, K.M.S., Schuhmacher, A., Gropp, J.M., 2005. Humic acid substrances in animal agriculture. PJN 4(3), 126–134.

Jaeschke, H., Gores, G.J., Cederbaum, A.I., Hinson, J.A., Pessayre, D., Lemasters, J.J., 2002. Mechanisms of hepatotoxicity. Toxicol. Sci. 65(2), 166–176.

Shirakami, Y., Lee, S.A., Clugston, R.D., Blaner, W.S., 2012. Hepatic metabolism of retinoids and disease associations. Biochim. Biophys. Acta 1821, 124–136.

Shmarakov, I.O., Borschovetska, V.L., Marchenko, M.M., 2014. Reactive oxygen and nitrogen species generation features under conditions of acute hepatotoxicity. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 22(1), 3–7.

Stepchenko, L.M., 2010. Regulatory mechanisms of action of biologically active substances humic nature organism productive poultry. J. Physiol. 56(2), 306.

Stepchenko, L.M., 2010. The value of cathepsin B and its inhibitors in the regulation of metabolism in broiler chickens for the actions of humic substances Nature Anim. Biol. 12(2), 180–188.

Stepchenko, L.M., 2011. Biologicheski active substances humic nature as regulators of homeostasis of poultry. Articles 7 Internat Conf Radostim 2011. Phytohormones, humic substances and other bioratsionalnye pesticides in agriculture, Minsk 164–167.

Surai, K.P., Surai, P.F., Speake, B.K., 2005. Antioxidant-prooxidant balance in the intestine: food for thought. J. Dairy Sci. 87, 797–809.

Vorobyov, A.V., Lapushkina, M.A., 2012. Biochemical parameters of broiler chickens in the application immunostimulant. Vestn. Veterinary 63(4), 132–133.

Young, D.S., 2001. Effects of disease on clinical laboratory test. 4th ed. AACC Press.

Zhu, H., Jia, Z., Misra, H., Li, Y.R., 2012. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of alcoholic liver disease: Updated experimental and clinical evidence. J. Dig. Dis. 13(3), 133–142.

Надійшла до редколегії 04.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 416–420.

doi:10.15421/011656

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК (581.1+582.926.2):661.162.65

Дія гібереліну та ретардантів на морфогенез, фотосинтетичний апарат і продуктивність картоплі

В.В. Рогач, І.В. Попроцька, В.Г. Кур'ята

Вінницький державний педагогічний університет імені Михайла Коцюбинського, Вінниця, Україна

Досліджували вплив гібереліну та антигібереліновиx препаратів – тебуконазолу та хлормекватхлориду – на ріст, розвиток, листковий апарат, формування мезоструктури, чисту продуктивність фотосинтезу, вміст різних форм вуглеводів і азотумісних сполук у вегетативних органах картоплі сорту Санте та її урожайність. Застосування тебуконазолу та хлормекватхлориду зменшувало лінійні розміри рослин та збільшувало кількість листків на них, масу сирої речовини листя та його площу. Гіберелова кислота достовірно збільшувала висоту рослин і площу листя. Гіберелова кислота та тебуконазол потовщували листкові пластинки за рахунок розростання клітин основної фотосинтезувальної тканини – хлоренхіми. За впливу цих препаратів зростав об'єм клітин стовпчастої паренхіми. За дії стимулятора росту збільшувалися розміри клітин губчастої паренхіми. Після обробки гібереловою кислотою вміст суми хлорофілів у листках рослин картоплі достовірно знижувався, а після застосування тебуконазолу зростав. За дії хлормекватхлориду вміст фотосинтезувальних пігментів мав тенденцію до зростання. Ретарданти підвищували вміст крохмалю та білкового азоту в корінні, стеблах і бульбах з одночасним зменшенням у цих вегетативних органах вмісту цукрів. Гіберелова кислота зменшувала вміст цукрів і крохмалю у корінні, стеблі та листках, збільшувала їх уміст у бульбах. Гормон також зменшував уміст білкового азоту в листках. Гіберелін і антигібереліновi препарати збільшували масу сухої речовини рослин, підвищували чисту продуктивність фотосинтезу та оптимізували продуктивність культури. Обробка бульб картоплі ретардантами у період спокою уповільнює проростання, що сприяє збереженню продукції.

Ключові слова: *Solanum tuberosum*; морфогенез; регулятори росту; мезоструктура; вуглеводи; азот

Effect of gibberellin and retardants on morphogenesis, photosynthetic apparatus and productivity of the potato

V.V. Rogach, I.V. Poprotska, V.G. Kuryata

Vinnytsya State Pedagogical University named after Mykhailo Kotsyubynsky, Vinnytsya, Ukraine

We investigated the influence of gibberellin and antigibberellin agents (tebuconazole and chlormequat-chloride) on the growth, development, leaf apparatus, formation of the mesostructure, net photosynthetic productivity, contents of different forms of carbohydrates and nitrogen compounds in the vegetative organs of potatoes of the Sante sort and their productivity. We established that the use of tebuconazole and chlormequat-chloride reduced the linear dimensions of plants and increased the number of leaves on them, the mass of damp matter of leaves and their area. Gibberellic acid increased plant height and leaf area significantly. Gibberellic acid and tebuconazole thickened the laminae by cell proliferation of the main photosynthetic tissue – chlorenchyma. The volume of the cells of palisade parenchyma increased under the influence of these agents. The size of the spongy parenchyma cells increased due to the action of the growth stimulator. The content of chlorophyll in potato leaves was reduced significantly after processing by gibberellic acid and it grew after application of tebuconazole. Content of photosynthetic pigments tended to increase due to action of chlormequat-chloride. It was found that retardants increased starch content and protein nitrogen in the roots, stems and tubers with a simultaneous decrease in of the sugar content in the vegetative organs. Gibberellic acid reduced the content of sugar and starch in the roots, stems and leaves and increased their content in the tubers. The hormone reduced content of protein nitrogen in leaves. Gibberellin and antigibberellin agents increased the weight of dry

Вінницький державний педагогічний університет імені Михайла Коцюбинського, вул. Острозького, 32, Вінниця, 21000, Україна
Vinnytsya State Pedagogical University named after Mykhailo Kotsyubynsky, Ostrozhskogo Str., 32, Vinnytsya, 21000, Ukraine
Тел.: +38-098-594-48-32. E-mail: rogachv@ukr.net

matter in the plants, raised net photosynthetic productivity and optimized productivity of the culture. Treatment of potato tubers with the retardants during the dormant period led to slower germination, which contributed to preservation of production.

Keywords: *Solanum tuberosum*; morphogenesis; growth regulators; mesostructure; carbohydrates; nitrogen

Вступ

Перспективний напрям сучасного рослинництва – застосування синтетичних регуляторів росту, які за своєю природою є або аналогами, або модифікаторами дії фітогормонів. Із практичною метою широко застосовуються ростстимулювальні гіберелінові препарати, а також їх антагоністи – ретарданти, які блокують синтез гібереліну або утворення гормон-рецепторного комплексу, внаслідок чого зменшується інтенсивність лінійного росту рослин (Anikina et al., 2015; Kuriata et al., 2016). Питання регуляції швидкості росту, морфогенезу, формування фотосинтетичного апарату, виходу рослин зі стану спокою мають велике значення у продукційному процесі різноманітних сільськогосподарських культур, однак у літературі практично відсутні дані про порівняльний аналіз дії гібереліну та антигіберелінових препаратів (ретардантів) на ці процеси (Mahmood et al., 2012; Pirasteh et al., 2012).

Надмірний ріст картоплі часто спричинює затримання бульбоутворення, пізніше формування бульб і зниження урожаю. Посилене проростання бульб у зимовий період зумовлює зменшення в них вмісту крохмалю, погіршення якості продукції. Тому розроблення способів регуляції росту, перерозподілу потоків асимілятів до господарсько-цінних органів – бульб, уповільнення їх проростання під час зберігання – важливе практичне завдання (Pavlista, 2013; Rogach and Rogach, 2015).

Мета цього дослідження – встановити особливості морфогенезу, функціонування донорно-акцепторної системи рослин картоплі у період росту та під час виходу зі стану спокою за впливу гібереліну та ретардантів.

Матеріал і методи досліджень

Польові дрібноділянкові досліди закладали на землях СФГ «Бержан П.Г.» (с. Горбанівка Вінницького р-ну Вінницької обл.) у вегетаційні періоди 2013–2015 років. Посадку картоплі середньораннього сорту Санте проводили 18.04.2013, 03.05.2014 та 12.05.2015 р. за схемою 70 × 30 см. Площа ділянок – 33 м^2, повторність досліду – п'ятиразова.

Рослини обробляли вранці за допомогою ранцевого оприскувача ОП-2 до повного змочування листків 0,005% розчином гіберелової кислоти (ГК3), 0,25% розчином хлормекватхлориду (ССС-750), 0,025% розчином тебуконазолу (EW-250) у фазу бутонізації 14.06.2013, 17.06.2014 та 19.06.2015 р. Контрольні рослини обприскували водопровідною водою. Фітометричні показники (висоту рослин, масу сухої та сирої речовини окремих органів та цілої рослини, площу листків) визначали на 20 рослинах. Упродовж вегетації визначали чисту продуктивність фотосинтезу (Bala et al., 2013).

Відбирання матеріалів для вивчення мезоструктури листка проводили у фазу початку бульбоутворення. Мезоструктуру листків дослідних рослин вивчали на фіксованому матеріалі. Для його консервації застосовували суміш рівних частин етилового спирту, гліцерину, води з додаванням 1% формаліну. Визначення розмірів клітин і товщини хлоренхіми здійснювали за допомогою мікроскопа Микмед-1 та окулярмікрометра МОВ-1-15х. Для мезоструктурного аналізу відбирали листки середнього ярусу (Bala et al., 2013). Вміст різних форм вуглеводів визначали за Починком, а азоту – методом К'єльдаля.

Визначення вмісту хлорофілів проводили у свіжому матеріалі спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-16 (Bala et al., 2013). Урожайність визначали методом підрахунку та зважування з кожної ділянки окремо. Для оцінювання впливу препаратів на швидкість виходу зі стану спокою бульби картоплі середньораннього сорту Поляна наприкінці лютого обприскували до повного змочування 0,05% водним розчином паклобутразолу, 0,5% водним розчином декстрелу, 1,0% водним розчином хлормекватхлориду та розчином гібереліну (ГК3) концентрації 150 мг/л. Контрольний варіант обробляли дистильованою водою. Бульби пророщували в темряві за кімнатної температури.

Інтенсивність вуглекислотного газообміну бульб картоплі вимірювали за допомогою інфрачервоного оптико-акустичного газоаналізатора ГИАМ-5М. Для цього бульби з паростками (4–5 шт.), розміщували в герметичному ексикаторі, через який продували атмосферне повітря зі швидкістю 2 л/хв. Під час визначення темнового дихання ексикатор накривали чорною тканиною, температура в камері – 20 ºС.

Результати досліджень обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0. Застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (відмінності між середніми значеннями вважали вірогідними за $P < 0,05$) (Van Emden, 2008). У таблицях і рисунках наведено середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки.

Результати та їх обговорення

Гіберелін та антигіберелінові препарати тебуконазол і хлормекватхлорид різнонаправлено впливали на лінійні розміри рослин картоплі сорту Санте. За дії гібереліну висота рослин картоплі перевищувала показник контролю на 17%, тоді як ретарданти зменшували висоту рослин на 16% (табл. 1). Аналогічний вплив ретардантів на рослини картоплі відмічали також інші дослідники (Tkachuk, 2015). Пришвидшення та гальмування ростових процесів за впливу різноспрямованих регуляторів росту супроводжувалися змінами у будові, розмірах і функціонуванні вегетативних та генеративних органів.

Суттєвих змін зазнавав листковий апарат дослідних рослин. Усі регулятори росту збільшували кількість листків на рослині. Найбільше даний показник зростав після застосування хлормекватхлориду (на 28%). Після обробки препаратами збільшувалася маса сирої речовини листків та, що надзвичайно важливо з погляду продуктивності культури, – площа листкової поверхні (Kur'jata and Rogach, 2009; Kumar et al., 2012).

Найбільшою була площа листя у рослин картоплі, які зазнали дії гібереліну, разом із тим ретарданти також збільшували цей показник. На нашу думку, через те, що застосування стимулятора прискорювало процеси росту та розвитку. Це викликало відповідні морфологічні зміни в листковому апараті. Застосування ретардантів зумовило зростання кількості листків, їх маси та площі. Це зумовлено гальмуванням активності апікальних меристем і, відповідно, посиленням функціонування маргінальних меристем з одночасним перерозподілом надлишку пластичних речовин на ріст листків. Подібні результати спостерігалися у працях інших авторів (Kur'jata and Polyvanyj, 2015; Kur'jata and Rogach, 2009).

Кількісною характеристикою концентрації структурних елементів, які беруть участь у фотосинтетичних процесах, є питома поверхнева щільність листка. Всі препарати збільшували цей показник унаслідок змін у мезоструктурі листка. Регулятори росту потовщували хлоренхіму листків та збільшували об'єм клітин стовпчастої паренхіми (табл. 1) (Kur'jata and Polyvanyj, 2015).

Таблиця 1

Морфофізіологічна характеристика рослин картоплі сорту Санте за дії регуляторів росту (фаза дозрівання бульб, середні дані за 2013–2015 рр., n = 20)

Показник	Контроль	$ГК_3$	EW-250	CCC-750
Висота рослини, см	50,2 ± 2,3	58,7 ± 2,4*	41,5 ± 2,0*	42,2 ± 2,0*
Кількість листків на рослині, шт.	47,7 ± 2,3	52,2 ± 2,2	51,4 ± 2,1	60,9 ± 2,9*
Маса сирої речовини листків, г	103,9 ± 5,0	117,4 ± 5,2	120,7 ± 5,9*	123,2 ± 6,0*
Площа листків, $см^2$	5 200 ± 253	6 969 ± 345*	6 493 ± 313*	6 059 ± 298*
Питома поверхнева щільність листка, $мг/см^2$	2,98 ± 0,12	3,07 ± 0,14	3,42 ± 0,15*	3,73 ± 0,13*
Об'єм клітин стовпчастої паренхіми, $мкм^3$	10 097 ± 438	12 347 ± 597*	15 562 ± 713*	11 529 ± 567
Довжина клітин губчастої паренхіми, мкм	20,2 ± 0,5	39,6 ± 1,2*	18,7 ± 0,6	27,9 ± 0,8*
Ширина клітин губчастої паренхіми, мкм	20,5 ± 0,4	32,9 ± 1,6*	21,1 ± 0,7	22,9 ± 0,9
Товщина хлоренхіми, мкм	165,0 ± 4,7	189,1 ± 8,4*	177,9 ± 3,2*	168,5 ± 2,3
Маса сухої речовини рослини, г	69,6 ± 3,3	98,8 ± 4,5*	136,0 ± 6,1*	114,8 ± 5,0*
Вміст суми хлорофілів (*a* + *b*), %	0,52 ± 0,02	0,46 ± 0,02*	0,63 ± 0,03*	0,58 ± 0,02
Чиста продуктивність фотосинтезу, $г/м^2 \cdot$добу	5,12 ± 0,22	7,40 ± 0,32*	13,68 ± 0,58*	12,23 ± 0,49*
Середній урожай бульб, ц/га	199,1 ± 8,9	265,2 ± 11,8*	265,6 ± 12,3*	231,6 ± 11,1

Примітка: * – різниця достовірна за $P < 0,05$.

Важливий показник, що впливає на продуктивність рослин, – вміст хлорофілів у листках. Результати наших досліджень свідчать, що упродовж вегетаційного періоду рістінгібувальні препарати збільшували вміст суми хлорофілів (*a* + *b*). У фазу дозрівання бульб застосування триазолпохідного ретарданту – тебуконазолу сума хлорофілів перевищувала контроль на 20%, а за дії онієвого препарату хлормекватхлориду на 12%. Аналогічні результати за дії ретардантів зафіксовані також іншими дослідниками (Baozhong et al., 2011; Kumar et al., 2012; Wang et al., 2016). Гіберелова кислота достовірно зменшувала вміст основного фотосинтетичного пігменту в листках картоплі. Аналогічні результати отримані на інших культурах (Kur'jata and Polyvanyj, 2015).

Головні показники, що характеризують біологічну продуктивність рослин, – динаміка накопичення сухої речовини рослинами та чиста продуктивність фотосинтезу. Як антигіберелінові препарати, так і гіберелова кислота збільшували масу сухої речовини рослин та чисту продуктивність фотосинтезу порівняно з контролем, але за дії ретардантів зростання цих показників суттєвіше, ніж за впливу гібереліну (Kur'jata and Polyvanyj, 2015; Tkachuk, 2015).

Модифікатори росту та розвитку рослин, впливаючи на морфологічні показники, зумовлюють зміни у накопиченні та розподілі різних форм вуглеводів і азотумісних сполук між органами рослин. Аналіз отриманих даних свідчить, що ретарданти зумовлювали достовірне зменшення вмісту цукрів у корінні рослин картоплі та збільшення вмісту крохмалю як у корінні, так і у стеблах. Це свідчить про інтенсивніше перетворення новоутворених цукрів на крохмаль. Підтвердження цього – вищі показники вмісту крохмалю у бульбах. У листках рослин, оброблених антигібереліновими препаратами, зростає вміст загального азоту за рахунок білкової його форми, що може свідчити про формування потужнішого фотосинтетичного апарату, добре забезпеченого ферментами та іншими білками. Такі результати чітко корелюють із мезоструктурними показниками листків рослин, які зазнали дії антигіберелінів (табл. 1).

Застосування гіберелової кислоти зменшувало вміст цукрів і крохмалю, а також загального азоту за рахунок його білкової форми в корінні, стеблах і листках, що, на нашу думку, пов'язано з посиленням ростових процесів у рослині за впливу препарату. Одночасно стимулятор росту збільшував вміст цукрів у бульбах, що можна вважати негативним наслідком застосування цього препарату (табл. 2).

Такі зміни морфометричних показників рослин картоплі та хімічного складу вегетативних органів створюють передумови для оптимізації продуктивності картоплі сорту Санте. Ретарданти тебуконазол, хлормекватхлорид і стимулятор росту гіберелова кислота підвищували продуктивність культури картоплі відповідно на 33%, 16% і 34% (Matysiak and Kaczmarek, 2013).

Передчасне проростання бульб у період зимового спокою спричинює втрати продукції та негативно впливає на її якісні характеристики. Гіберелін суттєво пришвидшує проростання, а представники різних класів ретардантів уповільнюють його (рис. 1).

Як видно з наведених даних, найсуттєвіше інгібував проростання триазолпохідний препарат паклобутразол. Таким чином, застосування ретардантів може стати ефективним засобом уповільнення проростання бульб у зимовий період, що дозволить уникнути втрат продукції. Інтенсивність дихання рослин тісно пов'язана з ростови-

ми процесами. Посилення росту інтенсифікує дихання. Застосування гібереліну та його антагоністів – ретардантів – дозволяє змоделювати такий тип розбалансування активності донора й акцептора, за якого зменшується попит на асиміляти основним акцептором – паростком, унаслідок гальмування активності його меристем. Аналіз отриманих даних свідчить про суттєві зміни дихання за дії препаратів (рис. 2).

Таблиця 2

Вплив регуляторів росту на вміст різних форм вуглеводів і азоту в листках рослин картоплі сорту Санте у фазу дозрівання бульб (% на суху речовину, середні дані за 2013–2015 рр., n = 5)

Орган	Показники	Контроль	Гіберелова кислота	Тебуконазол	Хлормекватхлорид
Коріння	сума цукрів	5,86 ± 0,15	5,52 ± 0,13	4,91 ± 0,11*	4,81 ± 0,11*
	крохмаль	10,61 ± 0,37	10,38 ± 0,39	12,63 ± 0,44*	13,21 ± 0,46*
	загальний азот	1,24 ± 0,04	1,16 ± 0,02	1,32 ± 0,02	1,37 ± 0,02*
	білковий азот	0,94 ± 0,04	0,92 ± 0,04	1,02 ± 0,05	1,01 ± 0,05
Стебло	сума цукрів	9,12 ± 0,41	8,38 ± 0,38	9,56 ± 0,42	9,32 ± 0,39
	крохмаль	4,55 ± 0,12	4,02 ± 0,11*	6,81 ± 0,22*	6,72 ± 0,26*
	загальний азот	1,45 ± 0,06	1,51 ± 0,07	1,72 ± 0,08	1,75 ± 0,08*
	білковий азот	1,15 ± 0,04	1,28 ± 0,04	1,35 ± 0,05*	1,32 ± 0,06
Листя	сума цукрів	4,02 ± 0,19	3,89 ± 0,15	4,13 ± 0,18	4,03 ± 0,16
	крохмаль	5,65 ± 0,23	2,13 ± 0,09*	4,79 ± 0,21	4,08 ± 0,17*
	загальний азот	3,21 ± 0,12	2,94 ± 0,11	3,61 ± 0,14	3,79 ± 0,15*
	білковий азот	2,52 ± 0,08	2,46 ± 0,07	3,12 ± 0,09*	3,14 ± 0,11*
Бульби	сума цукрів	4,05 ± 0,19	6,19 ± 0,28*	6,01 ± 0,25*	4,03 ± 0,18
	крохмаль	64,98 ± 3,13	66,81 ± 3,32	67,46 ± 3,35	64,81 ± 3,03
	загальний азот	0,99 ± 0,04	1,02 ± 0,05	0,91 ± 0,04	1,14 ± 0,05
	білковий азот	0,73 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,87 ± 0,04

Примітка: * – різниця достовірна при $P \leq 0,05$.

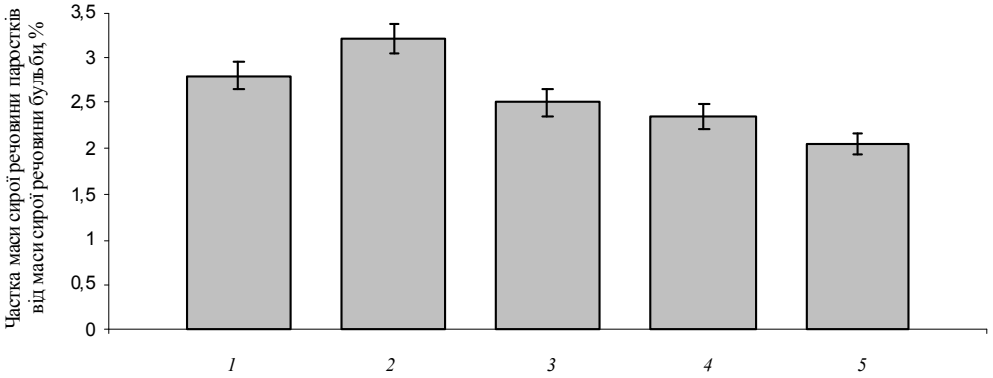


Рис. 1. Дія гібереліну та ретардантів на інтенсивність проростання бульб картоплі сорту Поляна:
1 – контроль, *2* – $ГК_3$ (150 мг/л), *3* – декстрел (0,5%), *4* – ССС (1%), *5* – паклобутразол (0,05%); 30-та доба проростання

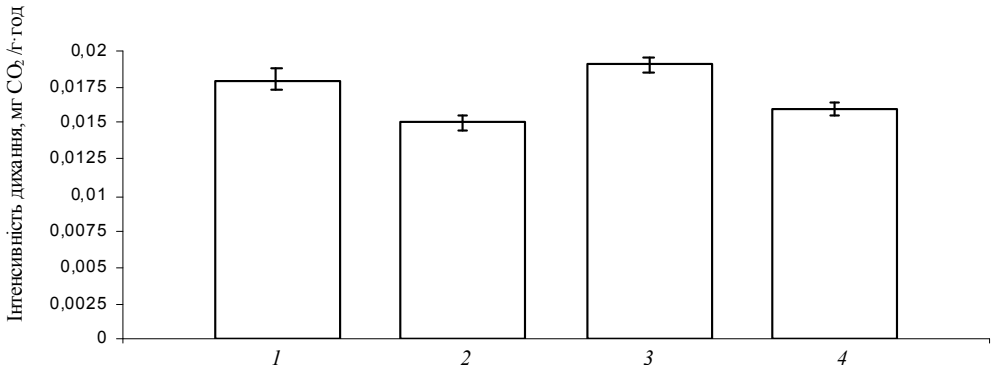


Рис. 2. Інтенсивність дихання бульб картоплі сорту Поляна за дії гібереліну та ретардантів:
1 – $ГК_3$ (150 мг/л), *2* – контроль, *3* – 0,05% паклобутразол, *4* – 1% хлормекватхлорид (40-а доба після обробки)

Застосування різних типів регуляторів росту незалежно від типу ростової реакції (пришвидшення проростання за дії ГК3 чи гальмування за дії ретардантів) зумовлювало посилення інтенсивність дихання, максимальне за впливу ГК3 і паклобутразолу. На нашу думку, посилення дихання за обробки гібереліном зумовлене зростанням інтенсивності проростання, в основі чого лежать гідроліз крохмалю, транспорт цукрів у паростки та новоутворення елементів структури вегетативного органа, що супроводжується підвищенням енерговитрат. Оскільки за дії паклобутразолу гідроліз крохмалю не супроводжується посиленням проростання через блокування активності

апікальних меристем паростка, утворюється надлишок доступних для дихання асимілятів. На відміну від інтенсифікації дихання за обробки гібереліном, де воно забезпечує енергією процеси росту, посилення дихання за обробки ретардантом можна вважати певною мірою «холостим ходом», що спалює надлишок розчинних цукрів, утворених унаслідок незворотного гідролізу крохмалю в бульбах. Тобто у цьому разі темнове дихання виступає як альтернативний росту акцептор (аналогічно інтенсифікації фотодихання в листках за умов гальмування відтоку асимілятів у разі зменшення на них попиту з боку акцепторів) (Kyryzyj, 2015). Частина асимілятів за дії паклобутразолу вторинно депонується в амілопластах, що й викликає збільшення їх кількості та об'єму в клітинах тканин паростків (Rogach et al., 2015).

Послаблення швидкості ростових процесів у рослин картоплі сорту Санте шляхом інгібування активності апікальних меристем за впливу інгібіторів синтезу гібереліну та посилення швидкості ростових процесів унаслідок застосування екзогенної гіберелової кислоти сприяло поліпшенню кількісних показників листкового апарату, збільшувало площу листя, чисту продуктивність фотосинтезту та продуктивність культури (Matysiak and Kaczmarek, 2013). Встановлено збільшення вмісту хлорофілів у рослин, оброблених триазолпохідним препаратом тебуконазолом і зменшення їх вмісту після застосування гіберелової кислоти.

Ретарданти достовірно зменшували вміст цукрів у корінні та збільшували вміст крохмалю у стеблах, корінні та бульбах. Антигіберелінові препарати зумовлювали зростання вмісту білкового азоту в листках. Гіберелова кислота зменшувала вміст крохмалю у стеблах і листках, а також збільшувала вміст цукрів у бульбах. Обробка бульб картоплі ретардантами у період зимового спокою уповільнює проростання, що сприяє збереженню продукції, на відміну від варіантів із гібереловою кислотою.

Висновки

Гіберелін та антигіберелінові препарати з різним механізмом дії зумовлювали зміни морфогенезу та продуктивності рослин картоплі сорту Санте. Тебуконазол і хлормекватхлорид зменшували лінійні розміри дослідних рослин, а гіберелова кислота збільшувала. Усі препарати збільшували масу сухої речовини цілої рослини, масу сирої речовини листків, площу листя, чисту продуктивність фотосинтезу, питому поверхневу щільність листка за рахунок потовщення хлоренхіми та зростання об'єму клітин стовпчастої паренхіми.

Хлормекватхлорид достовірно збільшував кількість листків на рослині, а тебуконазол – вміст суми хлорофілів у листках. За дії гіберелової кислоти кількість листків достовірно не змінювалася, вміст суми хлорофілів достовірно знижувався. За дії ретардантів відбувалося зменшення вмісту цукрів у коренях і збільшення вмісту крохмалю у стеблах, коренях і бульбах, збільшувався вміст білкового азоту в листках. Гіберелова кислота зменшувала вміст крохмалю у стеблах і листках, а також збільшувала вміст цукрів у бульбах.

Обробка бульб картоплі ретардантами в період зимового спокою гальмує їх проростання, що сприяє збереженню продукції. Застосування регуляторів росту позитивно вплинуло на урожайність культури. Найефективнішим було застосування тебуконазолу та гіберелової кислоти.

Бібліографічні посилання

Anikina, I., Bekseitov, T., Djaksybaeva, G., 2015. Use of the preparation chlormequat chloride to increase resistance of regenerated potato. Int. J. Pharm. Bio. Sci. 6(2), 417–422.

Bala, M., Gupta, S., Gupta, N.K., Sangha, M.K., 2013. Practicals in plant physiology and biochemistry. Scientific, Jodhpur.

Baozhong, Y., Yongsheng, Z., Yuechen, Z., 2011. Effects of plant growth regulators on growth and yields characteristics in adzuki beans (*Phaseolus angularis*). Front. Agric. China 5(4), 519–523.

Kumar, S., Sreenivas, G., Satyanarayana, J., Guha, A., 2012. Paclobutrazol treatment as a potential strategy for higher seed and oil yield in field-grown *Camelina sativa* L. Crantz. BSK Research Notes 5(1), 13.

Kur'jata, V.G., Polyvanyj, S.V., 2015. Potuzhnist' fotosyntetychnogo aparatu ta nasinnjeva produktyvnist' maku olijnogo za dii' retardantu folikuru. Fyzyologyja Rastenyj y Genetyka 47(4), 313–320.

Kur'jata, V.G., Rogach, T.I., 2009. Morfofiziologichni zminy u roslyn *Helianthus annuus* pid vplyvom hlormekvathlorydu. Visnyk Zaporiz'kogo Nacional'nogo Universytetu. Biologichni Nauky 2, 151–155.

Kyryzyj, D.A., 2015. Fotosyntez y rost rastenyj v aspekte donorno-akceptornih otnoshenyj. Logos, Kyiv (in Russian).

Mahmood, T., Farooq, M., Khokhar, M.A., Hussain, S.I., 2012. Plant growth regulators affecting sex expression of bottle gourd (*Lagenaria siceraria molina*) plants. Pakistan J. Agric. Res. 25(1), 50–54.

Matysiak, K., Kaczmarek, S., 2013. Effect of chlorocholine chloride and triazoles – tebuconazole and flusilazole on winter oilseed rape (*Brassica napus* var. *oleifera* L.) in response to the application term and sowing density. J. Plant Prot. Res. 53(1), 79–88.

Pavlista, A.D., 2013. Influence of foliar-applied growth retardants on russet burbank potato tuber production. Am. J. Potato Res. 90, 395–401.

Pirasteh Anosheh, H., Emam, Y., Ashraf, M., Foolad, M.R., 2012. Exogenous application of salicylic acid and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. Adv. Stud. Biol. 4(11), 501–520.

Rogach, V.V., Rogach, T.I., 2015. Vplyv syntetychnyh stymuljatoriv rostu na morfofiziologichni harakterystyky ta biologichnu produktyvnist' kul'tury kartopli [Influence of synthetic growth stimulators on morphological and physiological characteristics and biological productivity of potato culture]. Visn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 23(2), 221–224 (in Ukrainian).

Van Emden, H.F., 2008. Statistics for terrified biologists. Blackwell, Oxford.

Wang, Y., Gu, W., Xie, T., Li, L., Sun, Y., Zhang, H., Li, J., Wei, S., 2016. Mixed Compound of DCPTA and CCC increases maize yield by improving plant morphology and upregulating photosynthetic capacity and antioxidants. PLOS ONE 11(2):e0149404.

Надійшла до редколегії 04.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 421–429.

doi:10.15421/011657

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 598.2:502.742:574.472 (477.54)

Структура сообщества гнездящихся птиц байрачной дубравы долины реки Оскол

А.А. Атемасов[1, 2], Т.А. Атемасова[2], Т.Н. Девятко[2], Г.Л. Гончаров[2]

[1]Национальный природный парк «Двуречанский», Двуречное, Украина
[2]Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина

Настоящая работа является этапом исследования населения гнездящихся птиц естественных дубрав северо-востока Украины. Она выполнена в лесном массиве на южных границах Среднерусской возвышенности, на Приоскольском плато Среднедонской подпровинции Понтической степной провинции. Динамика общей плотности гнездящихся птиц за 2011–2015 гг. имеет максимум в 2013 г. (1 711 пар/км^2), средний показатель – 1 288 пар/км^2. Абсолютным доминантом во все годы являлся зяблик (21,2% в населении), субдоминанты – зарянка (11,2%), большая синица (10,5%) и мухоловка-белошейка (10,3%). Доминанты и субдоминанты составляют 32,2–54,7%. Более трети общей численности птиц составляют дуплогнездники (37,1%). Видов, гнездящихся в кроне 32,3%, наземногнездящихся – 25,3%. Охарактеризована географо-генетическая структура сообществ гнездящихся птиц: отмечено преобладание представителей неморального и древне-неморального фаунистического комплекса (в отдельные годы до 90,9% населения). Представители лесостепного фаунистического комплекса Европейского типа фауны составляют 3,6–9,5% населения гнездящихся птиц и в большинстве имеют статус третьестепенных видов. В состав третьестепенных видов помимо элементов неморального, древне-неморального и лесостепного комплексов входят виды из тропической и бореальной группировок. Значительная доля неморальных и древне-неморальных видов – комплекса, формировавшегося в широколиственных лесах, свидетельствует о происхождении исследуемого байрачного леса как остатка некогда обширных лесных массивов.

Ключевые слова: орнитофауна; гнездовое население; островные широколиственные леса

Structure of the community of nesting birds in a ravine oak wood in the valley of the Oskol river

A.A. Atemasov[1, 2], T.A. Atemasova[2], T.N. Devjatko[2], G.L. Goncharov[2]

[1]National Nature Park "Dvorichanskiy", Dvorichna, Ukraine
[2]V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

This investigation was carried out in a forest on the southern borders of the Central-Russian Upland, on the Prioskolsky plateau, in the Srednedonskoy subprovince of the Pontic steppe province. The aim of this work is to identify the peculiarities of structure and ways of formation of the breeding population of ravine oak forests on the border of two geographic zones. The objectives of the work were to describe quantitative and qualitative characteristics of the population of the nesting birds of ravine oak forests, as well as provide an analysis of the faunogenesic structure of the nesting bird population. To obtain data on the species composition and density of nesting birds we used the line transect method by D. Hayne – Y. Ravkin. The surveys were carried out in 2011–2015 three times per season (April to June). The indicators of the breeding density of each bird species and the totals for each year were calculated. The Polydominant Simpson index was used to characterize species diversity. To evaluate the uniformity we used the calibrated version of G 'Alatalo index F'. The calculations were performed using the program PAST. In total we observed 34 species of birds over the 5 years of research. The dynamics of the total

Национальный природный парк «Двуречанский», ул. Привокзальная, 51, пос. Двуречное, Харьковская обл., 62701, Украина
National Nature park "Dvourichans'ky", Privokzalna Str., 51, Dvorichna, 62701, Ukraine
E-mail: dvorichnpp@ukr.net

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61022, Украина
V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, 61022, Ukraine
E-mail: Andrey.A.Atemasov@univer.kharkov.ua

density of breeding birds in the period researched (2011–2015) showed a maximum in 2013 (1,711 pairs/km^2); the average index for the 5 years was 1,288 ± 133 pairs/km^2, which is similar to the characteristics of the populations of birds forests of the steppe zone (Donetsk Ridge, Azov Upland). The dominant and subdominant species comprised 32.2–54.7% of the population, indicating a balanced community, in spite of the insular nature of the forest. The absolute dominant in all years was the Chaffinch (an average of 21.2% of the population); subdominant species were the Robin (11.2%), Great Tit (10.5%) and the Collared Flycatcher (10.3%). Over a third of the total number of birds are the hollow-nesting birds (37.1%); species nesting in the crown were 32.3% and ground-nesting species 25.3%. The geographical and genesis structure of the communities of nesting birds are characterized by predominance of species from Nemoral and Ancient-Nemoral faunal assemblage (in some years up to 90.9% of the population). The species from the forest-steppe faunistic complex of the European type of fauna account for 3.6% to 9.48% of the population of nesting birds, and most of these have the status of third-degree (rare species). The composition of the group of third-degree species is highly diverse: in addition to the elements of Nemoral, Ancient-Nemoral and forest-steppe complexes, it includes species from the tropical and boreal groups. Among third-degree species there is a tendency to decrease in some species from the Nemoral faunal complex with a simultaneous increase in the forest-steppe faunistic component and increase in the homogeneity of the geography-genesis structure as a whole. The significant share of the population from the Nemoral and Ancient-Nemoral species complex, which formed in deciduous forests, is evidence of the origin of the researched ravine oak wood as a remnant of the once vast oak-forest areas.

Keywords: avifauna; nesting populations; island deciduous forests

Введение

Ландшафтная зональность дубрав склонового типа местности проявляется в склоновой микрозональности, разнообразии природно-территориальных комплексов, тесной связи лесных комплексов однонаправленными потоками вещества и энергии. Дубравы среднерусской лесостепи во многом предопределяют ландшафтное разнообразие и играют важную ландшафтно-стабилизирующую роль. От их устойчивости зависит ландшафтно-экологическая обстановка в регионе: совместно с разнотравно-злаковыми степями они образуют ведущее естественное звено ландшафтно-экологического каркаса (Michno, 2014). Защитная роль байрачных дубрав, произрастающих в балках, проявляется в их участии в регулировании стока с вышележащих полевых склонов и с собственной площади. Это гарантирует предотвращение оврагообразования и выноса биогенных веществ в реку. Соотношение ширины собственно дубравы к площади, для которой она служит буфером, составляет приблизительно 1 : 6. (Kalinichenko, 2000).

Еще Ф.Н. Мильков выделил четыре провинции в пределах Центральной Лесостепи (Mil'kov, 1950). Одна из них расположена на Среднерусской возвышенности. Она отличается почвенно-климатическими особенностями и историей формирования лесных сообществ (Vsevolodova-Perel' and Grjuntal', 1995). Именно здесь, в долине р. Оскол находится исследуемый нами участок.

Байрачные лесные массивы находятся в центре внимания исследователей ближнего и дальнего зарубежья, с одной стороны, как леса, имеющие противоэрозионные, аккумулятивные, водорегулирующие и рекреационные функции, с другой – как участки, недавно вошедшие в природно-заповедный фонд и находящиеся на начальной стадии восстановительной сукцессии (Rjabcev et al., 2011). Продуктивность байрачных дубрав рассмотрена на примере лесов, произрастающих в контрастных экологических условиях степной зоны. Насаждения в таких лесах, как правило, одноярусные, семенное возобновление затруднено, а возраст естественной спелости наступает раньше (Evchenko, 2007). Все это не может не влиять на особенности всех групп биоты, в том числе – и на сообщество гнездящихся птиц.

Важным аспектом является изучение биоты байрачных лесов как островных местообитаний. Они рассматриваются как естественные участки, сформированные путем заноса семенного материала в верховья оврагов, или лесные «острова», образовавшиеся в результате фрагментации более обширных дубрав, произошедшей за последние 200–300 лет (Lichtein et al., 2002). Леса в условиях современного теплого и сухого климатического интервала оказываются особенно неустойчивыми по отношению к антропогенному воздействию. При значительном сокращении площадей лесные сообщества оказываются в положении изолятов, снижается их внутреннее разнообразие и способность восстанавливаться при вторичных воздействиях (Baryshnikova et al., 2009). Эффекты фрагментации называются одной из существенных проблем консервационной биологии (Nikolov, 2013). Структура сообществ гнездящихся птиц рассматривается как инструмент для оценки чувствительности таких лесов к фрагментации (Martı'nez-Morales, 2005), поскольку различные виды птиц по-разному реагируют на сокращение лесов. Это проверено с использованием такого показателя как масса тела (Brown and Sullivan, 2005). Рассматриваются также эффекты редукции местообитаний на биоту в целом: на виды-генералисты и узкоспециализированные, видовое богатство и обилие отдельных групп (Teyssèdre and Robert, 2014).

Таким образом, байрачные дубравы Харьковской области, расположенные в переходной полосе между Лесостепью и Степью, можно рассматривать, с одной стороны, как остатки некогда обширных лесных массивов, а с другой – как результат проникновения лесной растительности в степь – когда в верховьях степных балок формируются дубравы семенного происхождения.

Формирование населения птиц таких лесов происходит за счет видов, характерных для фауны сплошных лесных массивов, толерантных к сокращению площади; а во вновь формирующихся лесах – за счет вселения видов из ближайших лесных участков, в том числе вдоль лесополос. В работе А.Е. Лугового с соавторами (Lugovoj et al., 1978) показано обеднение орнитофауны по количественным и качественным показателям в ряду широколиственных лесов – от сплошных лесных массивов к островным лесам и байракам в бассейне р. Сура в Лесостепной провинции Приволжской возвышенности на границе со степной зоной. Позже выявлена тенденция изменения численности гнездящихся видов птиц и видового разнообразия с усилением вертикальной и горизонтальной неоднородности растительных сообществ дубовых лесов южной части Приволжской возвышенности (Piskunov and Davidenko, 2010).

Фауна птиц и структура населения гнездящихся птиц байрачных дубрав в среднем течении Северского Донца изучались авторами с 2000 года. Исследуемые ранее участки относились к Валки-Змиевскому физико-географическому району южных отрогов Среднерусской возвышенности. Здесь отмечено 46 видов птиц, преимущественно обитателей широколиственных лесов (Atemasova, 2011). Настоящая работа является очередным этапом исследования населения гнездящихся птиц естественных дубрав Северо-Восточной Украины. Она выполнена в лесном массиве на южных границах Среднерусской возвышенности, на Приоскольском плато Среднедонской подпровинции Понтической степной провинции.

Цель данной статьи – выявить особенности структуры и возможные пути формирования гнездового населения байрачной дубравы на границе двух природных зон. В задачи работы входило описать качественные и количественные характеристики населения гнездящихся птиц байрачного леса, а также провести анализ фауногенетической структуры гнездового населения птиц.

Материал и методы исследований

Исследуемая дубрава является одним из наиболее крупных (516 га) байрачных лесов на востоке Харьковской области Украины. Она расположена в административных границах Двуречанского района в северо-восточной части Харьковской области на территории Национального природного парка «Двуречанский» в урочище Лес Заливной. Из 152 указанных в аннотированном списке птиц НПП «Двуречанский» (Banik et al., 2014) в байрачных дубравах гнездится 46 видов, включая редких (ястреб-перепелятник, вальдшнеп, малая мухоловка) и исчезнувших в настоящее время (мухоловка-пеструшка). Нами в исследуемом лесном массиве зарегистрировано 34 вида птиц.

Описываемая дубрава расположена на правом крутом берегу р. Оскол, в верховьях балки. Широколиственные леса на правобережье р. Оскол, согласно геоботаническому районированию Украины, относятся к Среднедонской подпровинции Понтической степной провинции Северскодонецкого геоботанического округа разнотравно-типчаково-ковыльных степей, байрачных дубовых лесов и растительности меловых выходов (Didukh and Shelyag-Sosonko, 2003). Географическое расположение исследуемого участка совпадает с границей лесостепной и степной зон, характеризующейся резкими отличиями по ряду факторов, прежде всего по влажности и почвенным характеристикам (Ostrivnaya and Didukh, 2005).

В пределах Национального природного парка «Двуречанский» расположено несколько оврагов (на правом берегу р. Оскол), занятых байрачными лесами, созданными дубом обыкновенным (*Quercus robur* Linnaeus, 1753) и ясенем высоким (Fraxinus excelsior Linnaeus, 1753). Они имеют ценотические и флористические черты, присущие как нагорным лесостепным дубравам, так и байрачным степным, что обусловлено расположением парка на границе двух зон (Лесостепи и Степи).

Согласно классификации А.Л. Бельгарда (Belgard, 1950), исследуемый лесной массив представляет собой байрачный лес (D_{ac}), сочетающий в себе несколько гигротопов: в верховьях балки расположены ксеромезофильная (1–2) свежеватая липо-ясеневая дубрава с пушистой осокой; ниже – мезофильная (2) свежая липо-ясеневая дубрава со звездчаткой, которая переходит в гигромезофильную (2–3) влажноватую липо-ясеневую дубраву с широкотравьем и, в устье балки, – мезогигрофильную (3) влажную липо-ясеневую дубраву со снытью.

Для получения данных о видовом составе и плотности гнездования птиц использован маршрутный метод Хейна – Равкина (Ravkin, 1967; Vergeles, 1994). Учеты проводились в 2011–2015 гг. трижды за сезон (с апреля по июнь).

При использовании раздельного пересчета всех птиц в зависимости от расстояния обнаружения группировали по следующим интервалам:

1) от 0 до 12,5 м от учетчика;
2) от 12,5 до 25 м;
3) от 25 до 50 м;
4) от 50 до 100 м;
5) от 100 до 250 м;
6) свыше 250 м от учетчика.

Расчет плотности населения проводился для каждого вида отдельно по интервалам дальности обнаружения; за пару принимались поющие самцы, две взрослые птицы, жилое гнездо, выводок (птенцы в расчет не включались).

Показатели плотности гнездования каждого вида птиц рассчитывались по формуле:

$$D_i = \frac{40n_{i1} + 20n_{i2} + 10_{i3} + 5_{i4} + 2n_{i5} + 0{,}5n_{i6}}{L},$$

где D_i – плотность населения i-го вида (пар/км^2), n_{ij} – число пар i-го вида, встреченные в j-м интервале (j = 1, 2, 3, …, 6), L – протяженность маршрута.

Для характеристики видового разнообразия использовались индекс полидоминантности Симпсона: $D' = 1/\sum p_i^2$, где p_i – относительное обилие вида i, и информационная мера Шеннона – Уивера: $H' = -\sum p_i \ln p_i$.

Для оценки выравненности использовался откалиброванный вариант G' (Molinari, 1989) индекса Алатало F' (Alatalo and Alatalo, 1977; Alatalo, 1981), для расчета которого используются оба вышеприведенные индексы:

$$F' = (D' - 1)/(\exp(H') - 1),$$

при $F' > ½$ $G' = (\arcsin F'/90)/F'$ при $F' \le ½$ $G' = F'$. Расчеты выполнены при помощи программы PAST (Hammer et al., 2001).

Доминантами по обилию считали виды, участие которых в населении составляло 10% и более (в этой группе выделяли также субдоминанты), второстепенными – от 1 до 10%, третьестепенными – менее 1% (Kuzjakin, 1962). Типы фауны птиц приведены по Б.К. Штегману (Shtegman, 1938). Распределение видов по географо-генетическим группам производили на основе работы В.П. Белика (Belik, 2000). Всего зарегистрированы представители неморального, древне-неморального и лесостепного фаунистических комплексов, а также бореальной и тропической фаунистических групп.

Результаты и их обсуждение

Всего за пять лет отмечено 34 вида птиц из отрядов Columbiformes (2 вида), Cuculiformes (1 вид), Piciformes

(5 видов) и Passeriformes (25 видов), подотряда Upupiformes (1 вид). В отдельные годы отмечено от 25 до 34 видов. Средняя плотность населения гнездящихся птиц за пять лет составила 1 288 ± 133 пар/км^2 (табл. 1, 2). Максимальная плотность населения отличается от минимальной в 1,89 раза. В разные годы число и состав доминантов претерпевали изменения, но абсолютным доминантом во все годы являлся зяблик (от 16,9 до 25,3; в среднем 21,2% в населении). По усредненным данным, за пять лет субдоминантами являются зарянка (11,2%), большая синица (10,5%) и мухоловка-белошейка (10,3%) (табл. 2, 3). Среди второстепенных видов наиболее многочисленны лазоревка (5,6%) и славка-черноголовка (5,3%), в отдельные годы – певчий дрозд (до 6,1%), пеночка-трещотка (до 6,9%), пеночка-теньковка (до 5,2%), поползень (до 6,3%), обыкновенная овсянка (до 7,6%) и дубонос (до 7,0%).

Таблица 1

Основные параметры структуры сообществ птиц байрачной дубравы

Параметры	2011	2012	2013	2014	2015	За 5 лет
Общая плотность населения гнездящихся птиц, пар/км^2	905	1 389	1 711	1 159	1 274	1 288 ± 133
Число гнездящихся видов	25	29	33	26	29	34
Число видов-доминантов и субдоминантов	2	3	2	4	3	4
Относительное обилие доминантов и субдоминантов, %	42,3	44,8	32,3	54,8	48,1	53,2
Индекс видового разнообразия Шеннона – Уивера	2,45	2,63	2,81	2,58	2,54	2,81
Индекс полидоминантности Симпсона	7,98	10,28	11,26	10,10	9,03	11,40
Индекс выравненности Алатало	0,287	0,346	0,283	0,366	0,315	0,292

Таблица 2

Видовой состав и гнездовое население птиц байрачной дубравы в долине р. Оскол

Вид	Плотность гнездования пар/км^2					Среднее
	2011	2012	2013	2014	2015	
Columba palumbus Linnaeus, 1758	–	0,77	0,19	–	0,77	0,35 ± 0,18
Streptopelia turtur (Linnaeus, 1758)	1,92	–	–	–	0,77	0,54 ± 0,38
Cuculus canorus (Linnaeus, 1758)	0,77	0,19	0,77	0,77	0,19	0,54 ± 0,14
Upupa epops (Linnaeus, 1758)	–	0,19	0,25	–	0,19	0,13 ± 0,05
Jynx torquilla (Linnaeus, 1758)	–	0,77	3,85	0,19	0,96	1,15 ± 0,70
Picus canus Gmelin, 1788	–	–	5,96	–	–	1,19 ± 1,19
Dendrocopos major (Linnaeus, 1758)	7,69	30,77	44,42	15,38	3,85	20,42 ± 7,57
D. medius (Linnaeus, 1758)	–	48,08	15,38	1,92	3,85	13,85 ± 8,97
D. minor (Linnaeus, 1758)	1,92	33,46	31,54	7,31	2,69	15,38 ± 7,05
Anthus trivialis (Linnaeus, 1758)	4,62	3,85	5,77	25,00	13,46	10,54 ± 4,00
Erithacus rubecula Linnaeus, 1758	153,85	186,54	119,23	117,31	107,69	136,92 ± 14,66
Luscinia luscinia (Linnaeus, 1758)	19,23	4,04	15,38	23,08	1,92	12,73 ± 4,18
Turdus merula Linnaeus, 1758	29,62	11,54	61,00	24,62	17,31	28,82 ± 8,62
T. philomelos Brehm, 1831	12,31	49,62	105,00	2,88	24,23	38,81 ± 18,31
Locustella fluviatilis (Wolf, 1810)	–	–	3,85	–	–	0,77 ± 0,77
Sylvia atricapilla (Linnaeus, 1758)	30,77	48,08	100,00	69,23	101,92	70,00 ± 14,03
Phylloscopus collybita (Vieillot, 1817)	46,92	60,38	87,31	38,46	34,42	53,50 ± 9,55
Ph. sibilatrix (Bechstein, 1793)	62,31	23,85	21,15	3,85	68,85	36,00 ± 12,60
Ficedula albicollis (Temminck, 1815)	86,54	96,15	84,62	186,54	178,85	126,54 ± 23,04
F. parva (Bechstein, 1792)	1,92	8,46	40,00	–	15,38	13,15 ± 7,23
Parus montanus (Conrad von Baldenstein, 1827)	3,85	–	79,62	–	–	16,69 ± 15,75
P. major Linnaeus, 1758	65,38	168,85	173,85	135,00	143,46	137,31 ± 19,42
P. caeruleus Linnaeus, 1758	19,23	134,62	30,77	103,85	69,23	71,54 ± 21,71
Sitta europaea Linnaeus, 1758	17,31	38,46	37,31	59,62	80,77	46,69 ± 10,83
Certhia familiaris Linnaeus, 1758	9,62	11,54	21,15	26,92	23,08	18,46 ± 3,36
Emberiza citrinella Linnaeus, 1758	68,85	40,00	57,69	61,54	23,85	50,38 ± 8,16
Fringilla coelebs (Linnaeus, 1758)	229,23	266,73	377,50	195,19	290,00	271,73 ± 30,99
Chloris chloris (Linnaeus, 1758)	–	3,85	5,77	15,38	17,31	8,46 ± 3,36
Carduelis carduelis Linnaeus, 1758	–	1,92	15,38	7,69	7,69	6,54 ± 2,69
C. coccothraustes (Linnaeus, 1758)	23,08	92,50	120,00	15,38	30,77	56,35 ± 20,97
Oriolus oriolus (Linnaeus, 1758)	3,85	7,12	25,00	2,69	10,77	9,88 ± 4,03
Garrulus glandarius (Linnaeus, 1758)	3,85	16,15	20,00	19,23	0,19	11,88 ± 4,12
Corvus corax (Linnaeus, 1758)	0,19	0,19	0,96	0,19	–	0,31 ± 0,17
C. cornix (Linnaeus, 1758)	–	–	0,77	–	–	0,15 ± 0,15

При анализе структуры населения по типу гнездования выделены такие экологические группы: дуплогнездники, гнездящиеся в кроне деревьев, гнездящиеся в ярусе подроста и подлеска, гнездящиеся на земле (табл. 4). Дуплогнездники представлены 13 видами (37,1% общей численности), гнездящиеся в кроне деревьев – 11 (32,3%), в кустарниковом ярусе – 2 (5,4%), наземногнездящиеся – 7 видами (25,3%). При анализе структуры населения по типу питания выделены следующие экологические группы: облигатные потребители беспозвоночных, факультативные потребители беспозвоночных и семеноядные. По количеству видов и по плотности населения домини-

рует группа облигатных потребителей беспозвоночных – 24 вида (68,4%). Факультативных потребителей беспозвоночных и семеноядных – по 5 видов (26,4% и 5,2% общей численности соответственно). При анализе структуры населения по дальности миграции выделены следующие экологические группы: дальние мигранты, ближние мигранты и оседлые (кочующие) виды. Ближние мигранты представлены 6 видами (43,5%), дальних мигрантов и оседлых – по 14 видов (29,3% и 27,2% общей численности соответственно).

Таблица 3

Динамика относительного обилия видов в гнездовом населении птиц байрачной дубравы

Вид	Относительное обилие видов, %					Среднее
	2011	2012	2013	2014	2015	
Columba palumbus	–	0,06	0,01	–	0,06	0,03 ± 0,01
Streptopelia turtur	0,21	–	–	–	0,06	0,05 ± 0,04
Cuculus canorus	0,09	0,01	0,04	0,07	0,02	0,05 ± 0,01
Upupa epops	–	0,01	0,01	–	0,02	0,01 ± 0,01
Jynx torquilla	–	0,06	0,22	0,02	0,08	0,07 ± 0,04
Picus canus	–	–	0,35	–	–	0,07 ± 0,07
Dendrocopos major	0,85	2,22	2,60	1,33	0,30	1,46 ± 0,42
D. medius	–	3,46	0,90	0,17	0,30	0,97 ± 0,64
D. minor	0,21	2,41	1,84	0,63	0,21	1,06 ± 0,45
Anthus trivialis	0,51	0,28	0,34	2,16	1,06	0,87 ± 0,35
Erithacus rubecula	17,00	13,43	6,97	10,12	8,45	11,19 ± 1,81
Luscinia luscinia	2,13	0,29	0,90	1,99	0,15	1,09 ± 0,41
Turdus merula	3,27	0,83	3,56	2,12	1,36	2,23 ± 0,53
T. philomelos	1,36	3,57	6,14	0,25	1,90	2,64 ± 1,02
Locustella fluviatilis	–	–	0,22	–	–	0,04 ± 0,04
Sylvia atricapilla	3,40	3,46	5,84	5,97	8,00	5,34 ± 0,87
Phylloscopus collybita	5,19	4,35	5,10	3,32	2,70	4,13 ± 0,49
Ph. sibilatrix	6,89	1,72	1,24	0,33	5,40	3,11 ± 1,28
Ficedula albicollis	9,56	6,92	4,94	16,09	14,03	10,31 ± 2,10
F. parva	0,21	0,61	2,34	–	1,21	0,87 ± 0,42
Parus montanus	0,43	–	0,46	–	–	1,02 ± 0,91
P. major	7,23	12,16	10,16	11,65	11,26	10,49 ± 0,88
P. caeruleus	2,13	9,69	1,80	8,96	5,43	5,60 ± 1,65
Sitta europaea	1,91	2,77	2,18	5,14	6,34	3,67 ± 0,88
Certhia familiaris	1,06	0,83	1,24	2,32	1,81	1,45 ± 0,27
Emberiza citrinella	7,61	2,88	3,37	5,31	1,87	4,21 ± 1,02
Fringilla coelebs	25,33	19,21	22,06	16,84	22,76	21,24 ± 1,47
Chloris chloris	–	0,28	0,34	1,33	1,36	0,66 ± 0,28
Carduelis carduelis	–	0,14	0,90	0,66	0,60	0,46 ± 0,17
C. coccothraustes	2,55	6,66	7,01	1,33	2,41	3,99 ± 1,18
Oriolus oriolus	0,43	0,51	1,46	0,23	0,85	0,70 ± 0,22
Garrulus glandarius	0,43	1,16	1,17	1,66	0,02	0,89 ± 0,29
Corvus corax	0,02	0,01	0,06	0,02	–	0,02 ± 0,01
C. cornix	–	–	0,04	–	–	0,01 ± 0,01

Таблица 4

Структура населения гнездящихся птиц байрачного леса в долине р. Оскол

Параметры		Плотность гнездящихся видов, пар/км^2					Среднее	CV, %
		2011	2012	2013	2014	2015		
По типу гнездования	крона	304,0	446,5	725,8	267,9	382,5	425,3	43
	дупло	213,5	571,3	568,7	536,7	522,3	482,5	31
	кустарник	30,8	48,1	103,8	69,2	101,9	70,8	46
	приземный ярус	355,8	322,5	312,3	284,6	267,5	308,5	11
По типу питания	облигатный	577,7	966,5	1 113,2	844,6	903,1	881,0	22
	факультативный	302,1	323,1	456,9	276,1	314,0	334,5	21
	семеноядный	25,0	99,0	141,3	36,5	57,3	72,2	67
По дальности миграции	дальние	271,1	302,7	492,9	352,7	451,9	374,3	25
	ближние	504,6	601,1	741,2	429,4	486,9	552,7	22
	оседлые	129,0	484,8	477,3	377,1	335,6	360,8	40

Относительно небольшая площадь и островной характер байрачных дубрав обусловливают наличие лесных видов с высокой толерантностью к фрагментации местообитаний. Таким видом выступает зяблик, доминирующий во всех типах лесных экосистем. Большая синица, обычно выступающая субдоминантом в населении дубрав, в исследуемом участке в 2011 г. зарегистрирована в небольшом количестве и имеет для этого сезона статус второстепенного вида. Зарянка входит в состав субдоминантов в годы с относительно невысоким раз-

нообразием (2011, 2012, 2015); доля в сообществе мухоловки-белошейки позволяет внести ее в состав субдоминантов только в последние два года (2014–2015).

Структура сообщества гнездящихся птиц исследуемой дубравы характеризуется максимальным показателем разнообразия в гнездовом сезоне 2013 года. Именно для этого сезона характерен минимальный показатель доли доминантов и субдоминантов (рис. 1). В гнездовом сезоне 2013 г. максимальные показатели плотности характерны для таких видов как дубонос, певчий дрозд, черный дрозд, большой пестрый дятел, вертишейка, малая мухоловка, иволга, щегол. Только в 2013 г. в исследуемом байрачном лесу зарегистрирован седой дятел, видимо, проникший сюда из полосы пойменного леса.

Увеличение разнообразия и плотности в 2013 г. произошло в первую очередь за счет видов, гнездящихся в кроне, и во вторую – за счет гнездящихся в кустарнике (рис. 2). Растет численность типично лесного вида – черноголовой славки. В.П. Белик (Belik, 2000) считает, что этот вид наряду с обыкновенным канюком, черным и певчим дроздами находит свой оптимум именно в байрачных лесах. По данным наших предыдущих исследований (Atemasova, 2011), черноголовая славка относится к видам, устойчивым к сокращению площади лесного массива, а увеличение показателя доли в сообществе этого вида говорит о стремительном развитии кустарникового яруса. Одновременно происходит увеличение степени затенения наземного яруса, что находит свое отражение в снижении доли участия в сообществе наземногнездящихся видов. Доля дуплогнездников в целом растет, обогащая сообщество, что свидетельствует о старении лесного массива и об отсутствии уборки дуплистых деревьев вследствие введения охранного режима (рис. 2).

Резкое увеличение общей доли оседлых видов в 2012 г. произошло вследствие увеличения доли в сообществе таких видов как лазоревка, большая синица, дубонос, большой пестрый дятел, малый пестрый дятел, средний пестрый дятел (рис. 3).

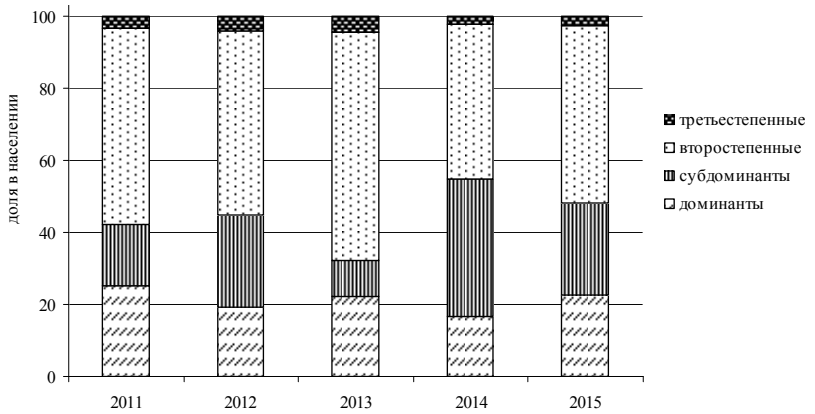


Рис. 1. Динамика структуры доминирования в населении птиц байрачной дубравы

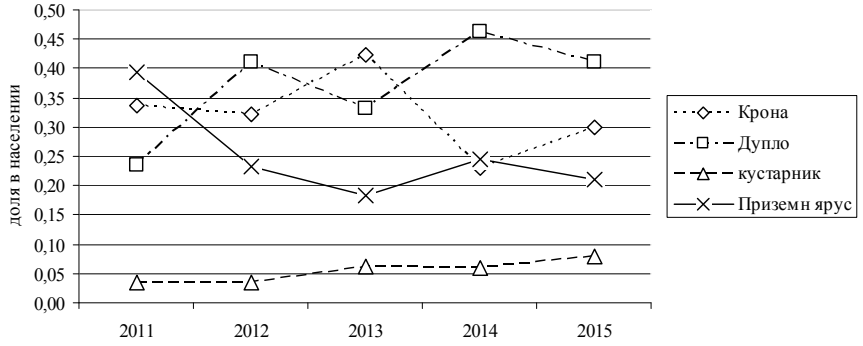


Рис. 2. Динамика распределения топических групп в населении птиц байрачной дубравы

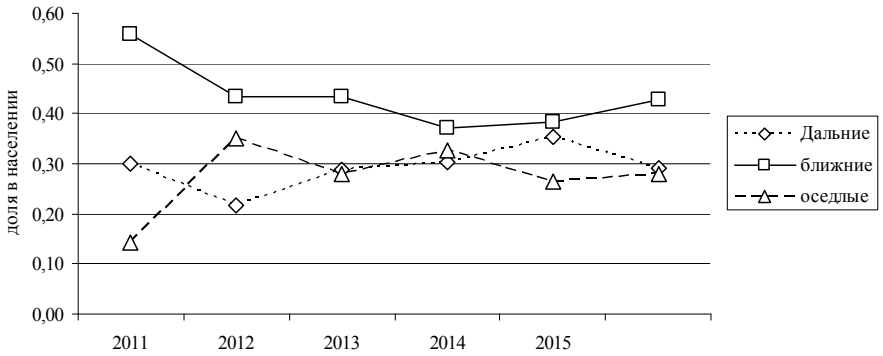


Рис. 3. Динамика структуры населения по дальности миграции

Географо-генетическая структура исследуемого сообщества, как и следовало ожидать, содержит подавляющее большинство элементов, относящихся к неморальному фаунистическому комплексу Европейского типа фауны (рис. 4). Это комплекс видов, присущих гумидным широколиственным лесам, попадающих в лесостепную зону из зональных широколиственных лесов, хорошо адаптирующихся к специфическим условиям байрачных лесов лесостепи и степи – относительно небольшой площади лесных массивов, большой протяженности опушечной полосы, густого плотного древостоя и менее чем в других дубравах развитой ярусности (Belik, 2000).

Второе место по обилию вслед за представителями неморального фаунистического комплекса занимают виды древне-неморального фаунистического комплекса (7–16% в населении) – дубонос, поползень, большой пестрый дятел, пищуха, малый пестрый дятел, сойка, седой дятел (рис. 4). Среди группы второстепенных видов они присутствуют в разные годы неравномерно.

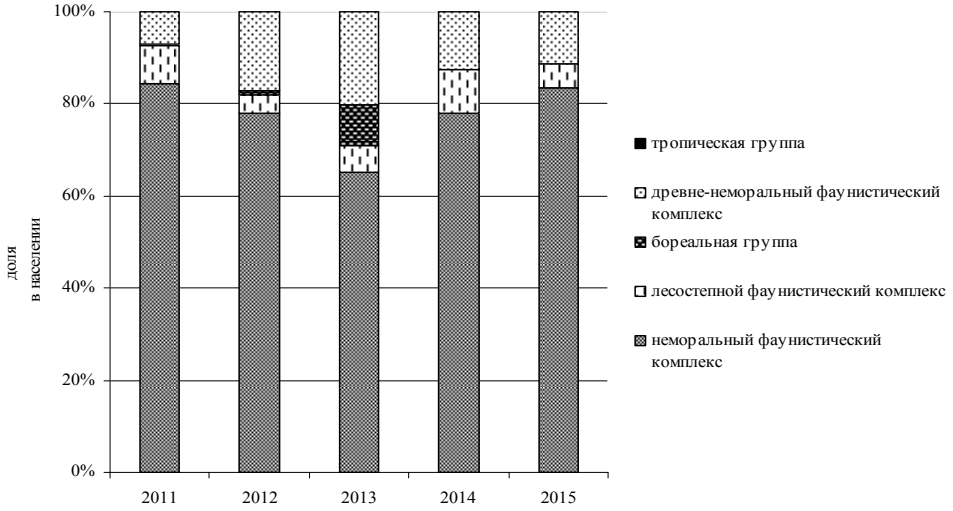


Рис. 4. Динамика географо-генетической структуры населения птиц исследуемой дубравы

В.П. Белик (Belik, 2000) предполагает, что это – уцелевшие третичные реликты Тургайских лесных комплексов, объединяемые в особый древний Европейско-Китайский тип фауны. Увеличение разнообразия сообщества гнездящихся птиц в 2013 г. среди второстепенных видов происходило за счет увеличения доли представителей бореальной группировки (пухляк, малая мухоловка, ворон), однако в последующие годы эта группа представлена слабо.

Представители лесостепного фаунистического комплекса Европейского типа фауны, наличие которых теоретически ожидаемо в подобных лесных массивах с большой протяженностью опушечной полосы, составляют в разные годы 3,64–9,48% в населении гнездящихся птиц и в большинстве имеют статус третьестепенных видов. В сезонах 2014–2015 гг. доля именно этой группы среди третьестепенных видов наиболее значительна.

Географо-генетический состав третьестепенных видов наиболее разнообразен: помимо элементов неморального (0,43–1,80%), древне-неморального (0,57–1,49%) и лесостепного (0,68–1,59%) комплексов здесь присутствуют такие представители тропической группировки как удод и кукушка (0,02–0,09%), а также бореальной фаунистической группировки – серая ворона, малая мухоловка (0,02–0,62%).

Соотношение различных географо-генетических групп среди третьестепенных видов имеет тенденцию к увеличению однородности с уменьшением неморального и увеличением лесостепного компонента в этой группе.

Для определения возможных причин динамики сообщества использован дисперсионный тест (Schluter, 1984), суть которого в следующем. Если виды флуктуируют независимо друг от друга, дисперсия их суммарной численности равна сумме дисперсий численностей каждого в отдельности. Если численность видов коварьирует отрицательно, то есть преобладают компенсаторные флуктуации, отношение дисперсии суммы к сумме дисперсий будет достоверно ниже единицы. В случае преобладания параллельных флуктуаций отношение достоверно выше единицы. Для изучаемого сообщества отношение дисперсии суммарной численности к сумме дисперсий численностей видов составило 3,82 ($P < 0,05$), что свидетельствует о преобладании параллельных флуктуаций численности видов, вызывающих межгодовые колебания общей численности. Наиболее вероятным фактором, вызывающим параллельные межгодовые флуктуации численности, может быть размножение листогрызущих насекомых.

Дисперсионный тест также применен для определения влияния на структуру сообществ птиц факторов, действующих вне периода гнездования (в периоды миграции и зимовки). Для оседлых и кочующих видов отношение дисперсии суммарной численности к сумме дисперсий численностей видов равно 2,90 ($P < 0,05$), что свидетельствует о преобладании параллельных флуктуаций. Вероятно, это связано с зависимостью гнездовой численности некоторых оседлых и кочующих видов от неблагоприятных условий в зимний период (частая смена сильных заморозков и резких потеплений в течение зимнего периода и т.п.).

При сравнении полученных данных с данными 1992 г. (Gudina, 1993) достоверных различий в структуре сообщества не обнаружено (парный t-критерий, $P > 0,10$). Исчезла с гнездования мухоловка-пеструшка, что не удивительно, учитывая повсеместное падение численности в Харьковской области (Atemasov, 2013). В послед-

ние годы на территории НПП «Двуречанский» и в его окрестностях встречи этого вида в гнездовое время неизвестны (Banik et al., 2014).

Для нагорно-байрачных лиственных лесов Курской области показатель плотности гнездового населения птиц составляет 367 пар/км^2 (Chernyshev, 2010). Для нагорных и водораздельных дубрав Харьковской области общая плотность гнездового населения указывается 780 ± 89 пар/км^2, для байрачных дубрав – 517–800 пар/км^2 (Vergeles, 1993). Средняя плотность населения гнездящихся птиц за пять лет в исследуемом нами массиве варьировала от 905 до 1 711 пар/км^2 и составила в среднем 1 288 ± 133 пар/км^2. В байрачных лесах Приазовской возвышенности и Донецкого кряжа плотность гнездящихся птиц сравнима с нашими данными: 990 и 1236 пар/км^2 соответственно (Pilipenko, 2009). Таким образом, имеет место нарастание плотности гнездящихся птиц в лесах островного типа лесостепной и степной зон в направлении север – юг и юго-восток.

Вопросы происхождения дубрав Лесостепи подробно анализируются в литературе (Kharchenko, 2014). В истории развития фауны Лесостепи и Степи большой след оставило третичное оледенение. И.К. Пачосский (1910) на основании анализа флоры и характера распределения ископаемых остатков растений предположил, что в доледниковом ландшафте вся Средняя Европа представляла собой Лесостепь – следовательно, островные леса представляют собой эталон Лесостепи, широко представленный в доледниковый период. По мнению Б.А. Келлера (1951), байрачные леса стали формироваться и расселяться после ледниковой эпохи: «наши дубравы – это ушедшие далеко на восток острова среднеевропейских широколиственных лесов» (цит. по Kharchenko, 2014).

Виды-доминанты (32,2–54,7% в населении) являются по происхождению неморальными, они толерантны к площади лесного массива. Второстепенные виды неморального происхождения составляют в разные годы 33,2–48,8%. В целом доля неморальных видов в населении в некоторые годы доходит до 83,9%.

Представители лесостепного комплекса представлены второстепенными (обыкновенная овсянка – 1,9–7,6%, в отдельные годы – зеленушка до 2,2% и лесной конек – до 1,3%) и третьестепенными (лесной конек, щегол, обыкновенная горлица, вяхирь, зеленушка) видами. Суммарная доля видов, относящихся к лесостепному фаунистическому комплексу, составляет в разные годы 3,6–9,5% в населении гнездящихся птиц.

Выводы

Исследуемый лесной биогеоценоз характеризуется в целом устойчивым и разнообразным орнитосообществом, включающим преимущественно виды неморального фаунистического комплекса Европейского типа фауны, что характеризует его как часть среднеевропейских широколиственных лесов. Доминанты и субдоминанты в исследуемом сообществе составляют 32,2–54,7% в населении, что свидетельствует о его сбалансированности, несмотря на островной характер лесного массива. Группа доминантов и субдоминантов географо-генетически однородна: все это представители фауны Европейских широколиственных лесов.

В последние два года в населении возросла доля дуплогнездников, в том числе и среди видов, доминирующих в сообществе. Рост разнообразия исследуемого сообщества наблюдался в гнездовом сезоне 2013 г., и происходил за счет увеличения доли второстепенных видов (до 63,4%) – в основном, за счет видов, гнездящихся в кроне. Географо-генетическая структура второстепенных видов на протяжении пяти лет остается достаточно стабильной.

Доля третьестепенных видов, как правило, невелика (2,4–4,6%), однако они наиболее разнообразны в географо-генетическом отношении, включают также представителей бореальной и тропической групп. Среди третьестепенных видов отчетливо прослеживается тенденция к уменьшению доли представителей неморального фаунистического комплекса с одновременным увеличением лесостепного компонента и ростом однородности географо-генетической структуры в целом.

В связи с интенсивным развитием древесного и кустарникового яруса, обусловленным введением охранного режима, наблюдается уменьшение доли наземногнездящихся видов.

Значительная доля неморальных и древненеморальных видов – комплекса, формировавшегося в широколиственных лесах – свидетельствует о происхождении сообщества гнездящихся птиц исследуемого байрачного леса как остатка некогда более обширных лесных массивов. Имеет место нарастание плотности гнездования от нагорных и водораздельных дубрав Лесостепи к байрачным дубравам Степи; среди последних – от центра области к границе лесостепной и степной зон и далее в степную зону, что является следствием сокращения площадей широколиственных лесов.

Библиографические ссылки

Alatalo, R.V., 1981. Problems in the measurement of evenness in ecology. Oikos 37(2), 199–204.

Alatalo, R.V., Alatalo, R.H., 1977. Components of diversity: Multivariate analysis with interaction. Ecology 58(4), 900–906.

Atemasov, A.A., 2013. Strokata muholovka [Pied flycatcher]. Chervona knyga Harkivs'koi' oblasti. Tokarsky, V.A. (ed.) Tvarynnyj svit. Kharkiv. P. 357 (in Ukrainian).

Atemasova, T.A., 2011. Ornitofauna jak strukturnyj element biogeocenoziv pivnichnogo shodu Ukrai'ny [Avifauna as a structural element of biogeocenoses at North-East Ukraine]. Dnepropetrovsk (in Ukrainian).

Banik, M.V., Vysochin, M.O., Atemasov, A.A., Atemasova, T.A., Devjatko, T.N., 2013. Pticy Dvurechanskogo nacional'nogo prirodnogo parka i ego okrestnostej (Har'kovskaja oblast') [Birds of Dvorichansky National Park and its outskirts (Kharkiv region)]. Berkut 22(1), 14–24 (In Russian).

Banik, M.V., Vysochin, M.O., Atemasov, A.A., Atemasova, T.A., Devjatko, T.N., 2014. Annotirovannyj spisok ptic Dvurechanskogo nacional'nogo parka [An annotated checklist of the birds of Dvorichanskyi National Park]. Visnik Harkivs'kogo Nacional'nogo Universitetu imeni V.N. Karazina. Serija biologija 19, 52–61 (in Russian).

Baryshnikova, O.N., Mezenceva, E.M., Miharevich, M.V., 2009. Ostrovnye lesa kak reliktovyj jelement stepnoj i lesostepnoj zon [Island forests as a relict element of the steppe

and forest steppe zones]. Vestnik Altajskogo Agrarnogo Universiteta 60, 63–66 (in Russian).
Belgard, A.L., 1950. Lesnaja rastitel'nost' jugo-vostoka USSR [Forest vegetation of South-East of USSR]. Kiev (in Russian).
Belik, V.P., 2000. Pticy stepnogo Pridon'ja. Formirovanie fauny, ee antropogennaja transformacija i voprosy ohrany [Birds pridonya steppe. Formation of fauna and anthropogenic transformation and preservation questions]. Rostov-na Donu (in Russian).
Brown, W.P., Sullivan, P.J., 2005. Avian community composition in isolated forest fragments: A conceptual revision. Oikos 111, 1–8.
Chernyshev, A.A., 2010. Nekotorye tendencii razvitija ornitokompleksov zakrytyh mestoobitanij central'noj Lesostepi [Some developmental trends in ornithological complexes in the closed habitats of the Central Forest-Steppe]. Uchenye Zapiski. Jelektronnyj Nauchnyj Zhurnal Kurskogo Gosudarstvennogo Universiteta 15, 30–43 (in Russian).
Demchenko, M.A., Demchenko, O.M, 1971. Fiziko-geograficheskoe rajonirovanie Har'kovskoj oblasti [Geographical zoning Kharkov region]. Trudy Har'kovskogo Otdela Geograficheskogo Obshhestva Ukrainy 8, 54–67 (in Russian).
Didukh, Y.P., Shelyag-Sosonko, Y.R., 2003. Heobotanichne rayonuvannya Ukrayiny [Geobotanical zoning of Ukraine]. Ukrai'ns'kyj Botanichnyj Zhurnal 60(1), 6–17 (in Ukrainian).
Evchenko, J.N., 2007. Faktory, vlijajushhie na produktivnost' bajrachnyh dubrav [Factors affecting the productivity of oak gully]. Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta Ser. Geographia Geoecologia 2, 103–105 (in Russian).
Gudina, A.N., 1993. Struktura naselenija ptic bajrachnyh dubrav doliny r. Oskol [The structure of the bird population of gullies oak Oskol' river valley]. Pticy Bassejna Severskogo Donca 1, 70–72 (in Russian).
Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol. Electron. 4(1), 9.
Kalinichenko, N.P., 2000. Dubravy Rossii [Oakwood of Russia]. Moskow (in Russian).
Kharchenko, N.N., 2013. K voprosu o proishozhdenii dubrav Central'noj Lesostepi [On the origin of the Central forest-steppe oak forests]. Lesotehnicheskiy Zhurnal 3, 43–50 (in Russian).
Kuzjakin, A.P., 1962. Zoogeografija SSSR [Zoogeography of USSR]. Scientific notes of the Moscow Regional Pedagogical Institute. Biogeography 3, 182 (in Russian).
Lichtein, J.W., Simons, T.R., Franzerb, K.E., 2002. Landscape effects on breeding songbird abundance in managed forests. Ecol. Appl. 12(3), 836–857.
Lugovoj, A.E., Kjazhin, I.S., Chairkina, A.S., 1978. Struktura naselenija ptic ostrovnyh listvennyh lesov Prisur'ja [The structure of the island population of birds of deciduous forests Prisurya]. Geographia I Ecologia Nazemnyh Pozvonochnyh 3, 75–85.
Martı'nez-Morales, M.A., 2005. Nested species assemblages as a tool to detect sensitivity to forest fragmentation: The case of cloud forest birds. Oikos 108, 634–642.
Mikhno, V.B., 2014. Landshaftnyj aspekt proizrastanija, differenciacii i strukturnoj organizacii dubrav srednerusskoj lesostepi [Landscape aspect of growth, differentiation and the structural organization of the Central Russian oak forest]. Vestnik Voronezhskogo Universiteta. Ser. Geographia. Geoecologia 1, 9–17 (in Russian).
Mil'kov, F.N., 1950. Lesostep' Russkoj ravniny [Forrest-steppe at the Russian Plains]. Moscow (in Russian).
Molinari, J., 1989. A calibrated index for the measurement of evenness. Oikos 56(3), 319–326.
Nikolov, S.C., 2013. Bird assemblages in naturally fragmented upland forests in Pirin National Park, Bulgaria. Acta Zool. Bulg. 65(4), 493–504.
Ostrivnaya, Y.I., Didukh, Y.P., 2005. Jekologicheskie osobennosti granicy mezhdu Lesostep'u i Step'u Ukrajiny [Ecological features of the border between forest and steppe of Ukraine]. Izuchenie i sohranenie prirodnyh ecosistem zapovednikov Lesostepnoj zony. Kursk. P. 45–48 (in Russian).
Pilipenko, D.V., 2009. Gnezdjashhiesja pticy bajrachnyh lesov Doneckoj oblasti [Breeding birds of bayrachnye forests of Donetsk region]. Visnyk Donec'kogo Nacional'nogo Universitetu, Pryrodnychi Nauky 2, 270–277 (in Russian).
Piskunov, V.V., Davidenko, T.N., 2010. Vlijanie struktury dubrav juzhnoj chasti Privolzhskoj vozvyshennosti na vidovoe raznoobrazie ptic [Influence of the structure of the oak forests of the southern Volga Uplands on the species diversity of birds]. Lesnoe Hozjajstvo 1, 66–70 (in Russian).
Ravkin, Y.S., 1967. K metodike ucheta ptic v lesnyh landshaftah [For the treatment of the birds in the forest landscapes]. Priroda ochagov kleshhevogo jencefalita na Altae (Severo-Vostochnaja chast'). Nauka, Novosibirsk. P. 66–75 (in Russian).
Rjabcev, I.S., Rjabceva, I.M., Tihodeeva, M.J., 2001. Osobennosti vozobnovlenija shirokolistvennyh porod v bajrachnom lesu (na primere uchastka "Ostras'evy Jary" Gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika "Belogor'e") [Features renewed broad-leaved trees in the forest gully (for example, site "Ostrasevy Yary" of State Natural Reserve "Belogor'e"]. Vestnik Sankt-Petersburgskogo Gosudarstvennogo Universiteta 1, 345–350 (in Russian).
Schluter, D., 1984. A variance test for detecting species associations, with some examples applications. Ecology 65(3), 998–1005.
Shtegman, B.K., 1938. Osnovy ornitogeograficheskogo delenija Palearktiki [Basics ornithogeographic division of Palaearctic]. Fauna SSSR: Pticy. Moscow, Leningrad, 1(2), 158 (in Russian).
Teyssèdre, A., Robert, A., 2014. Contrasting effects of habitat reduction, conversion and alteration on neutral and non neutral biological communities. Oikos 123, 857–865.
Vergeles, J.I., 1993. Zagal'ni rysy naselennja ptahiv lisovyh biogeocenoziv Harkivshhyny [General traits of bird population of the forest biogeocenoses in the Kharkov Region]. Berkut 2, 14–15 (in Ukrainian).
Vergeles, J.I., 1994. Kolichestvennye uchety naselenija ptic: Obzor sovremennyh metodov [Quantitative surveys of the bird population: A review of modern methods]. Berkut 3(1), 43–48 (in Russian).
Vsevolodova-Perel', T.S., Grjuntal', S.J., 1995. Struktura i funkcionirovanie pochvennogo naselenija dubrav Srednerusskoj lesostepi [The structure and function of the soil population of the Central Russian oak forest zone]. Moscow (in Russian).

Надійшла до редколегії 04.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 430–436.

doi:10.15421/011658

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 636.034+636.084

Продуктивность лактирующих коров при использовании в рационах сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси с внесением нового биологического консерванта

П.И. Барышников[1], В.Н. Хаустов[1], С.В. Бурцева[1], Р.В. Некрасов[1], М.Г. Чабаев[1], А.А. Зеленченкова[1], Д.А. Дурникин[2]

[1]Алтайский государственный аграрный университет, Барнаул, Россия
[2]Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

Исследовано влияние нового биологического консерванта, представляющего собой смесь лиофильно высушенных бактерий: *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-4173, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ВКПМ В-2092 и *Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5723 (в соотношении 40 : 40 : 20) на качество сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси. Общее содержание бактерий в консерванте составляло $1 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г. В лабораторном опыте оценены четыре варианта закладки сенажа из люцерны, приготовленного в фазе бутонизации, с нормами внесения консерванта 3 и 6 г/т в присутствии и в отсутствие ферментов. В качестве контроля использовали самоконсервированный сенаж. По результатам эксперимента наилучшие результаты обеспечивало внесение биоконсерванта в количестве 6 г/т как совместно с ферментом, так и без него. В этих вариантах отмечена высокая сохранность протеина (94,5% и 94,3% от содержания в исходной массе) и высокое содержание молочной кислоты (65,4% и 62,9% от общего содержания всех кислот), а также хорошие органолептические показатели. Указанная оптимальная норма внесения биоконсерванта протестирована в производственных испытаниях при закладке 750 тонн сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси. Применение биоконсерванта позволило получить сенаж высокого качества, имеющий высокую энергетическую и питательную ценность. Проведены производственные испытания с оценкой эффекта скармливания сенажа, заготовленного путем самоконсервирования (контроль) и с внесением исследуемого биоконсерванта (опыт), на молочную продуктивность новотельных коров черно-пестрой породы (n = 15), качество молока и затраты кормов на единицу продукции. Среднесуточный удой молока базисной жирности (3,4%) коров опытной группы в период раздоя составил 32,7 кг, что на 7% выше по сравнению с контрольными животными, получавшими самоконсервированный сенаж. Скармливание молочным коровам в период раздоя сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси с внесением нового биологического консерванта обеспечило экономию в размере 4 862 рубля на голову в ценах 2015–2016 года.

Ключевые слова: *Lactobacillus plantarum*; *Lactococcus lactis*; *Propionibacterium acidipropionici*; молочная продуктивность

Productivity of lactating cows fed on a diet of haylage from a vetch pea-oat mixture with the introduction of new biological preservative

P.I. Baryshnikov[1], V.N. Khaustov[1], S.V. Burtseva[1], R.V. Nekrasov[1], M.G. Chabaev[1], A.A. Zelenchikova[1], D.A. Durnikin[2]

[1]Altai State Agrarian University, Barnaul, Russia
[2]Altai State University, Barnaul, Russia

The effect of a new biological preservative representing a mix of lyophilized *Lactobacillus plantarum* VKPM V-4173, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* VKPM V-2092 and *Propionibacterium acidipropionici* VKPMV-5723 strains (40 : 40 : 20) on the quality of haylage pre-

Алтайский государственный аграрный университет, ул. Попова, 276, Барнаул, 656922, Россия
Altai State Agrarian University, Popov Str., 276, Barnaul, 656922, Russia
E-mail: engbio@rambler.ru, haustovvn@mail.ru, sve-burceva@yandex.ru, nek_roman@mail.ru, chabaev.m.g-1@mail.ru, aly4383@mail.ru

Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Россия
Altai State University, Lenin Ave., 61, Barnaul, 656049, Russia
E-mail: durnikin@list.ru

pared from a mix of vetch, oats, and pea has been studied. The total bacteria content in the preservative was $1 \cdot 10^{11}$ CFU/g. Five different variants of conservation of alfalfa haylage prepared at the budding stage were evaluated under laboratory conditions. The variants included a self-conserved control and the preservative at two different dosages (3 and 6 g/ton) with and without the addition of cellulolytic enzymes. The best results were observed in the case of both the enzyme-free and the enzyme-containing preservative at the dosage equal to 6 g/ton. These variants provided the maximum protein content in the haylage (94.3% and 94.5% of the initial content, respectively) and a high content of lactic acid (62.9% and 65.4% of the total acid content, respectively) and also good organoleptic characteristics. The determined optimum biopreservative dosage was tested under industrial conditions using 750 tons of vetch-oats-pea haylage. The use of the biopreservative provided a high-quality haylage of high nutritive value. Industrial evaluation of the effect on the productivity of milk cattle (n = 15) of the addition of the biopreservative to the haylage showed that the maximum average daily yield of milk with basic fat content (3.4%) was obtained from cows of the experimental group whose ration included haylage prepared with the use of the studied preservative. This yield came to 32.7 kg , which exceeded the yield for the control group (fed on self-conserved haylage) by 7.0%. Three months feeding of cows with the haylage prepared with the use of the new preservative brought a significant saving of money (4,862 rubles per a head at the prices of 2015–2016).

Keywords: *Lactobacillus plantarum*; *Lactococcus lactis*; *Propionibacterium acidipropionici*; milk productivity

Введение

Увеличение производства кормов и правильное их использование является одной из важнейших проблем современного сельскохозяйственного производства. Сложность и важность этой проблемы определяются тем, что укрепление кормовой базы в ближайшие годы должно осуществляться не за счет расширения посевных площадей под кормовые культуры, а преимущественно за счет повышения их урожайности и питательной ценности, а также снижения потерь при уборке, хранении и подготовке к скармливанию (Ross et al., 2004; Eliseev et al., 2011). Существующие технологии обеспечивают возможность заготовки кормов высокого качества. Одним из элементов технологии заготовки высококачественного сенажа, влияющих на его энергетическую и питательную ценность, является использование биологических консервантов, способствующее снижению биохимических потерь в 1,5–2,0 раза и, как следствие, обеспечивающее сохранность питательных веществ и каротина на уровне до 90–95% от их исходного содержания (Zubrilin and Mishustin, 1958; Bondarev, 1975; Lithourgidis et al., 2006; Staniak et al., 2014).

В состав биологических консервантов входят живые культуры молочнокислых бактерий одного или нескольких видов, которые продуцируют молочную кислоту, подавляющую развитие нежелательной анаэробной микрофлоры. С целью предупреждения развития аэробной микрофлоры производители заквасок используют гетероферментативные молочнокислые бактерии, прежде всего *Lactobacillus buchneri*, а также пропионовокислые бактерии. Как первые, так и вторые способны синтезировать и накапливать в массе корма пропионовую кислоту и некоторые другие продукты, угнетающие развитие дрожжей и плесени. Кроме того, ряд заквасок содержит ферменты, способные расщеплять клетчатку растительных клеток до простых сахаров. В результате можно успешно заквашивать трудносилосуемые корма или работать в сложных погодных условиях, что обеспечивает определенное преимущество биологических консервантов по сравнению с химическими консервантами.

Другие причины популярности биологических консервантов – меньшая стоимость, большая технологичность, экологичность: они не токсичны, не вызывают раздражения кожи, слизистых оболочек, не имеют запаха (Mikhin, 1937; Makarova, 1952; Danilenko et al., 1972; Zafren, 1977; Shcheglov et al., 1990; Vladimirov et al., 2001; Duborezov et al., 2005; Tuna and Orak, 2007; Doré et al., 2011). Научные исследования последних лет направлены на поиск еще более эффективных, дешевых, удобных в применении экологически чистых биологических консервантов.

Цель данной работы – оценить эффективность использования нового отечественного биологического консерванта при заготовке и хранении сенажа, степень сохранности в нем питательных веществ, а также оценить изменения молочной продуктивности лактирующих коров при скармливании им сенажа с добавкой биоконсерванта. Для решения поставленной цели изучены такие вопросы:

– влияние добавки различных концентраций биоконсерванта на динамику накопления аммиака, органических кислот, активную кислотность (pH), сохранность и величину потерь питательных веществ при хранении сенажа, заложенного в лабораторных и производственных условиях;

– эффективность включения сенажа из подвяленной вико-овсяно-гороховой смеси, приготовленного с внесением исследуемого биоконсерванта, в рацион лактирующих коров, его влияние на выход и качество продукции, и перевариваемость питательных веществ;

– сравнение эффекта от скармливания сенажа с внесением биоконсерванта и без него в отношении состояния здоровья, биохимического состава крови и показателей рубцового содержимого подопытных животных;

Кроме того, на основе полученных данных выполнена оценка экономической эффективности применения нового биоконсерванта для заготовки сенажа, включаемого в рацион новотельных коров при раздое.

Материал и методы исследований

Исследования влияния консерванта при заготовке сенажа выполнены с привлечением специалистов ВИЖ им. Л.К. Эрнста и ФГБНУ РосНИИСК «Россорго». Производственные испытания биоконсерванта при заготовке сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси проведены на базе ООО «Лестехстрой», г. Москва.

Объектом исследований являлся новый биологический консервант для силосования сельскохозяйственных культур, представляющий собой сухой порошок из лиофильно высушенных бактерий *Lactobacillus plantarum* (ВКПМ В-4173), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (ВКПМ В-2092), *Propionibacterium acidipropionici* (ВКПМ В-5723) в соотношении 40 : 40 : 20, соответственно, а также вариант вышеописанного биоконсерванта, допол-

нительно содержащий фермент Целлолюкс-F в количестве 50 г/кг препарата. Общее содержание молочнокислых и пропионовокислых бактерий в порошке биоконсерванта составляло $1 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г. В качестве вспомогательного вещества для нормализации титра использовали сухую молочную сыворотку. Препарат стабилен в сухом виде. Стоимость исследуемого биоконсерванта на 2014–2015 г. составляла 2 500 р./кг.

На первом этапе исследования в лаборатории кормопроизводства РосНИИСК «Россорго» был оценен эффект различных норм внесения биоконсерванта на качество сенажа из трудносилосуемой культуры – люцерны в фазе бутонизации. Подвяленную массу люцерны закладывали на сенаж в стеклянные сосуды объемом 3 л в четырех опытных и одном контрольном вариантах. Количество добавляемого биоконсерванта в опытных вариантах составило 3 и 6 г на тонну закладываемой массы. Еще два опытных варианта включали аналогичные дозировки биоконсерванта, дополнительно содержащего ферментный препарат Целлолюкс-F. В контрольном варианте биоконсервант в зеленую массу не добавляли.

В готовом сенаже определяли содержание аммиака и уровень pH (ГОСТ 26180-84 «Методы определения аммиачного азота и активной кислотности (pH)»), количество молочной, уксусной и масляной кислот и их соотношение (ГОСТ 23638-90 «Силос из зеленых растений»), а также химический состав проб кормов по методикам, принятым в отделе кормопроизводства и технологии приготовления кормов ФГБНУ РосНИИСК «Россорго».

Производственная закладка сенажа из подвяленной массы вико-овсяно-гороховой смеси с внесением биологического консерванта в количестве 6 г/т осуществлена на площадях ООО «Лестехстрой». Объем сенажа, заложенного с биоконсервантом, составил 750 тонн. Объем сенажа, заложенного без консерванта, составил 2 250 тонн. Химический состав и качество заложенных производственных сенажей определяли в химико-аналитической лаборатории ВИЖ им. Л.К. Эрнста по стандартным методикам (Raetskaya et al., 1979).

Далее в рамках производственных испытаний на базе ООО «Лестехстрой» на лактирующих коровах черно-пестрой породы в период раздоя проведен научно-хозяйственный опыт по сравнению эффективности скармливания сенажа, приготовленного с применением нового консерванта и без него. В первой (контрольной) группе животных рацион кормления включал самоконсервированный сенаж. Во второй (опытной) группе коров включенный в рацион сенаж готовили с внесением исследуемого биоконсерванта (6 г/т). Количество коров в каждой группе – 15 голов.

Продолжительность учетного периода опыта составила 120 дней. Контроль над молочной продуктивностью коров осуществляли ежемесячно. Пробы молока отбирали в соответствии с ГОСТ 13928-84. Молоко исследовали в лаборатории селекционного контроля качества молока и молочных продуктов ВИЖ им Л.К. Эрнста на анализаторе Bentley 150 (ГОСТ 5867-90, ГОСТ 25179-90, ГОСТ 3626-73, ГОСТ 3625-84, ГОСТ 3624-92). При выполнении исследований химического состава молока жирность определяли кислотным методом Гербера, а белок – методом формольного титрования.

Исходя из данных по затратам на приготовление кормов, их стоимости и полученной молочной продуктивности, рассчитан относительный экономический эффект от использования нового биологического консерванта при закладке сенажа.

Статистическая обработка полученных в опытах данных проведена с использованием однофакторного дисперсионного анализа для повторных измерений.

Результаты и их обсуждение

Спустя три месяца после закладки сенажа в лабораторном опыте наилучшие показатели по содержанию органических кислот отмечены при добавлении биоконсерванта в количестве 6 г/т в комплексе с ферментом Целлолюкс-F и без него (2,89% и 2,94%). При этом доля молочной кислоты составила соответственно 1,89% и 1,85%, уксусной –1,00% и 1,09%. Соотношение молочной и уксусной кислот в этих вариантах составило 62,9 : 37,1 и 65,4 : 34,6, соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Количество кислот и их соотношение в сенаже (90-й день закладки; M ± m, n = 3)

Вариант сенажа	Количество кислот, %			Сумма кислот, %	Соотношение кислот, %		
	молочная	уксусная	масляная		молочная	уксусная	масляная
Контроль (самоконсервирование)	1,45 ± 0,09	0,97 ± 0,05	0,20 ± 0,03	2,62 ± 0,09	55,40	37,0	7,60
Биоконсервант, 3 г/т	1,56 ± 0,07	0,99 ± 0,10	0,03 ± 0,02	2,58 ± 0,15	60,40	38,40	1,20
Биоконсервант, 6 г/т	1,85 ± 0,05	1,09 ± 0,13	–	2,94 ± 0,10	62,90	37,10	–
Биоконсервант, 3 г/т + фермент*	1,63 ± 0,07	0,96 ± 0,10	0,03 ± 0,02	2,62 ± 0,10	62,20	36,60	1,10
Биоконсервант, 6 г/т + фермент	1,89 ± 0,28	1,00 ± 0,16	–	2,89 ± 0,13	65,40	34,60	–

Примечание: * – вариант биоконсерванта с добавлением ферментативного препарата Целлолюкс-F в дозировке 50 г/кг препарата.

В контрольном сенаже содержание органических кислот составило 2,62%, что на 0,32% и 0,27% ниже по сравнению с результатами, полученными при внесении 6 г/т биоконсерванта без или вместе с ферментом, соответственно. Доля молочной кислоты в контроле составила 55,4%, уксусной – 37,0%, масляной – 7,6%.

Степень распада белковых веществ оценивали по содержанию аммиака в сенаже в конце периода хранения. Гидролиз протеина в самоконсервированном люцерновом сенаже проходил активнее: за три месяца хранения содержание аммиака составило 671 ppm (табл. 2). Гидролиз белка в сенаже с внесением биоконсерванта в количестве 3 г/т и этой же дозировки с включением фермента протекал несколько медленнее и составил за этот же срок хранения только 40,5 и 38,9 мг%, соответственно, что на 266 и 282 ppm меньше, чем в самоконсервированном сенаже.

Содержание аммиака в сенаже с добавкой биоконсерванта в количестве 6 г/т или этой же дозировки в

комбинации с ферментом составило 354 и 341 ppm соответственно, что на 317 и 330 ppm меньше по сравнению с контролем и на 51 и 48 ppm меньше, чем для меньшей дозировки биоконсерванта. Похожие данные по содержанию аммиака при самоконсервировании сенажа из люцерны были получены в опытах Шмидта и Веттерау (1975); при этом авторы указывают, что аммиак снижает кислотность силоса и усиливает развитие гнилостных бактерий, ухудшая качество силоса.

Оценка уровня активной кислотности показала, что наилучшие результаты достигнуты при внесении биоконсерванта в дозировке 6 г/т; в этом случае pH сенажа к концу периода хранения составила 4,6 (биоконсервант) и 4,5 (биоконсервант + фермент), в то время как в контроле pH составил 5,6.

Оценка сохранности питательных веществ в сенаже показала, что внесение 6 г/т биоконсерванта без фермента и вместе с ним позволило увеличить сохранность протеина в абсолютно сухом веществе сенажа на 5,69% и 5,93%, а жиров – на 5,78% и 1,19%, соответственно, по сравнению с самоконсервированным сенажом. В то же время, существенных различий в количестве золы, сырой клетчатки и безазотистых экстрактивных веществ между исследованными вариантами сенажа не обнаружено (табл. 3).

Таблица 2

Динамика изменения содержания аммиака и уровня pH в исследуемых образцах (M ± m, n = 3)

Вариант закладки	Показатель					
	Содержание аммиака, ppm			pH		
	7	21	60	7	21	60
Самоконсервирование	644,7 ± 1,28	655,7 ± 0,85	670,7 ± 0,79	5,67 ± 0,03	5,67 ± 0,03	5,63 ± 0,03
3 г/т	397,7 ± 1,03	392,3 ± 1,66	405,0 ± 1,58	5,07 ± 0,03	5,20 ± 0,00	5,17 ± 0,03
6 г/т	360,7 ± 0,35	357,3 ± 0,98	354,3 ± 0,77	4,67 ± 0,03	4,60 ± 0,00	4,60 ± 0,00
3 г/т + фермент*	400,7 ± 2,27	387,3 ± 1,31	389,0 ± 1,17	5,07 ± 0,03	4,97 ± 0,03	4,90 ± 0,00
6 г/т + фермент	346,3 ± 2,32	338,3 ± 1,26	340,7 ± 0,79	4,67 ± 0,03	4,37 ± 0,03	4,47 ± 0,03

Примечание: * – см. табл. 1.

Таблица 3

Сохранность питательных веществ в сенаже (90-й день закладки)

Показатель	Содержание в исходной массе, %	Сохранность питательных веществ в абсолютно сухом веществе, %				
		контроль	консервант		консервант + фермент*	
			3 г/т	6 г/т	3 г/т	6 г/т
Сырой белок	12,30	10,90	11,42	11,63	11,36	11,60
то же от исходной массы	–	88,62	92,85	94,55	92,36	94,31
Сырой жир	2,77	3,30	3,20	3,46	3,23	3,61
то же от исходной массы	–	119,13	115,52	124,91	116,61	130,32
Сырая клетчатка	30,20	31,30	31,46	32,2	31,35	31,65
то же от исходной массы	–	103,64	104,17	106,62	103,81	104,80
Зола	8,60	9,40	9,50	9,20	9,35	9,20
то же от исходной массы	–	109,30	110,47	106,98	108,72	106,98
БЭВ**	46,13	45,10	44,42	43,41	44,71	43,94
то же от исходной массы	–	97,77	96,29	94,10	96,92	95,25
АСВ***	31,81	31,95	32,10	31,93	31,90	32,08

Примечания: * – см. табл. 1; ** – безазотистые экстрактивные вещества; *** – абсолютно сухое вещество.

Полученные данные по сохранности питательных веществ согласуются с выводами М.М. Макаровой (Makarova, 1962), И.А. Даниленко и др. (Danilenko et al., 1972) и С.Я. Зафрена (Zafren, 1977) о том, что внесение заквасок при силосовании трудносилосующихся кормов с пониженной влажностью ускоряет заквашивание корма и минимизирует потери питательных веществ.

По результатам органолептической оценки сенаж из люцерны в фазе бутонизации, приготовленный с внесением 6 г/т биоконсерванта как в присутствии, так и в отсутствие фермента обладал приятным запахом квашеных яблок и лучше сохранял первоначальный цвет и структуру по сравнению с другими вариантами. Таким образом, проведенный лабораторный опыт позволил определить оптимальную норму внесения биоконсерванта в подвяленную массу трудносилосуемой культуры люцерны в фазе бутонизации – 6 г/т.

В ходе производственного опыта с использованием сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси показано, что новый биоконсервант оказал положительное влияние на сохранность энергии и питательных веществ в сенаже. По сравнению с контролем отмечено увеличение содержания в сенаже сухого вещества на 2,47%, сырого протеина – на 3,0% и обменной энергии – на 9,0% (табл. 4).

Максимальные изменения отмечены для углеводов, являющихся хорошим субстратом для молочнокислых и других бактерий. В процессе хранения сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси с внесением нового биологического консерванта содержание клетчатки уменьшилось на 14% по сравнению с контролем, что, возможно, связано с меньшими потерями азотистых веществ и углеводов. В отношении содержания каротина и фосфора существенных различий между опытным и контрольным вариантами выявлено не было. Таким образом, внесение в сенаж нового биоконсерванта обеспечило сохранение высокого его качества по органолептическим свойствам и значительное увеличение содержания сухого вещества, белков, жиров и минеральных веществ.

Научно-хозяйственный опыт, проведенный на коровах в период их раздоя в условиях ООО «Лестехстрой»

(г. Москва), не выявил различий по степени удовлетворения потребности животных в необходимом количестве энергии, питательных и биологически активных веществ. Анализ молочной продуктивности показал, что среднесуточные удои натурального молока у коров опытной группы, получавших сенаж с добавкой нового биоконсерванта в количестве 6 г/т, оказались на 9,3% выше, чем у животных контрольной группы (табл. 5). Среднесуточный удой молока жирностью 3,4% также оказался максимальным в опытной группе коров (32,7 кг, что на 7,0% выше, чем в контрольной группе). Различия между коровами контрольной и опытной групп по валовому удою натурального и 3,4% молока составили 298,8 и 240,0 кг, соответственно. Содержание жира и белка в молоке коров обеих групп практически не различалось.

Выявленные в ходе эксперимента различия по продуктивным качествам животных представлены на рисунке. Более высокий уровень молочной продуктивности и жирности молока у животных опытной группы обусловлен, по-видимому, лучшим качеством сенажа, подготовленного с использованием нового биологического консерванта, и лучшей сбалансированностью рациона.

Таблица 4

Влияние исследуемого биоконсерванта на питательность и качество сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси

Показатель	Сенаж	
	без консерванта	с консервантом
Сухое вещество, %	20,33	22,80
Сырой белок в сухом веществе, г/кг	128,90	132,70
Сырой жир в сухом веществе, г/кг	42,10	128,90
Сырая клетчатка в сухом веществе, г/кг	323,10	284,20
Сырая зола в сухом веществе, г/кг	19,70	16,30
Кальций в сухом веществе, г/кг	96,90	71,50
Фосфор в сухом веществе, г/кг	12,30	14,50
Каротин в сухом веществе, мг/кг	86,60	80,30
Обменная энергия в сухом веществе, МДж/кг	8,37	9,13
Энергетических кормовых единиц в сухом веществе	0,84	0,91

Таблица 5

Влияние добавления в сенаж нового биоконсерванта на молочную продуктивность и качество молока лактирующих коров (M ± m, n = 15)

Показатель	Группа коров	
	контрольная	опытная
Среднесуточный удой молока натуральной жирности, кг	26,87 ± 0,90	29,36 ± 0,80*
то же, % к контролю	100,0	109,3
Массовая доля жира, %	3,88 ± 0,07	3,79 ± 0,06
Массовая доля белка, %	3,43 ± 0,05	3,44 ± 0,08
Среднесуточный удой молока 3,4% жирности, кг	30,7 ± 1,2	32,8 ± 1,3*
то же, % к контролю	100,0	107,0
Валовой удой молока натуральной жирности, кг	3 224 ± 96	3 523 ± 101
Валовой удой молока 3,4% жирности, кг	3 684 ± 138	3 924 ± 150
Продукция молочного жира, кг	125,1 ± 4,7	133,5 ± 5,1
Затрачено на 1 кг молока 3,4% жирности		
Обменная энергия, МДж	7,10	6,90
Перевариваемого протеина, г	62,6	60,9

Примечание: * – достоверно при P < 0,01.

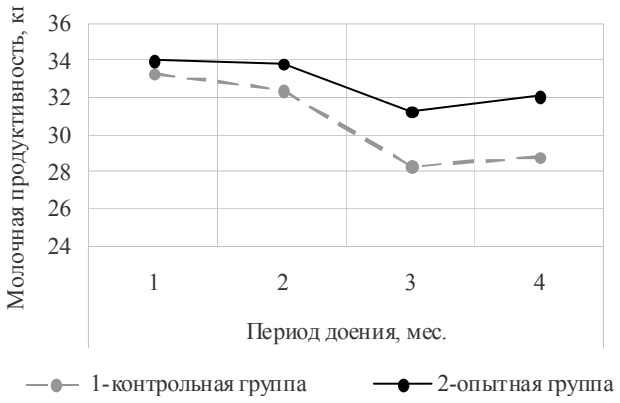


Рис. Лактационные кривые подопытных коров в период проведения научно-хозяйственного опыта (молоко базисной жирности)

Одним из основных показателей, характеризующих эффективность отрасли животноводства, является затрата кормов на единицу продукции. Анализ данных по затратам кормов на производство 1 кг молока жирностью 3,4% показал, что включение в рационы лактирующих коров сенажа, подготовленного с использованием нового биологического консерванта в количестве 6 г/т, привело к снижению затрат обменной энергии и перевариваемого протеина на 2,9% и 2,8% соответственно по сравнению с животными контрольной группы.

На основании данных по расходу кормов и валового удоя молока подопытных животных за 120 дней лактации, а также материалов бухгалтерского учета рассчитана экономическая эффективность использования сенажа с внесением нового биологического консерванта в количестве 6 г/т в кормлении лактирующих коров (табл. 6).

Таблица 6

Экономическая эффективность добавления в сенаж нового биоконсерванта в пересчете на голову молочного скота

Показатель	Группа животных	
	контрольная	опытная
Стоимость кормов, руб.	27 098,4	27 487,2
Стоимость консерванта, руб.	не применялся	18,0
Стоимость кормов + стоимость консерванта, руб.	27 098,4	27 487,3
Надоено молока 3,4% жирности за 120 дней лактации, кг	3 680,0	3 924,0
Реализационная цена 1 кг молока, руб.	20,00	20,00
Дополнительный надой молока, кг	Нет	+244,0
Выручено от реализации молока, руб.	73 600,00	78 480,00
Стоимость дополнительно полученного молока, руб.	не получен	+4 880,00
Превышение стоимости дополнительно полученного молока над разницей в стоимости кормов, руб.	нет	+4 862,00

Расходы, направленные на приобретение консерванта, незначительно увеличили стоимость кормов для опытной группы, однако при этом надой молока жирностью 3,4% оказался выше контроля на 244 кг, что обеспечило итоговую прибыль 4 862 рубля. Таким образом, скармливание молочным коровам в течение 120 дней сенажа, приготовленного с использованием нового биологического консерванта, обеспечило прибыль в размере 4 862 рубля на одну корову в ценах 2015–2016 годов.

Выводы

Внесение 6 г/т нового биологического консерванта при силосовании люцерны в фазе бутонизации способствует получению сенажа высокого качества в соответствии с органолептической и биохимической оценкой (цвет, запах, структура, активная кислотность, накопление аммиака, органических кислот брожения). Использование изучаемого консерванта в дозировке 6,0 г/т как в варианте с добавлением фермента, так и в его отсутствие, способствует снижению потерь протеина в 2,0–2,1 раза по сравнению с контролем (самоконсервирующимся сенажом).

Научно-хозяйственный опыт, проведенный на коровах в период их раздоя, показал, что включение в рационы лактирующих коров сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси, подготовленного с добавлением нового биологического консерванта в дозировке 6 г/т, обеспечивает прирост удоя молока на 7,0% и одновременное снижение потерь обменной энергии на 9%, сухого вещества – на 2,5%, сырого белка – на 3,0% по сравнению с контролем. Скармливание молочным коровам сенажа с биоконсервантом в течение трех месяцев обеспечило прибыль в размере 4 862 рубля на голову скота в ценах 2015–2016 гг.

На основании полученных результатов авторы считают целесообразным и обоснованным рекомендовать к использованию изученный биоконсервант для приготовления сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Исследование и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение о предоставлении субсидии № 14.607.21.0114 от 15.10.2015 г., RFMEF160715X0114).

Библиографические ссылки

Alemu, A.W., Doepel, L., 2011. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as an alternative forage for dairy cows. Animal 5(9), 1370–1381.

Bondarev, V.A., 1975. Puti snizheniya poter' i povysheniya kachestva silosa [Ways to reduce losses of silage quality]. Kormoproizvodstvo 10, 18–24 (in Russian).

Celis-Alvarez, M.D., López-González, F., Martínez-García, C.G., Estrada-Flores, J.G., Arriaga-Jordán, C.M., 2016. Oat and ryegrass silage for small-scale dairy systems in the highlands of central Mexico. Trop. Anim. Health Prod. 48(6), 1129–1134.

Danilenko, I.A., 1972. Silos [Silage]. Kolos, Moscow (in Russian).

Dordas, C.A., Vlachostergios, D.N., Lithourgidis, A.S., 2012. Growth dynamics and agronomic-economic benefits of pea-oat and pea-barley intercrops. Crop Pasture Sci. 63,45–52.

Doré, T., Makowski, D., Malézieux, E., Munier-Jolain, N., Tchamitchian, M., Tittonell, P., 2011. Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: Revisiting methods, concepts and knowledge. Eur. J. Agron. 34(4), 197–210.

Duborezov, V.M., Vinogradov, V.N., Evstratov, A.I., Kirnos, I.O., Suslova, S.V., 2005. Progotovlenie ob'emistyh kormov s ispol'zovaniem konservantov razlichnoi prirody: Rekomendatsii [Preparation of roughage with different nature preservatives]. VIZh, Dubrovitsy (in Russian).

Eliseev, S.L., Renev, A., Reneva, I., 2014. Productivity of annual legume-grass mixtures according to interspecies competition. World Appl. Sci. J. 32(9), 1970–1973.

Fadul-Pacheco, L., Wattiaux, M.A., Espinoza-Ortega, A., Sánchez-Vera, E., Arriaga-Jordán, C.M., 2013. Evaluation of sustainability of smallholder dairy production systems in the highlands of Mexico during the rainy season. Agroecology and Sustainable Food Systems 37, 882–901.

Guadarrama-Estrada, J., Espinoza-Ortega, A., González-Esquivel, C.E., Arriaga-Jordán, C.M., 2007. Inclusion of maize or oats-vetch silage for grazing dairy cows in small-scale campesino systems in the highlands of Central Mexico. J. Appl. Anim. Res. 32(1), 19–23.

Hernández-Ortega, M., Heredia-Nava, D., Espinoza-Ortega, A., Sánchez-Vera, E., Arriaga-Jordán, C.M., 2011. Effect of silage from ryegrass intercropped with winter or common vetch for grazing dairy cows in small-scale dairy systems in Mexico. Trop. Anim. Health Prod. 43, 947–954.

Kalashnikov, A.P., Fisinin, V.I., Shcheglov, V.V., Kleimenov, N.I. (eds.), 2003. Normy i ratsiony kormleniya selskokhozyaistvennyh zhivotnyh [Standards and ration feeding farm animals]. Rosselkhozakademiya, Moscow (in Russian).

Lithourgidis, A.S., Vsilakoglou, I.B., Dhima, K.V., Dordas, C.A., Yiakoulaki, M.D., 2006. Forage yield and quality of

common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. Field Crop Res. 99, 106–113.
Makarova, M.M., 1962. Mikrobiologiya silosa [Microbiology of silage]. Izdatel'stvo Selskokhozyaistvennoj Literatury i Plakatov, Moscow (in Russian).
Mikhin, A.M., 1937. Silosovanie kormov v zasushlivoi zone [Silage fodder in the arid zone]. Selkhozgiz, Moscow (in Russian).
Raetskaya, Y.I., Sukhareva, V.N., Samokhin, V.T., 1979. Metodika zootehnicheskih i biohimicheskih analizov kormov, produktov obmena i zhivotnovodcheskoi produktsii [Zootechnical technique and biochemical analyzes of feed, livestock production and exchange of products]. VIZh, Dubrovitsy (in Russian).
Ross, S.M., King, J.R., O'Donovan, J.T., Spaner, D., 2004. Forage potential of intercropping berseem clover with barley, oat, or triticale. Agron. J. 96, 1013–1020.
Shcheglov, V.V., Boyarskiy, L.G., 1990. Korma: Prigotovlenie, hranenie, ispolzovanie [Feed: Preparation, storage, use]. Agropromizdat, Moscow (in Russian).
Staniak, M., Jerzy Księżak, J., Bojarszczuk, J., 2014. Mixtures of legumes with cereals as a source of feed for animals. In: Pilipavicius, V. (ed.) Agricultural and biological sciences "Organic agriculture towards sustainability". In Tech.
Tuna, C., Orak, A., 2007. The role of intercropping on yield potential of Common vetch (*Vicia sativa* L.)/oat (*Avena sativa* L.) cultivated in pure stand and mixtures. J. Agric. Biol. Sci. 2(2), 14–19.
Vladimirov, V.L., Naumenko, P.A., Marinov, K.A., Fritberg, R.V., Bodrov, D.A., 2001. Tehnologiya prigotovleniya korma ponizhennoi vlazhnosti s primeneniem khimicheskikh konservantov [Technology of preparation of low humidity feed with chemical preservatives]. RUTs EBTZh, Dubrovitsy (in Russian).
Zafren, S.Y., 1977. Tehnologiya prigotovleniya kormov [Feed preparation technology]. Kolos, Moscow (in Russian).
Zubrilin, A.A., Mishustin, E.N., 1958. Silosovanie kormov [Silage fodder]. USSR Academy of Sciences, Moscow (in Russian).

Надійшла до редколегії 04.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 437–443.

doi:10.15421/011659

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 574.58:661.718.1 (477.84)

Накопичення фосфору рослинами *Myosotis palustris*, *Glyceria maxima* та *Nasturtium officinale* в лабораторному експерименті

О.І. Прокопчук, В.В. Грубінко

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, Україна

Проблема доступної якісної води нині надзвичайно актуальна, тому важливі технології попередження та профілактики її забруднення та очищення. Останніми десятиліттями все більше застосовують біологічні методи, зокрема очищення водойм так званим методом біосорбції. Суть останнього зводиться до вилучення небезпечних речовин і поліпшення стану водойм за допомогою водних організмів, зокрема, рослин. Зважаючи на багатий досвід проведених досліджень щодо біосорбції, ми вирішили спрогнозувати ефективність даного методу за допомогою акумулятивної здатності поглинання фосфорних сполук вищими водними рослинами. Для цього відібрано зразки води та рослин: лепешняк великий (*Glyceria maxima* (C. Hartm.) Holmb)., настурція лікарська (*Nasturtium officinale* R. Br.) та незабудка болотяна (*Myosotis palustris* (L.) L.) із р. Серет в околицях м. Тернопіль. Рослини помістили у простерилізовані скляні банки ємністю 3 л із водою з р. Серет (контрольні проби) та відстояною водопровідною водою із додаванням натрію фосфату (концентрацією фосфору 3,5 мг/дм³). Дослідні проби культивували протягом чотирьох місяців (жовтень – січень). У воді визначали вміст фосфатів, перманганатну та біхроматну окиснюваність, а в рослинах – вміст загального фосфору. Простежено динаміку органічних речовин та вміст фосфатів у воді, накопичення фосфору в рослинах із води. Для виявлення залежності між показниками фосфору у вищих водних рослин і концентрацією фосфат-іонів у воді розраховано коефіцієнти кореляції. *M. palustris* володіє найбільшою акумулювальною здатністю щодо фосфору, що дозволяє вважати вид ефективною водною рослиною щодо поглинання елементів та зменшення забруднення водойм. Для вилучення фосфатів із ґрунту та намулу водойм найефективніша водна рослина – *G. maxima*, а для зменшення евтрофікації водойм – *M. palustris* і *N. officinale*.

Ключові слова: фосфати; річкова вода; вищі водні рослини; акумуляція

Experiments on accumulation of phosphorus in the plants *Myosotis palustris*, *Glyceria maxima* and *Nasturtium officinale*

O. Prokopchuk, V. Hrubinko

Volodymyr Gnatyuk Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine

The problem of availability of quality water is highly relevant today, so the technologies of prediction and prevention of water pollution and purification are very important. Biological methods of cleaning, in paticular cleaning water by the so-called method of biosorption, have been increasingly used in the last decade. This method means the removal of dangerous substances and improvement of water condition by using aquatic organisms, in particular plants. Therefore, in view of the rich experience of research conducted in the biosorption sphere, we decided to predict the effectiveness of this method by using the cumulative ability of higher water plants to absorb phosphorus compounds. For this purpose, we selected water and plant samples (*Glyceria maxima* (C. Hartm.) Holmb., *Nasturtium officinale* R. Br., *Myosotis palustris* (L.) L.) from the river Seret (Ternopil, Ukraine). The plants were placed into sterilized glass jars filled with 3 liters of water from the river Seret (control samples) and still tap water with addition of sodium phosphate with phosphorus concentration of 3.5 mg/dm³ (research sample), which were cultured in laboratory conditions for four months. We determined the content of phosphates, permanganate and dichromate oxidation in the water and the total content of phosphorus in the plants. We traced the dynamic of organic substances and the content of phosphates in the water, the accumulation of phosphorus in plants and the rate of accumulation of phosphorus in the plants and in the water. We calculated correlation coefficients to detect the dependence between phosphorus indicators in the aquatic plants and the concentration of phosphate ions in the water. We found that *M. palustris* had the greatest capacity to accumulate phosphorus and the highest rate of phosphorus accumulation from water, which allows us to consider it the most effective aquatic plant for absorption of elements and

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна
Volodymyr Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University, Kryvonosa Str., 2, Ternopil, 46027, Ukraine
Tel. +38-035-43-59-01. E-mail: olenka13pro@mail.ru, v.grubinko@gmail.com

decreasing water pollution. We also established that *G. maxima* is the most effective aquatic plant for removal of phosphates from the soil and silt ponds for cultivation, while *M. palustris* and *N. officinale* are the most effective in reducing eutrophication of water bodies.

Keywords: phosphates; river water; higher aquatic plants; accumulation

Вступ

Одна з найважливіших екологічних проблем сьогодення – забруднена вода. Тому надзвичайно важливим стало своєчасне попередження накопичення забруднювальних речовин у природних водах (Conley et al., 2009; Gerard et al., 2014). Фосфор – один із найважливіших біогенних елементів у водних екосистемах, який істотно впливає на різноманіття та продуктивність організмів, насамперед, водоростей і вищих водних рослин (Ruttenberg, 2003; Paytan, 2011). Останні зв'язують його з різною інтенсивністю, відіграючи при цьому роль біологічних фільтраторів і очищувачів водних екосистем від забруднення (Nouri et al., 2009; Xing et al., 2010; Chao et al., 2014). Таким чином, фітобіота, споживаючи фосфати з води та твердих субстратів, впливає на їх вміст у гідроекосистемі та бере участь у підтриманні балансу фосфорних сполук, разом із тим забезпечуючи біомасу та продуктивність водойми (Shaibur et al., 2013; Pasichnaja et al., 2015; Costa et al., 2016).

В останнє десятиліття значно зріс інтерес до можливого використання деяких водних рослин для очищення стічних вод і використання добутої біомаси для виробництва енергії, їжі, волокон та інших продуктів (Marion and Paillisson, 2003; Foroughi, 2011; Yu et al., 2013). Зокрема, у багатьох наукових працях висвітлюється питання про накопичувальну здатність біогенних речовин водними рослинами (DeBusk et al., 1995; Lorenzena et al., 2001; Kao et al., 2003; Rooney et al., 2003; Jaiswal, 2011; Henares and Camargo, 2014).

Мета цього дослідження – з'ясувати накопичувальну здатність стосовно фосфору у вищих водних рослин із річкової екосистеми в модельному експерименті за фіксованих умов зростання.

Матеріали і методи досліджень

Для проведення дослідження відібрано зразки води та вищих водних рослин із р. Серет в околицях м. Тернопіль. Річка Серет – найдовша із приток Дністра у межах Тернопільської області. Ширина русла – 10–20 м, швидкість течії – 0,6 м/с. Каламутність води в середньому – 100–200 г/м³. Вода ріки має порівняно значну мінералізацію – 350–550 мг/дм³. Середній показник розчиненого кисню – 9,78 мг O_2/дм^3, pH води – 6,95 моль/л, концентрація фосфатів –2,1–4,6 мг/дм^3 залежно від пори року (Prokopchuk, 2015; Prokopchuk and Kurta, 2015).

Проби води відбирали у пластикові пробовідбірники об'ємом 1 дм³ у верхній третині загальної глибини (30–40 см під поверхнею). Вміст фосфатів (PO_4^{3-}) у воді визначали за методикою з утворенням фосфорно-молібденової сині з використанням як відновника аскорбінової кислоти (Lure, 1973).

Досліджували фосфоракумулювальну здатність таких рослин: лепешняк великий (*Glyceria maxima* (C. Hartm.) Holmb), настурція лікарська (*Nasturtium officinale* R. Br.) та незабудка болотяна (*Myosotis palustris* (L.) L.). Ці види поширені від Європи до Центральної Азії. Всі вони – типові гідрофіти, однак перший вид має довге повзуче кореневище закріплене переважно у прибережному ґрунті, а решта – слаборозвинені підземні пагони, які кріпляться до прибережного мулу. *G. maxima* цвіте у травні – липні, *N. officinale* і *M. palustris* – у травні – вересні. Лепешняк великий відібраний після періоду вегетації, а настурція лікарська та незабудка болотяна – під час вегетації.

Частину відібраних зразків рослин поміщено у простерилізовані скляні банки ємністю 3 л із водою з р. Серет, що прийняли за контроль (К). Для модельного досліду (Д) у річкову воду додавали розчин дигідрофосфату натрію (NaH_2PO_4), в якому фосфор (P) взятий у кількості 3,5 мг/дм³ – концентрація, за якої елемент активно поглинається рослинами з води та рівномірно розподіляється у листі, стеблах та коренях (Pasichnaja et al., 2015). Експозиція рослин на розчинах і у природній воді тривала чотири місяці (із жовтня по січень). Температура повітря у приміщенні становила 18–20 ºС, температура води – 14–16 ºС, освітленість – 10 000 Лк за допомогою люмінесцентних ламп (світлова/темнова фази – 16/8 год). Вміст фосфору в рослинах визначали за допомогою методики Gorodnij (1972). Визначення перманганатної та біхроматної окиснюваності води проводили за методиками Leite and Lure (1975) та Lure (1973).

Результати та їх обговорення

Перманганатна та біхроматна окиснюваність води зросла з першого по четвертий місяці, що пов'язано з незначним збільшенням у воді кількості органічних речовин (рис. 1, 2).

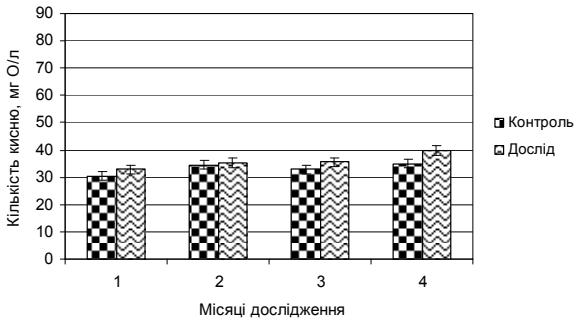


Рис. 1. Динаміка перманганатної окиснюваності у контрольних і дослідних пробах води:
місяці дослідження: 1 – жовтень, 2 – листопад, 3 – грудень, 4 – січень; M ± m, n = 5

Незначне зростання показників окиснюваності у дослідних пробах, порівняно з контрольними, вказує на те, що сполуки фосфору не лімітують окиснюваність води р. Серет. Органічна речовина у водному середовищі постійно розкладається на прості низькомолекулярні сполуки, які, у свою чергу, внаслідок життєдіяльності мікроорганізмів та у процесі хімічного

окиснення розкладаються до низькомолекулярних неорганічних сполук (Kokin, 1982; Romanenko, 2001). Для росту та розвитку рослин потрібне поживне середовище, передусім азот і фосфор (Pasichnaja et al., 2015), тому наявність значної кількості органіки у воді – сприятливий фактор для культивування рослин.

Концентрація фосфатів у воді дослідних проб, порівняно з контрольними, збільшилася упродовж першого місяця у 1,31 раза, другого – у 3,40, третього – у 7,37, а четвертого – у 1,31 раза (рис. 3).

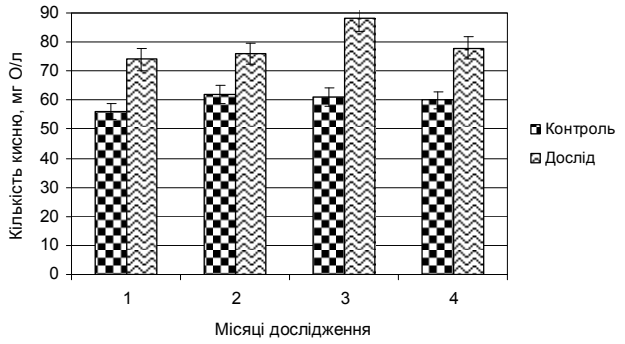


Рис. 2. Динаміка біхроматної окиснюваності у контрольних і дослідних пробах води: позначення див. рис. 1

Рис. 3. Концентрація фосфатів у контрольних і дослідних пробах води: позначення див. рис. 1

Максимальний вміст фосфатів у дослідних пробах на другий місяць – наслідок внесення фосфат-іонів на перший місяць експерименту. Загальновідомо (Prokopchuk and Grubinko, 2013), що зміни вмісту фосфору у водних екосистемах визначаються режимом його надходження та умовами трансформації в самій водоймі. Кожна водойма характеризується властивими їй гідрологічними та гідрохімічними умовами, розвитком фітопланктону, вищих водних рослин та рівнем антропогенного навантаження, що визначають рівень концентрації фосфатів у воді. Тому для вивчення сезонної динаміки вмісту фосфору у воді варто мати уявлення про кількісне накопичення цього елемента водними рослинами.

У кореневій системі контрольної групи рослин *G. maxima* вміст фосфору збільшився з першого по третій місяці, а з третього по четвертий – зменшився (рис. 4). У дослідної групи з першого по третій місяці вміст фосфору знизився, а з третього по четвертий – збільшився. Найбільша різниця між вмістом фосфору в контрольних і дослідних пробах виявлена на четвертий місяць, коли дослідні рослини мали в 1,64 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні. У стебловій частині контрольної групи рослин вміст фосфору коливався. У дослідної групи з першого по другий місяці вміст фосфору зменшився у 1,87 раза, а з другого по четвертий місяці – збільшився у 1,55 раза. Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах спостерігалась на перший місяць, коли дослідні рослини мали в 3,33 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні. У листі контрольної групи рослин вміст фосфору зменшився з першого по третій місяці, а з третього по четвертий – незначно збільшився. У дослідної групи, навпаки, з першого по третій місяці вміст фосфору збільшився, а з третього по четвертий – зменшився в 1,40 раза. Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах зареєстрована на третій місяць, коли дослідні рослини мали в 1,94 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні.

Вміст фосфору з контрольної групи в усій рослині загалом коливався. Натомість, у дослідної групи з першого по другий місяці вміст фосфору зменшився, а з другого по четвертий – збільшився. Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах спостерігалася на перший місяць, коли дослідні рослини мали в 1,71 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні. Отже, найбільше фосфор акумулює коренева система *G. maxima* з максимальними показниками на четвертий місяць досліджень.

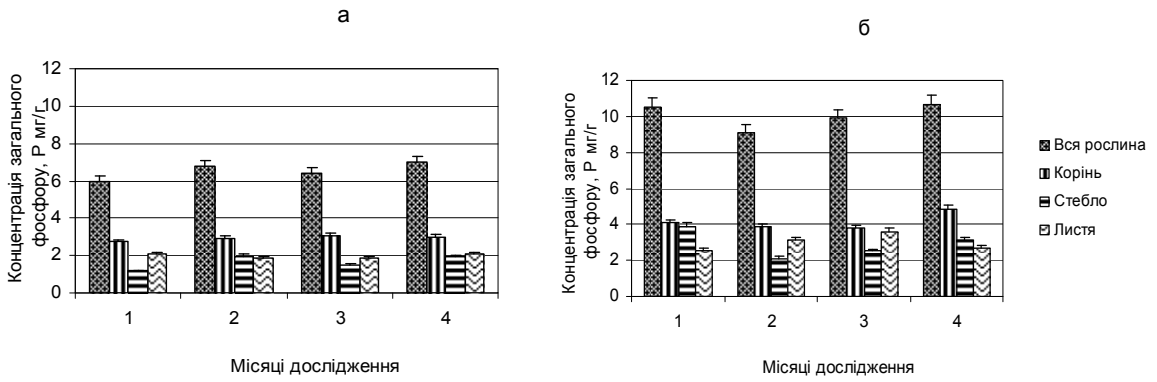


Рис. 4. Динаміка вмісту фосфору в рослинах *G. maxima*:
а – контрольні, *б* – дослідні проби; місяці дослідження: *1* – жовтень, *2* – листопад, *3* – грудень, *4* – січень; M ± m, n = 3

Вміст фосфору у корені *N. officinale* контрольної групи рослин збільшився з першого по другий місяць в 1,61 раза, а з другого по четвертий зменшився (рис. 5). У дослідної групи з першого по четвертий місяць спостерігали зростання вмісту фосфору у 2,97 раза. Найбільша різниця між вмістом фосфору в контрольних і дослідних пробах зареєстрована на четвертий місяць експерименту, коли дослідні рослини мали в 3,63 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні.

У стеблах рослин контрольної групи вміст фосфору збільшився з першого по другий місяць в 1,95 раза, а з другого по четвертий зменшився у 2,32 раза. У рослин дослідної групи з першого по третій місяць вміст фосфору незначно зменшився, а з третього по четвертий – збільшився у 1,50 раза. Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах зареєстрована на четвертий місяць, коли дослідні рослини мали в 3,54 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні.

У листі контрольної групи рослин, подібно до кореневої та стеблової частин, вміст фосфору збільшився з першого по другий місяць, а з другого по четвертий зменшився. У дослідної групи з першого по четвертий місяць спостерігали зростання вмісту фосфору (у 2,04 раза щодо першого місяця). Найбільша різниця між вмістом фосфору зареєстрована в контрольних і дослідних пробах на третій місяць експерименту, коли дослідні рослини мали в 3,37 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні.

В усій рослині загалом із контрольної групи вміст фосфору збільшився з першого по другий місяць в 1,76 раза, а з другого по четвертий зменшився. У дослідної групи з першого по четвертий місяць спостерігали зростання вмісту фосфору у 2,06 раза, щодо першого місяця. Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах зареєстрована на перший місяць, коли дослідні рослини мали в 3,52 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні.

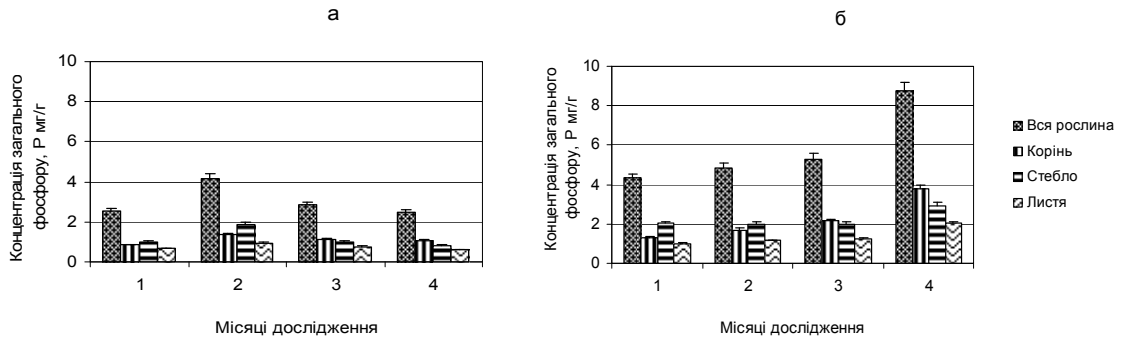


Рис. 5. Динаміка вмісту фосфору в рослинах *N. officinale*: позначении див. рис. 4

У кореневій системі контрольної групи рослин *M. palustris* вміст фосфору збільшився з першого по другий місяць, а з другого по четвертий – зменшився у 1,97 раза (рис. 6). У рослин дослідної групи з першого по четвертий місяць спостерігали зростання вмісту фосфору (у 7,53 раза щодо першого місяця). Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах спостерігалася на четвертий місяць, коли дослідні рослини мали в 4,92 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні. У стебловій частині контрольної групи рослин вміст фосфору збільшився з першого по другий місяць, а з другого по четвертий – зменшився в 1,71 раза. У рослин дослідної групи вміст фосфору коливався. Найбільша різниця між вмістом фосфору в контрольних і дослідних пробах зареєстрована на четвертий місяць досліджень, коли рослини мали в 4,57 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні. Вміст фосфору у листі *M. palustris* контрольної та дослідної груп коливався. Найбільша різниця між вмістом фосфору у контрольних і дослідних пробах зареєстрована на третій місяць спостережень, коли дослідні рослини мали в 3,11 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні.

В усій рослині *M. palustris* загалом найбільшу різницю між вмістом фосфору в контрольних і дослідних пробах спостерігали на першому місяці спостережень, коли дослідні рослини мали в 4,13 раза більший вміст фосфору, ніж контрольні. Отже, найбільше акумулює фосфор у *M. palustris* стебло з максимальними показниками на четвертий місяць досліджень. *M. palustris*, подібно до *N. officinale* – напівприкріплені водні рослини зі слабко розвиненою кореневою системою, тому саме стебло в них найбільше акумулює фосфор.

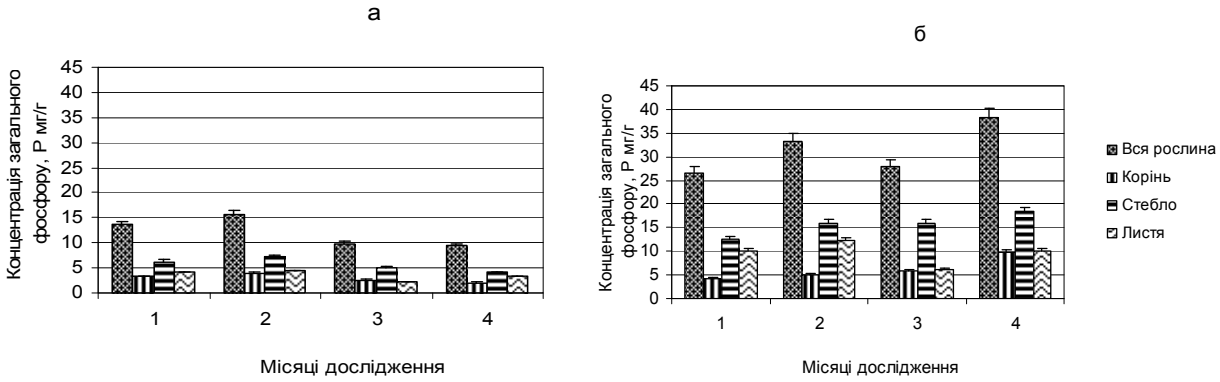


Рис. 6. Динаміка вмісту фосфору в *M. palustris*: позначении див. рис. 4

Порівняння дослідних рослин виявило, що найбільше акумулювала фосфор у *G. maxima* коренева система, у *N. officinale* та *M. palustris* – стебло. Поясненням цьому може бути зростання *G. maxima* на прибережному ґрунті без постійного прямого контакту з водоймою, а *N. officinale* та *M. palustris* – у водоймі зі значним зануренням у воді стеблової частини рослини.

Зменшення накопичувальної здатності у рослин відбувалося по-різному. У *G. maxima* 44,9% у контрольних і 41,1% фосфору у дослідних пробах акумульовано у корені, 31,0% і 35,0% – у листі та 23,6% і 24,3% – у стеблі, відповідно. У *N. officinale* 42,3% у контрольних і 44,2% у дослідних пробах акумульовано у стеблі, 32,9% і 32,4% – у корені та 25,2% і 23,2% – у листі, відповідно. У *M. palustris* 47,0% у контрольних і 50,1% у дослідних пробах акумульовано у стеблі, 31,0% і 30,5% – у листі, 23,6% і 19,4% – у корені, відповідно. Отже, у *M. palustris* найкраще розвинена стеблово-листкова акумуляція фосфору, у *N. officinale* – коренево-стеблова, а у *G. maxima* – коренева.

Щодо рівня накопичення фосфору окремими видами рослин як у контрольних, так і дослідних пробах за чотири місяці досліджень у порядку зменшення накопичувальної здатності види можна розмістити в такій послідовності: *M. palustris* → *G. maxima* → *N. officinale*. При цьому вміст фосфору в *M. palustris* майже в 1,84 раза у контрольних та 3,12 раза у дослідних пробах вищий, ніж у *G. maxima*, та у 4,15 раза у контрольних і у 5,60 раза у дослідних пробах вищий, ніж у *N. officinale*. Виявлена закономірність дозволяє стверджувати, що *M. palustris* серед досліджуваних рослин володіє найбільшою акумулятивною здатністю щодо сполук фосфору. Відмінності можуть бути пов'язані з особливостями будови кореневої системи, стебел і листків рослин, а також фізіологічними особливостями життєдіяльності та обміну речовин, еколого-фізіологічними вимогами рослин до середовища існування.

M. palustris має найвищий коефіцієнт акумуляції фосфору з води (25,9% у контрольних і 27,8% дослідних пробах), *G. maxima* – 14,1% та 9,5%, а *N. officinale* – 6,5% і 5,1%, відповідно. При цьому *G. maxima* має високу здатність акумулювати фосфати кореневою системою, *N. officinale* – кореневою та стебловою частинами, а *M. palustris* – стебловою. Тому для вилучення фосфатів із ґрунту та намулу водойм можна запропонувати культивувати *G. maxima*, а для зменшення евтрофікації водойм – *M. palustris* і *N. officinale*.

У *G. maxima* максимальні показники вмісту фосфору в кореневій системі співвідносяться з мінімальними показниками концентрації фосфат-іонів у воді (максимальний r = –0,93 у контрольних пробах на другий місяць). Максимальні показники вмісту фосфору у стеблі *N. officinale* співвідносяться із максимальними показниками вмісту фосфат-іонів у воді (r = 0,53 у контрольних пробах). Упродовж чотирьох місяців дослідження у *G. maxima* максимальну частку фосфору накопичувала у корені, а мінімальну – у першому та четвертому місяці – у листі (рис. 7).

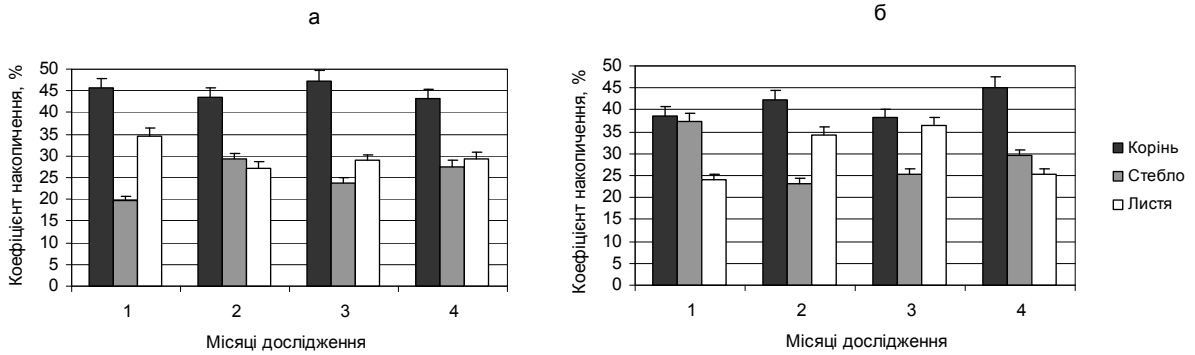


Рис. 7. Коефіцієнт накопичення фосфору в рослинах *G. maxima*: позначении див. рис. 4

Найвищий коефіцієнт накопичення фосфору та коефіцієнт акумуляції цього елемента з води у *G. maxima* у кореневій системі, особливо на перший та четвертий місяці експозиції. У *N. officinale* упродовж першого та другого місяців дослідження максимальна частка накопичення фосфору зареєстрована у стеблі, на третій та четвертий місяці – у корені, а мінімальна – у листі (рис. 8). Коефіцієнт накопичення фосфору у *M. palustris* максимальний у стеблі, а мінімальний – у корені (рис. 9).

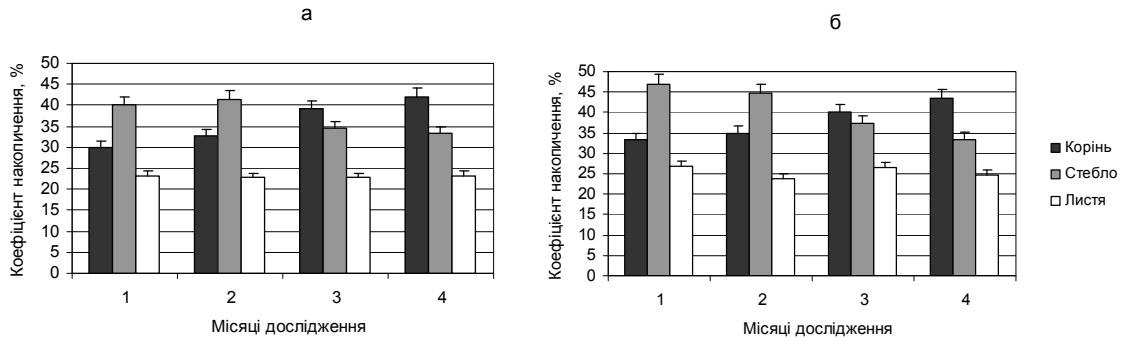


Рис. 8. Коефіцієнт накопичення фосфору в рослинах *N. officinale*: позначении див. рис. 4

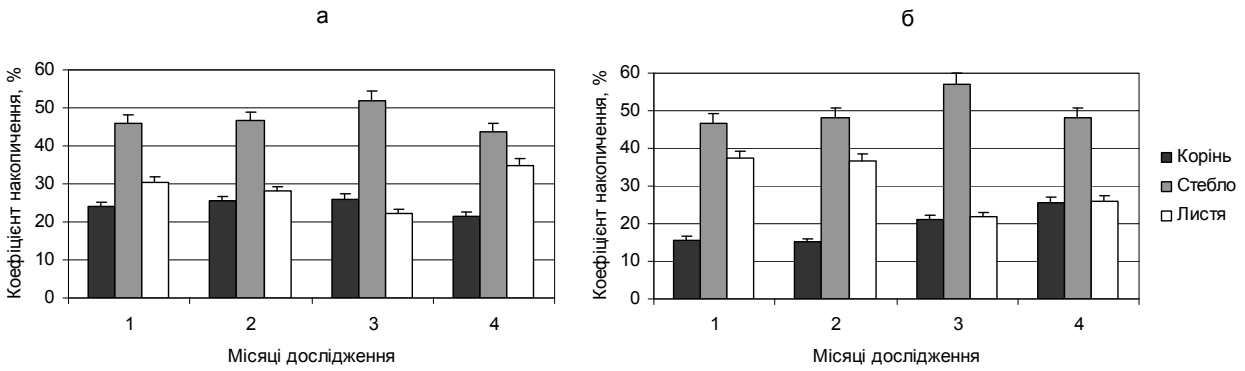


Рис. 9. Коефіцієнт накопичення фосфору в рослинах *M. palustris*: позначении див. рис. 4

У *G. maxima* максимальні показники характерні для кореневої системи рослини, а мінімальні – для листкової. У *N. officinale* максимальні показники зареєстровані для кореневої та стеблової частин, мінімальні – для листкової. У *M. palustris* максимальні показники – для стеблової частини, мінімальні – для кореневої. Поглинання фосфору з води водними рослинами у природних умовах відбувається стебловою частиною рослин, після чого фосфор, як і інші поживні для рослин речовини, спрямовується до зон інтеркалярного та апікального росту (листя, кореня), а потім – у плоди (Kursakov, 1976). Накопичення фосфору у стеблах рослин – одна з ознак достатньої забезпеченості рослин фосфором (Tueva, 1966). Виходячи з отриманих даних, констатуємо той факт, що найкраще забезпечена фосфором *M. palustris*, меншою мірою – *N. officinale*.

Висновки

Усі досліджувані рослини можуть бути ефективними очищувачами водойм від фосфатів. Однак *M. palustris* володіє найбільшою акумулювальною здатністю щодо фосфору та має найвищий коефіцієнт його акумуляції з води. Це дозволяє вважати її наефективнішою рослиною для зменшення забруднення водойм сполуками фосфору. Для вилучення фосфатів із ґрунту та намулу водойм найефективніше культивувати *G. maxima*, а для зменшення евтрофікації водойм – *M. palustris* і *N. officinale*.

Бібліографічні посилання

Adhikari, B., Bag, M., Tripathi, R., 2011. Effect of arsenate on phosphorus accumulation in rice under simulated condition. J. Crop Weed 7(1), 8–11.

Chao, W., Sha-Sha, Z., Pei-Fang, W., Jin, Q., 2014. Effects of vegetations on the removal of contaminants in aquatic environments: A review. J. Hydrodynam. 26(4), 497–511.

Conley, D., Paerl, H., Howarth, R., Boesch, D., Seitzinger, S., Havens, K., Lancelot, C., Likens, G., 2009. Controlling eutrophication: Nitrogen and phosphorus. Science 323, 1014–1015.

Costa, A., Rolim, M., Bonfim-Silva, E., Neto, D., Pedrosa, E., Silva, E., 2016. Accumulation of nitrogen, phosphorus and potassium in sugarcane cultivated under different types of water management and doses of nitrogen. Aust. J. Crop Sci. 10(3), 362–369.

DeBusk, T., Peterson, J., Reddy, K., 1995. Use of aquatic and terrestrial plants for removing phosphorus from dairy wastewaters. Ecol. Eng. 5, 371–390.

Foroughi, M., 2011. Role of *Ceratophyllum demersum* in recycling macro elements from wastewater. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 15(2), 401–405.

Gerard, J., Brion, N., Triest, L., 2014. Effect of water column phosphorus reduction on competitive outcome and traits of *Ludwigia grandiflora* and *L. peploides*, invasive species in Europe. Aquatic Invasions 9(2), 157–166.

Gorodnij, M.M., 1972. Agrohimichnyj analiz [Agrochemical analysis]. Vyshcha Shkola, Kyiv (in Ukrainian).

Henares, M., Camargo, A., 2014. Estimating nitrogen and phosphorus saturation point for *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Salvinia molesta* Mitchell in mesocosms used to treating aquaculture effluent. Acta Limnol. Bras. 26(4), 420–428.

Jaiswal, S., 2011. Growth and nutrient accumulation by *Eicchornia crassipes* (Mart.) solms in Robertsnon lake, Jabalpur, India. Ecoprint: An International Journal of Ecology 18, 91–100.

Jastrzebska, M., Kostrzewska, M., Wanic, M., Makowski, P., Treder, K., 2015. Phosphorus content in spring Barley and red clover plants in pure and mixed sowing. Acta Scientiarum Polonorum seria Agricultura 14(1), 21–32.

Kao, J., Titus, J., Zhu, W., 2003. N and P retention by five wetland plant species. Wetland 23(4), 979–987.

Kokin, K.A., 1982. Ekologija vysshyh vodnyh rastenij [Ecology of higher aquatic plants]. Izd-vo Moskovskogo Univ., Moscow (in Russian).

Kröger, R., Holland, M., Moore, M., Cooper, C., 2007. Plant senescence: A mechanism for nutrient release in temperate agricultural wetlands. Environ. Pollut. 146, 114–119.

Kursakov, A.L., 1976. Transport asimiljatov v rastenii [Transport assimilates in the plant]. Nauka, Moscow (in Russian).

Leite, V., Lure, Y., 1975. Opredelenie orhanicheskikh zahriaznenii pitevykh, prirodnykh i stochnykh vod [Definition of organic pollution of fresh, natural and flowing waters]. Khimiia, Moscow (in Russian).

Lorenzena, B., Brixa, H., Mendelssohnb, I., McKee, K., Miao, S., 2001. Growth, biomass allocation and nutrient use efficiency in *Cladium jamaicense* and *Typha domingensis* as affected by phosphorus and oxygen availability. Aquat. Bot. 70, 117–133.

Lure, Y., 1973. Unifitsyrovanye metody analiza vod [Unify methods of water analysis]. Khimiia, Moscow (in Russian).

Marbaniang, D., Chaturvedi, S., 2014. Cadmium uptake and phytoremediation potential of three aquatic macrophytes of Meghalaya, India. International Research Journal of Environment Sciences 3(6), 25–32.

Marion, L., Paillisson, J., 2003. A mass balance assessment of the contribution of floating-leaved macrophytes in nutrient

stocks in an eutrophic macrophyte-dominated lake. Aquat. Bot. 75, 249–260.
Nouri, J., Khorasani, N., Lorestani, B., Karami, M., Hassani, A., Yousef, N., 2009. Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. Environ. Earth Sci. 59, 315–323.
Ostertag, R., 2010. Foliar nitrogen and phosphorus accumulation responses after fertilization: An example from nutrient-limited Hawaiian forests. Plant Soil 334, 85–98.
Padmanabhan, P., Starnes, D., Sahi, S., 2013. Differential responses of Duo grass (*Lolium* × *Festuca*), a phosphorus hyperaccumulator to high phosphorus and poultry manure treatments. Afr. J. Biotechnol. 12(21), 3191–3195.
Pasichnaja, E.A., Gorbatjuk, L.O., Arsan, O.M., Savluchinskaja, M.A., Kuklja, I.G., Platonov, N.A., Burmistrenko, S.P., 2015. Vlijanie soedinenij fosfora na vodnye rastenija (obzor) [Effect of phosphorus on the aquatic plants (review)]. Gidrobiologicheskij Zhurnal 51(1), 93–108 (in Russian).
Paytan, A., 2011. Tracing the sources and biogeochemical cycling of phosphorus in aquatic systems using isotopes of oxygen in phosphate. Handbook of environmental isotope geochemistry, advances in isotope geochemistry. Springer-Verlag, Berlin.
Prokopchuk, E.I., 2015. Korreljacionnyj analiz zavisimosti urovnja fosfatov v rekah ot fiziko-himicheskih pokazatelej vody (na primere Ternopol'skoj oblasti) [Correlation analysis depending on the level of phosphates in rivers from the physico-chemical parameters of water (by the example of Ternopil region)]. Biologija: Vid molekuly do biosfery. P. 221–222 (in Russian).
Prokopchuk, O., Kurta, J., 2015. Vodnevyj pokaznyk (pH) jak faktor reguljacii rivnja spoluk fosforu u vodi malyh richok [pH as a factor in the regulation of phosphorus in the water of small rivers]. Molod' i Postup Biologii, 224–225 (in Ukrainian).
Prokopchuk, O.I., Grubinko, V.V., 2013. Fosfaty u vodnyh ekosystemah [Phosphates in aquatic ecosystems]. Naukovi Zapysky TNPU im. V. Hnatiuka. Seria Biologia 56, 78–85 (in Ukrainian).
Richardson, A., Lynch, J., Ryan, P., Delhaize, E., Smith, F., Smith, S., Harvey, P., Ryan, M., Veneklaas, E., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R., Simpson, R., 2011. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. Plant Soil 349, 21–156.
Romanenko, V., 2001. Osnovy hidroekolohii [Basics of hydroecology]. Oberehu, Kyiv (in Ukrainian).
Rooney, N., Kalff, J., Habel, C., 2003. The role of submerged macrophyte beds in phosphorus and sediment accumulation in Lake Memphremagog, Quebec, Canada. Limnol. Oceanogr. 48(5), 1927–1937.
Ruttenberg, K., 2003. The global phosphorus cycle. Treatise on Geochemistry 8, 585–633.
Shaibur, M., Adjadeh, T., Kawai, S., 2013. Effect of phosphorus on the concentrations of arsenic, iron and some other elements in barley grown hydroponically. J. Soil Sci. Plant Nutr. 13(1), 87–98.
Siddiqui, S., Umar, S., Husen, A., Iqbal, M., 2015. Effect of phosphorus on plant growth and nutrient accumulation in a high and a low zinc accumulating chickpea genotypes. Annals of Phytomedicine 4(2), 102–105.
Sytnik, K.M., 1972. Fiziologija kornja [Root physiology]. Naukova Dumka, Kyiv (in Russian).
Tueva, O.F., 1966. Fosfor v pitanii rastenij [Phosphorus in plant nutrition]. Nauka, Moscow (in Russian).
Xing, W., Huang, W., Liu, G., 2010. Effect of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid. Environ. Toxicol. 25, 103–112.
Yu, X., Li, Z., Zhao, S., Li, K., 2013. Biomass accumulation and water purification of water spinach planted on water surface by floating beds for treating biogas slurry. J. Environ. Prot. 4, 1230–1235.

Надійшла до редколегії 06.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 444–450.

doi:10.15421/011660

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 582.632.2:581.116

Водний обмін листя *Quercus robur* у протиерозійному насадженні на півдні ареалу виду

В.П. Бессонова, В.В. Ткач, А.П. Криворучко

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпропетровськ, Україна

Досліджено головні параметри водного обміну листків *Quercus robur* L., який зростає на схилі південної експозиції байраку Військовий в умовах різного водозабезпечення. Найбільша інтенсивність транспірації листків *Q. robur* виявлена в лісорослинних умовах $СГ_2$, найменша – $СГ_{1–0}$. В усі строки досліджень найбільша амплітуда денних коливань інтенсивності транспірації спостерігається у листя рослин тальвегу, на інших дослідних ділянках межі значно менші. Найвищі показники транспірації реєструються у вересні, що пов'язано з високими температурами та пониженням відносної вологості повітря, порівняно з днями вимірювання у липні та травні. На початку вегетації кількість води в листках дерев, що зростають у середній і верхній частинах схилу, не відрізняється, але вона більша у рослин тальвегу. В наступні місяці різниця між вмістом води в листках дерев тальвегу та верхньої третини схилу збільшується. Листя дерев, які зростають за умов найгіршого водозабезпечення, характеризується найвищою водоутримувальною здатністю, що узгоджується з найбільшою кількістю в них гідрофільних колоїдів. Величини водного дефіциту у травні та липні перебувають у межах максимальних коливань для даного виду дерев, але на початку вересня в листків верхньої третини схилу вони перевищують максимальні значення.

Ключові слова: байрачний ліс; інтенсивність транспірації; водоутримувальна здатність; водний дефіцит

Water metabolism of leaves of *Quercus robur* in antierosion stands in the south of its range

V.P. Bessonova, V.V. Tkach, A.P. Kryvoruchko

Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine

We have investigated the main parameters of water exchange of leaves of *Quercus robur* L. which grow on the south-facing slope of the Viyskoviy ravine under a variety of water supply conditions. We established that the greatest intensity of transpiration of leaves of *Q. robur* occurred in the forest vegetation conditions of SG_2, the smallest in $SG_{1–0}$. In all study periods the largest amplitude of daily fluctuations in intensity of transpiration occurred in leaves of plants along the talweg, at other test sites the limits were much lower. The highest rates of transpiration were in September, which is connected with the high temperatures and lower relative air humidity compared with the days of measurement in July and May. We established that at the beginning of the growing season there was no difference in the total amount of water in the leaves of the trees that grow on the middle and upper parts of the slope, but that it was greater in plants along the talweg. In the following months the difference between the water content in the leaves of trees along the talweg and upper third of the slope increased. The leaves of trees that grow in the poorest conditions of water supply were characterized by the highest water-holding capacity, which is coordinated with their containing the highest content of hydrophilic colloids. The values for water deficit in May and in July fell within the maximum fluctuations for the species studied, but in early September they exceeded the maximum value in the leaves of trees on the upper third of the slope.

Keywords: ravine forest; intensity of transpiration; water-holding capacity; water deficit

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, вул. С. Єфремова, 25, Дніпропетровськ, 49600, Україна
Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, S. Ephraim Str., 25, Dnipropetrovsk, 49600, Ukraine
Tel.: +38-050-070-26-96. E-mail: tkachviktoria29@gmail.com

Вступ

В умовах розчленованого рельєфу та малої лісистості у Північному Степу України байрачні ліси виконують важливі протиерозійні та рекреаційні функції. Основна лісотвірна порода таких лісів – дуб звичайний (*Quercus robur* L.). Умови для його зростання на різних ділянках байрачного лісу можуть значно відрізнятися. Схили південної експозиції характеризуються більш вираженими процесами ерозії, різко відмінними мікрокліматичними умовами (вищі температури, гірше водозабезпечення), ніж схили північної експозиції (Belgard, 1950, 1971). Характерно, що у зв'язку зі зміною клімату та глобальним потеплінням почастішала негативна дія мікрокліматичних особливостей місцеперебування на рослини, зокрема, таких екстремальних чинників як високі температури влітку, різкий їх перепад взимку, посуха, нерівномірність водозабезпечення. Умови зростання рослин погіршуються. Деякі дослідники вказують, що зі змінами екологічних чинників актуальними стають дослідження їх водного режиму (Bajura, 2011; Bowling, 2015). Питання водного обміну рослин як важливий аспект екофізіології успішно розробляється (Claus et al., 1995; Kjelgren and Montague, 1998; Wheeler and Stroock, 2008; Santesteban, 2009; Zaharia, 2009; Chastain et al., 2014; Andrianasolo et al., 2016). Особливе значення це має для такої лісотвірної культури як дуб звичайний.

Вивчення водообміну рослин дає можливість оцінити ступінь стійкості та пристосованості рослин до умов зростання, а також має суттєве значення для обґрунтування підвищення їх продуктивності та розрахунку середовищетвірної ролі. Розуміння адаптивних механізмів за різних умов водозабезпечення допоможе зберегти генофонд дубових лісів, їх рослинний і тваринний світ (Fedorchenko and Brygadyrenko, 2008; Brygadyrenko, 2014, 2015). Визначення транспірації лісу дозволяє правильніше оцінити гідрологічну ефективність лісових насаджень і своєчасно здійснювати заходи зі збереження та підвищення їх гідрологічної ролі (Pjatnickij, 1970), водоохоронних якостей.

Водний режим *Q. robur* вивчала низка дослідників у різних умовах зростання. В.І. Образцова (Obrazcova, 1960) виявила, що літня транспірація дуба раннього на легких і супіщаних ґрунтах Степу України інтенсивніша, ніж на важких суглинках. Співставлення особливостей випаровування води у процесі транспірації дуба звичайного та ясена звичайного здійснили в різних лісорослинних умовах Південно-Східної України В.І. Образцова та Н.П. Коцюбинська (Obrazcova and Kocjubinskaja, 1976). Ю.Л. Цельнікер (Celniker, 1955b) дослідила показники водного режиму дуба звичайного та ясена пухнастого в Деркульському Степу. Порівняння інтенсивності транспірації сіянців і саджанців дуба звичайного дібровного та суборевого походження показало переваги в умовах свіжого субору суборевого екотипу над дібровним (Grevcova, 1970). К.З. Зіятдінова зі співавторами (Zijatdinova et al., 2013) проаналізували вплив техногенного забруднення на водний обмін листків дуба звичайного в умовах м. Уфа, Н.Г. Нестерова та І.П. Григорюк (Nesterova and Grigorjuk, 2013) – вуличних насаджень м. Київ. Мета цієї статті – охарактеризувати показники водного обміну листків дуба звичайного, який зростає в умовах різного водозабезпечення байраку Військовий.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – дуб звичайний (*Quercus robur* L.) природного походження, який зростає у байраку Військовий Дніпропетровської області. Вік дерев – 15–20 років. Вивчення водного режиму здійснювали на трьох пробних ділянках. Пробна ділянка I розташована у тальвегу, II – у середній частині схилу південної експозиції, III – у верхній його третині.

У тальвегу байраку сформовано свіжі суглинисті делювіальні чорноземно-лучні ґрунти – $СГ_2$, на середній третині схилу – звичайний слабовилужений сухуватий суглинистий чорнозем $СГ_1$, ґрунт верхньої третини схилу представлений звичайним слабовилуженим сухуватим суглинистим чорноземом – $СГ_{1–0}$.

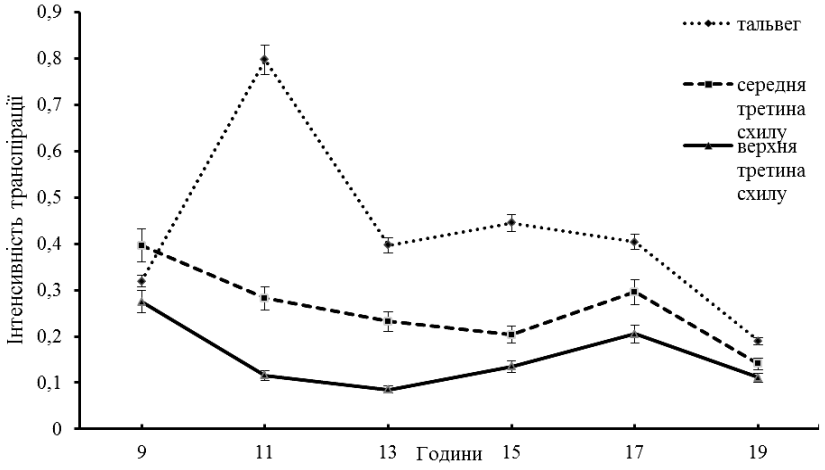
Проби для аналізів відбирали 17 травня, 12 липня та 6 вересня з південно-східної частини крони на висоті 2,0 м від поверхні ґрунту. Інтенсивність транспірації листків визначали методом їх швидкого зважування на електронних вагах ТВЕ–0,21–0,001, через 5 хвилин проводили повторне зважування. Кількість випаруваної води розраховували на 1 г сирої маси за годину. Кількість загальної води в листках визначали висушуванням рослинних зразків до постійної маси за температури 105 °С, і розраховували у відсотках до сирої маси. Водоутримувальну здатність встановлювали методом «в'янення» за А.А. Арландом і характеризували за втратою води через 30, 60 і 120 хвилин, показники виражали у відсотках до початкового вмісту вологи у зразках (Arland, 1960). Післяполуденний дефіцит води у листках визначали за збільшенням ваги висічок після їх насичення водою (Bessonova, 2006).

Суху вагу колоїдів встановлювали шляхом їх екстракції (Kushnirenko et al., 1970). Одночасно з відбором проб вимірювали температуру та вологість повітря електронним термогігрометром ТА–308.

Розраховували середнє арифметичне значення ознак і стандартну помилку (SE). Перевірку на нормальність розподілу проведено із розрахунком асиметрії та ексцесу. Для оцінки достовірності відмінності між вибірками застосовано критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення

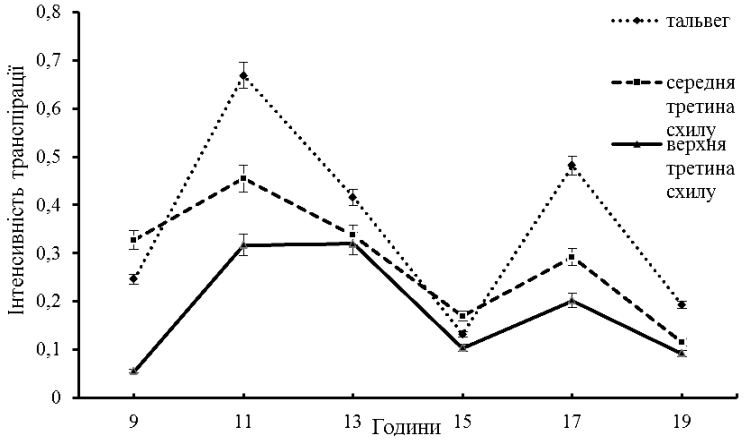
Транспірація значною мірою відбиває стан водного режиму рослин у конкретних умовах (Slejcher, 1970; Cho et al., 1985; Chernyshev et al., 2006; Gorohova, 2011). Характер кривих денного ходу транспірації листків *Q. robur* на схилі південної експозиції байраку в різних лісорослинних умовах відрізняється. У рослин тальвегу денні коливання випаровування води значніші, із двома максимумами об 11 і 15 годинах (рис. 1). Крива ходу транспірації листків рослин у середній частині схилу розлогіша. Найбільші показники встановлені вранці (о 9-й годині) та увечері (о 17-й годині). Така сама закономірність добової зміни інтенсивності транспірації виявлена у рослин верхньої третини схилу. Проте показники випаровування вологи значно менші, ніж у середній частині схилу, особливо об 11, 13 і 15-й годинах – в 2,43, 2,72 і 1,50 раза відповідно. Найвищі значення транспірації – у листків рослин тальвегу, найменші – у рослин верхньої третини схилу.



t, ºC	20	20	25	26	25	22
Відносна вологість повітря, %	52	40	32	28	32	40

Рис. 1. Інтенсивність транспірації (г/г сирої маси за годину) листків *Q. robur* 17 травня

На рисунках 1–3 показано температуру та відносну вологість повітря на верхній і середній частинах схилу. У тальвегу вологість повітря о 9-й годині на 7–15% нижча, а температура на 5–10 ^{0}C менша залежно від місяця відбору проб. У липні інтенсивність транспірації у листків рослин тальвегу, як і в травні, найбільша об 11-й годині (рис. 2). Потім вона знижується (в 3,15 раза) і знову зростає о 17-й годині, але цей максимум менший, ніж перший. Отже, другий максимум порівняно з травнем зсувається на дві години пізніше. У середній частині схилу найвищі показники транспірації спостерігаються (як і в тальвегу) об 11-й годині, але пік зростання менший, ніж в умовах кращого водопостачання. О 15-й годині інтенсивність транспірації падає (в 2,27 раза), потім посилюється.



t, ºC	22	24	26	28	25	20
Відносна вологість повітря, %	56	35	27	26	24	30

Рис. 2. Інтенсивність транспірації (г/г сирої маси за годину) листків *Q. robur* L. 12 липня

У верхній третині схилу значення транспірації листків виражаються меншими величинами, ніж у нижній і середній. У низці праць вказується, що погана водозабезпеченість рослин знижує транспірацію та продихову провідність стосовно рослин, добре забезпечених водою (Sikuku et al., 2010). Об 11-й та 13-й годинах її показники у листків дерев цього варіанта статистично не відрізняються, а о 15-й годині відбувається зниження випаровування.

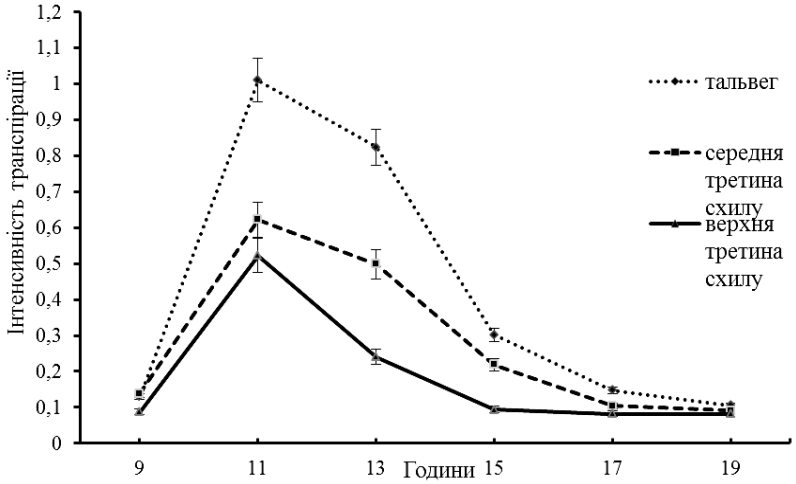
У вересні у рослин *Q. robur*, які зростають у тальвегу (рис. 3), транспірація виражається одновершинною кривою. Найвища вона об 11-й годині, надалі значення поступово зменшуються, причому о 13-й годині вони залишаються на досить високому рівні. У середній і верхній третинах схилу зберігається така сама закономірність, але показники транспірації виражаються меншими цифрами, ніж у тальвегу (особливо у верхній третині). Саме в цей місяць (об 11-й годині) встановлено найвищі показники транспірації стосовно інших строків дослідження, незважаючи на бездощову погоду та подальше зменшення запасів вологи у ґрунті.

Всі місяці дослідження інтенсивність транспірації о 9-й годині у тальвегу нижча, ніж у середній частині схилу, незважаючи на кращу забезпеченість рослин водою. Це пов'язано з більшою вологістю атмосфери у цей час у тальвегу. Відомо, що існує зворотна кореляція між інтенсивністю транспірації та вологістю повітря (Lai et al., 1988).

Таким чином, за гірших умов водопостачання спостерігається економніша витрата води листками на транспірацію. Найінтенсивніша вона в дерев тальвегу, найбільший розбіг змін значень транспірації виявили у вересні. В усі строки досліджень найбільша амплітуда денних коливань інтенсивності транспірації спостеріга-

ється у листків рослин тальвегу, на інших дослідних ділянках межі значно менші.

Лісорослинні умови впливають на вміст води в листках *Q. robur* (табл. 1). На початку вегетації кількість води в листках дерев, які зростають у середній і верхній частинах схилу, не відрізняється, але вона більша у рослин тальвегу. У наступні місяці різниця між вмістом води в листках дерев тальвегу та верхньої третини схилу збільшується, незважаючи на економніший режим витрат води у процесі транспірації останніми. Слід зазначити, що кількість води в листках рослин усіх дослідних ділянок на початку вегетації вища, ніж наприкінці.



t, ºC	26	28	30	35	33	30
Відносна вологість повітря, %	54	32	26	24	23	29

Рис. 3. Інтенсивність транспірації (г/г сирої маси за годину) листків *Q. robur* 6 вересня

Таблиця 1

Динаміка вмісту води (% на сиру масу) в листках дуба звичайного протягом сезону вегетації (n = 25)

Ділянка	17 травня	t_d	12 липня	t_d	6 вересня	t_d
Тальвег	74,30 ± 0,80	–	70,35 ± 0,90	–	68,41 ± 0,62	–
Середня частина схилу	70,34 ± 0,71*	3,70	65,19 ± 0,65*	4,67	63,26 ± 0,93*	4,61
Верхня частина схилу	70,21 ± 0,62	0,14	60,26 ± 0,81*	4,75	58,18 ± 0,67*	4,43

Примітка: * – різниця між контрольним (тальвег) і дослідними (схил) варіантами статистично достовірна за P < 0,05; оцінювали різницю між вибірками за допомогою критерію Стьюдента, після попереднього оцінювання нормальності розподілу.

Суттєвіше (порівняно із травнем) зниження вмісту води спостерігали в липні. У вересні зменшення її кількості стосовно липня менш значне. Аналогічні результати отримані під час вивчення змін кількості води в органах рослин *Vaccinium myrtillus* L. у процесі вегетації (Cybulko and Pazdrowski, 1985).

Зміни водоутримувальної здатності – інтегральний показник, що відображає підсумковий результат складних фізико-хімічних процесів, які відбуваються у цитоплазмі клітин, і тому вони можуть слугувати критерієм стійкості рослин до несприятливих умов зростання (Pospelova, 1971). Порівняння водоутримувальної здатності листків дерев трьох пробних ділянок у травні свідчить, що найбільша вона у листків верхньої третини схилу, втрата води у відсотках від початкової маси найбільша у рослин тальвегу (табл. 2). Така закономірність виявлена як через 30 хвилин, так і через 60 або 120 хвилин досліду. Через 30 хвилин експозиції листки верхньої третини схилу втрачають в 2,12 раза менше води, ніж листки дерев тальвегу, через 2 години – у 2,05.

Таблиця 2

Водоутримувальна здатність (% втрати води від початкової маси) листків *Q. robur* (n = 25)

Варіант	Через 30 хв	t_d	Через 60 хв	t_d	Через 120 хв	t_d
17 травня						
Тальвег	8,69 ± 0,32	–	20,47 ± 0,90	–	36,25 ± 1,24	–
Середня третина схилу	6,25 ± 0,44*	4,48	14,48 ± 0,36*	6,18	25,64 ± 1,32*	5,86
Верхня третина схилу	4,09 ± 0,28*	4,14	11,91 ± 0,42*	4,65	17,64 ± 0,65*	5,44
12 липня						
Тальвег	8,20 ± 0,31	–	14,54 ± 0,36	–	19,37 ± 0,24	–
Середня третина схилу	6,35 ± 0,27*	4,50	10,21 ± 0,62*	6,04	15,37 ± 0,46*	7,71
Верхня третина схилу	4,53 ± 0,24*	5,04	7,2 ± 0,37*	4,17	12,52 ± 0,51*	4,15
6 вересня						
Тальвег	10,78 ± 0,40	–	25,60 ± 0,90	–	37,67 ± 1,24	–
Середня третина схилу	8,53 ± 0,31*	4,45	20,72 ± 0,71*	4,26	31,21 ± 1,12*	3,87
Верхня третина схилу	6,32 ± 0,27*	5,37	15,12 ± 0,62*	5,94	25,63 ± 0,58*	4,42

Примітки: див. табл. 1.

У липні водоутримувальна здатність листків *Q. robur*, якщо порівнювати втрату води через 60 і 120 хвилин, збільшується стосовно травня на всіх пробних ділянках, хоча за меншої експозиції (30 хвилин) різниці немає. Найбільша водоутримувальна здатність притаманна листкам рослин верхньої третини схилу, найменша – тальвегу (як і у травні).

У вересні водоутримувальна здатність листків рослин усіх дослідних ділянок суттєво падає відносно липня. Це може бути пов'язано зі старінням листків, зменшенням кількості гідрофільних колоїдів (табл. 3). Водоутримувальна здатність, як і у попередні місяці, найвища у листків рослин, які зростають в умовах найгіршого водозабезпечення.

Таблиця 3

Вміст гідрофільних колоїдів (мг/г сухої маси) у листках *Q. robur* (n = 25)

Варіант	17 травня	t_d	12 липня	t_d	6 вересня	t_d
Тальвег	30,22 ± 0,78	–	42,16 ± 0,66	–	35,71 ± 0,81	–
Середня частина схилу	36,81 ± 0,54*	6,95	48,79 ± 1,27*	4,63	42,54 ± 0,74*	6,22
Верхня частина схилу	41,34 ± 1,08*	3,75	58,21 ± 1,14*	5,52	49,72 ± 1,36*	4,64

Примітки: див. табл. 1.

Водоутримувальна здатність клітин листків певною мірою залежить від вмісту в них гідрофільних колоїдів (Kushnirenko et al., 1970; Bessonova et al., 1975), які володіють високою властивістю зв'язувати воду (Popova, 1971). Їх вміст найбільший у листках дерев верхньої третини схилу. Гідрофільні сполуки мають високу здатність міцно зв'язувати воду, таким чином запобігаючи зневодненню клітин. Це може бути результатом накопичення неекстрагованих і водорозчинних білків, вміст яких підвищується у процесі адаптації рослин до посухи (Genkel, 1946; Popova, 1971).

Один із важливих показників ступеня забезпечення рослин водою – водний дефіцит. Він добре корелює зі ступенем водозабезпеченості рослин (Kushnirenko, 1967; Kushnirenko et al., 1970; Zielinska, 1985), тому контроль за дефіцитом води в листках під час вивчення водного обміну та ступеня посухостійкості, безперечно, необхідний. Водний дефіцит спричиняє зниження ступеня поглинання води, інтенсивності транспірації, фотосинтезу, активності ферментних систем, процесів росту та розвитку (Harris, 1973; Singh et al., 1973; Watson and Wardlaw, 1981; Zielinska, 1985; Lang and Thorpe, 1986; Shmatko et al., 1989). На початку вегетації у травні показники водного дефіциту у листків рослин тальвегу та середньої частини схилу статистично не відрізняються, у верхній третині схилу водний дефіцит достовірно менший, ніж у рослин тальвегу, можливо, через економне випарування води у процесі транспірації (табл. 4). У липні значення водного дефіциту листків рослин тальвегу та середньої третини схилу, як у травні, близькі, проте у верхній частині схилу цей показник стає більшим, ніж на початку вегетації, і перевищує його величину в листків рослин двох інших ділянок.

У вересні найвище значення водного дефіциту встановлено в листків рослин верхньої третини схилу. Незважаючи на краще забезпечення водою дерев тальвегу, значення водного дефіциту їх листків достатньо високе та співставиме з показниками у рослин середньої частини схилу. Це, певно, пояснюється більшими втратами води у процесі транспірації та меншою водоутримувальною здатністю. Ці рослини зростають в умовах кращого водозабезпечення ($СГ_2$) та поповнення вологи. Значення показника водного дефіциту більші, ніж у травні та липні у рослин усіх дослідних ділянок. І хоча в листків рослин верхньої третини схилу в цей період інтенсивність транспірації найнижча, водний дефіцит, як і у липні, найбільший через погану водозабезпеченість.

Таблиця 4

Водний дефіцит (% від початкової маси) листків *Q. robur* різних дослідних ділянок (n = 25)

Варіант	17 травня	t_d	12 липня	t_d	6 вересня	t_d
Тальвег	19,93 ± 0,50	–	19,82 ± 0,91	–	25,27 ± 1,06	–
Середня третина схилу	17,35 ± 1,20	1,98	18,47 ± 1,42	0,80	27,64 ± 0,94	1,67
Верхня третина схилу	15,87 ± 0,71	1,06	24,85 ± 0,68*	4,05	32,07 ± 1,12*	3,03

Примітки: див. табл. 1.

Згідно з Ю.Л. Цельнікер (Celniker, 1958), котра вивчала водний обмін у Деркульському Степу, оптимальний водний дефіцит для дуба звичайного становить 7,0–11,0%, максимальний – 21,0%. За даними Е.І. Дворецької (Dvoreckaja, 1951) в умовах темно-каштанової зони ґрунтів останній показник становить 17,9%, а за В.З. Гулісашвілі (Gulisashvili, 1938) – 23,0%. Наші дані у травні та липні перебувають у межах коливань максимальних показників, наведених у літературі, але на початку вересня показники водного дефіциту листків верхньої третини схилу перевищують значення максимального водного дефіциту, визначеного різними дослідниками, для інших географічних зон. У більшості видів деревних рослин значення водного дефіциту зазвичай коливається в межах 10–20%. Збільшення його до 40–50% спричинює загибель багатьох деревних рослин (Celniker, 1955a). Доти, доки вплив не переходить критичні норми адаптаційних можливостей живого організму, рослина продовжує більш або менш нормально функціонувати, протидіючи несприятливим факторам довкілля. Перехід їх за порогову величину викликає падіння водоутримувальних сил, результат чого – зниження водозабезпеченості тканин і депресивні явища в метаболізмі рослин (Pudrikova, 1971; Lang and Thorpe, 1986; Grinenko and Bondarev, 1988). Показники водного дефіциту дуба звичайного на всіх дослідних ділянках менші, ніж летальні (табл. 4).

Таким чином, дерева *Q. robur* в умовах ґрунтового зволоження $СГ_1$ й $СГ_{1-0}$ певною мірою адаптовані до

нестачі води. Їх листки характеризуються меншою інтенсивністю транспірації та більшою водоутримувальною здатністю порівняно з рослинами, які зростають в умовах достатнього зволоження ($СГ_2$). Один із факторів зменшення цих показників за умов нестачі води – зростання кількості гідрофільних колоїдів, що сприяє утриманню води клітинами. Але, незважаючи на такі адаптивні зміни рослин верхньої третини схилу, де ґрунтове зволоження найгірше, їх листки характеризуються найбільшим водним дефіцитом у літні та осінні місяці.

Отримані дані свідчать, що у рослин *Q. robur* на південному схилі байраку (у його середній і верхній частинах) складаються напружені умови водного обміну. В таких умовах основним завданням лісового господарства можна вважати максимальне збереження цих дубняків. Своєчасне проведення лісогосподарських заходів потребує оптимізації їх просторової структури для поліпшення мікроклімату. Рекомендуються заходи сприяння природному поновленню цих насаджень.

Висновки

Найбільша інтенсивність транспірації листків *Q. robur* виявлена в лісорослинних умовах $СГ_2$, найменша – $СГ_{1–0}$. В усі строки досліджень найбільша амплітуда денних коливань інтенсивності транспірації спостерігається в листків рослин тальвегу. На інших дослідних ділянках межі значно вужчі. Найвищі показники транспірації реєструються у вересні, що пов'язано з найвищими температурами та пониженням відносної вологості повітря, порівняно з днями вимірювання в липні та травні.

На початку вегетації кількість води в листках дерев *Q. robur*, які зростають у середній та верхній частинах схилу, не відрізняється, але вона більша у рослин тальвегу. У наступні місяці різниця між умістом води в листках дерев тальвегу та верхньої третини схилу дещо збільшується, незважаючи на економніше випаровування води у процесі транспірації в останніх. Під час вегетації кількість загальної води у листках рослин усіх дослідних ділянок зменшується.

Водоутримувальна здатність листків *Q. robur* на всіх дослідних ділянках зменшується протягом вегетації. Найбільша вона у рослин, які зростають у найгірших умовах водозабезпечення (верхня третина схилу), що узгоджується з найвищим умістом гідрофільних колоїдів у листках.

Значення водного дефіциту листків *Q. robur* у травні та липні перебувають у межах максимальних коливань цього показника, але на початку вересня вони перевищують значення максимального водного дефіциту, що свідчить про напруженість водного обміну в цей період.

Бібліографічні посилання

Andrianasolo, F.N., Casadebaig, P., Langlade, N., Debaeke, P., Maury, P., 2016. Effects of plant growth stage and leaf aging on the response of transpiration and photosynthesis to water deficit in sunflower. Funct. Plant Biol. 43(8), 45–56.

Arland, A.A., 1960. Ispol'zovanie fiziologicheskih pokazatelej v sel'skom hozjajstve [The use of physiological indicators in agriculture]. Fiziologija Rastenij 7(2) (in Russian).

Bajura, O.M., 2011. Posuhostijkist' jasena zvychajnogo (*Frahinus ehcelsior* L.) ta jogo dekoratyvni formy v umovah pravoberezhnogo Lisostepu Ukrai'ny [Drought-resistance Ash (*Fraxinus excelsior* L.) and its decorative conditions of right-bank forest-steppe Ukraine]. Naukovyj Visnyk NHTU Ukrai'ny 21(1), 33–38 (in Ukrainian).

Belgard, A.L., 1950. Lesnaja rastitel'nost' Jugo-Vostoka USSR [Forest vegetation South-East SSR]. KGU, Kiev (in Russian).

Belgard, A.L., 1971. Stepnoe lesovedenie [Steppe forestry]. Lesnaja Promyshlenost', Moscow (in Russian).

Bessonova, V.P., 2006. Praktikum z fiziologiji roslin [Workshop on plant physiology]. RVV DDAU, Dnipropetrovs'k (in Ukrainian).

Bessonova, V.P., Koritova, A.I., Mihajlov, O.R., 1975. Nekotorye osobennosti vodnogo rezhima akacii beloj, proizrastajushhej v raznyh uslovijah uvlazhnenija [Some features of the water regime of akacia growing in different moisture conditions]. Voprosy Stepnogo Lesovedenija y Ohrany Prirody. DGU, Dnepropetrovsk (in Russian).

Bowling, D., 2015. Tree transpiration from two forests in the Wasatch Mountains. The University of UTAH.

Brygadyrenko, V.V., 2014. Influence of moisture conditions on the structure of litter invertebrate communities in shelterbelt and plantation forests in Southern Ukraine. Journal of BioScience 22, 77–88.

Brygadyrenko, V.V., 2015. Community structure of litter invertebrates of forest belt ecosystems in the Ukrainian steppe zone. Int. J. Environ. Res. 9(4), 1183–1192.

Cel'niker, J.L., 1955b. Vodnyj rezhim list'ev duba i jasenja pushistogo v Derkul'skoj stepi i vlijanie na nego poliva [Water oak and ash leaves regime fluffy Derkul in the wilderness, and the effect on him of watering]. Trudy Instituta Lesa. AN SSSR, Moscow, 27, 29–45 (in Russian).

Cel'niker, J.L., 1955a. Skorost' poteri vody izolirovannymi list'jami drevesnyh porod i ustojchivost' ih k obezvozhivaniju [The rate of loss of water isolated leaves of trees and their resistance to dehydration]. Trudy Instituta Lesa. AN SSSR, Moscow, 27, 6–28 (in Russian).

Cel'niker, J.L., 1958. O pokazateljah vodnogo rezhima list'ev drevesnyh porod stepnoj zony [About indicators of water regime leaves of trees steppe zone]. Trudy Instituta Lesa. AN SSSR, Moscow, 16, 33–53 (in Russian).

Chastain, D.R., Snider, J.L., Collins, G.D., Perry, C.D., Whitaker, J., Byrd, S.A., 2014. Water deficit in field-grown *Gossypium hirsutum* primarily limits net photosynthesis by decreasing stomatal conductance, increasing photorespiration, and increasing the ratio of dark respiration to gross photosynthesis. J. Plant Physiol. 171(17), 1576–1585.

Chernyshev, V.D., Ivashhenko, E.A., Rezinkina, G.A., Titova, M.S., 2006. Sravnitel'nye pokazateli vodnogo rezhima rastenij dendrarija Gornotaetnoj stancii [Comparative indicators of water regime Arboretum Gornotaetnoy station plant]. Biologicheskie Issledovanija na Gornotaezhnoj Stancii, Vladivostok, 10, 99–108 (in Russian).

Cho, T., Eguchi, H., Kuroda, M., Tanaka, A., Koutaki, M., Ng Ah, L., Matsui, T., 1985. Effect of soil water potential on transpiration rate in cucumber plants. Biotronics 14, 1–6.

Claus, S., Wernecke, P., Pigla, U., Dubsky, G., 1995. A dynamic model describing leaf temperature and transpiration of wheat plants. Ecol. Model. 81, 31–40.

Cybulko, T., Pazdrowski, W., 1985. Zmiennosc zawartosci wody w organach nadziemnych borowski czarnej (*Vaccinium myrtillus* L.) w okresie wegetacyjnym. Pr. Komis. Nauk. Rol. i Komis. Nauk. Les. PTPN 60, 27–32.

Dvoreckaja, E.I., 1951. Nekotorye osobennosti vodnogo rezhima i uglevodnogo obmena drevesnoj i kustarnikovoj rastitel'nosti v uslovijah temno-kashtanovoj zony pochv [Some features of the hydrological regime and carbohydrate metabolism tree and shrub vegetation in conditions of dark

chestnut soil zone]. Tr. In-ta Fiziologii Rastenij im. K.A. Timirjazeva AN SSSR 7(2), 18–26 (in Russian).
Fedorchenko, D.O., Brygadyrenko, V.V., 2008. Osoblyvosti formuvannia bagatovydovych ugrupovan' pidstylkovych bezchrebetnych tvaryn ostrova Khortitsa (Zaporiz'ka oblast') [Peculiarities of litter invertebrates' multispecies complexes formation on the Khortitsa island (Zaporizhzhya province)]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 16(2), 178–185 (in Ukrainian).
Genkel', P.A., 1946. Ustojchivost' rastenij k zasuhe i puti ee povyshenija [Resistance of plants to drought and ways of its improvement]. Trudy Instituta Fiziol. Rast. 5(1), 237 (in Russian).
Gorohova, S.V., 2011. Intensivnost' transpiracii u nekotoryh predstavitelej roda *Corylus* L. [Transpiration activity of some members of the genus *Corylus* L.]. Nauchnye Vedomosti. S. Estestv. Nauki 98, 248–253 (in Russian).
Grevcova, A.T., 1970. Intensivnost' transpiracii sejancev i sazhencev duba chereshchatogo suborevogo i dubravnogo jekotipov [The transpiration activity of the seedlings and nurgelings of English oak suborevogo and oakwood ecotypes]. Voprosy Lesovodstva i Agromelioracii. Urozhaj, Kiev(in Russian).
Grinenko, V.V., Bondarev, J.S., 1988. Vodouderzhivajushhaja sposobnost' tkanej rastenij vzavisimosti ot vodoobespechennosti [The water-holding capacity of plant tissue, depending on the water supply]. Vodnyj Rezhim Rastenij i ih Produktivnost'. Nauka, Moscow. P. 261–268 (in Russian).
Gulisashvili, V.Z., 1938. K voprosu po zasuhoustojchivosti drevesnyh i kustarnikovyh porod [To a question on the drought-resistance of trees and shrubs]. Tr. Tbilisskogo Bot. In-ta 3, 31–40 (in Russian).
Harris, J.D., 1973. Photosynthesis, diffusion resistance and relative plant water content of cotton as influenced by induced water stress. Crop. Sci 15(5), 570–572.
Kjelgren, R., Montague, T., 1998. Urban tree transpiration over turf and asphalt surfaces. Department of Plants, Soils and Biometeorology, Utah State University, Logan 32(1), 35–41.
Kushnirenko, M.D., 1967. Vodnyj rezhim i zasuhoustojchivost' plodovih rastenij [Water regime and drought-resistance of fruit plants]. Karta Moldevenjaskje, Kishinev (in Russian).
Kushnirenko, M.D., Goncharova, J.A., Bondar', E.M., 1970. Metody izuchenija vodnogo obmena i zasuhoustujchivosti plodovih rastenij [Methods of studying water metabolism and drought-resistance of fruit plants]. RIO AN Moldavskoj SSR, Kishinev (in Russian).
Lai, S.-D., Lino, G.-G., Lin, W.-Y., 1988. The transpiration rate of abies georgei and the correlation with environmental factors. Acta Bot. Sin. 30(6), 639–643.
Lang, A., Thorpe, M.R., 1986. Water potential, translocation and assimilate partitioning. J. Exp. Bot. 177, 495–503.
Nesterova, N.G., Grigorjuk, I.P., 2013. Osoblivosti vodnogo rezhimu derevnih roslin v ekologichnih umovah m. Kiyv [Features water regime of woody plants in environmental conditions m. Kyiv]. Zbalansovane Prirodokoristuvannja 2–3, 89–95 (in Ukrainian).
Obrazcova, V.I., 1960. O transpiracii i ovodnennosti list'ev drevesnyh porod v razlichnyh tipah iskusstvennyh lesnyh nasadzhenij v Stepi [About transpiration and water content of leaves of trees in different types of artificial forest in nasadzheny Barrens]. Iskusstvennnye Lesa Stepnoj Zony Ukrainy. HGU, Har'kov, 215–224 (in Russian).
Obrazcova, V.I., Kocjubinskaja, N.P., 1976. Transpiracija duba chereshchatogo i jasenja obyknovennogo v razlichnyh lesorastitel'nyh uslovijah [Transpiration English oak and European ash in various site conditions]. Voprosy Stepnogo Lesovedenija i Ohrany Prirody. DHU, Dnepropetrovsk (in Russian).
Pjatnickij, S.S., 1970. Lesovodstvo i agrolesomelioracija [Foresrty and agroforesrty]. Urozhay, Kiev (in Russian).
Popova, E.A., 1971. Aktivnoe pogloshhenie vody i pronicaemost' kletok kornej hlopchatnika dlja vody pri razlichnoj vodoobespechennosti i koncentracii pitatel'nogo rastvora [Active water absorption and permeability of the roots of cotton cells for water at different water availability and the concentration of the nutrient solution]. Sostojanie Vody i Vodnyj Obmen u Kul'turnih Rastenij. Nauka, Moscow (in Russian).
Pospelova, J.S., 1971. Ispol'zovanie pokazatelja vodouderzhivajushhej sposobnosti tkanej dlja ocenki ustojchivosti sortov vinograda k izmeneniju prirodnyh faktorov [Using indicator water-holding capacity of tissues to assess the stability of the grapes to changing environmental factors]. Sostojanie vody i vodnyj obmen u kul'turnih rastenij. Nauka, Moscow (in Russian).
Pudrikova, L.P., 1971. Izmenenie vodouderzhivajushhej sposobnosti tkanej vinogradnogo rastenija v period vegetacii [Change the water-holding capacity of grape plant tissue during the growing season]. Sostojanie vody i vodnyj obmen kul'turnih rastenij. Nauka, Moscow (in Russian).
Santesteban, L.G., 2009. Effect of water deficit and rewatering on leaf gas exchange and transpiration decline of excised leaves of four grapevine (*Vitis vinifera* L.) 237 cultivars. Sci. Hortic. 121(4), 434–439.
Shmat'ko, I.G., Grigorjuk, I.A., Shvedova, O.E., 1989. Ustojchivost' rastenij k vodnomu i temperaturnym stressam [Resistance of plants to water and temperature stress]. Naukova Dumka, Kiev (in Russian).
Sikuku, P.A., Netondo, G.W., Onyango, J.C., Musyimi, D.M., 2010. Effects of water defict on physiology and morphology of three varieties rained rice (*Oryza sativa* L.). ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 23–28.
Singh, T.N., Paleg, L.G., Aspinall, D., 1973. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress. Aust. S. Biol. Sci. 26(1), 46–46.
Slejcher, R., 1970. Vodnyj rezhim rastenij [Water treatment plants]. Mir, Moscow (in Russian).
Watson, B.T., Wardlaw, J.F., 1981. Metabolism and export of c-labeled photosynthate from waret-stressed leaves. Aust. J. Plant Physiol. 8(2), 143–153.
Wheeler, T.D., Stroock, A.D., 2008. The transpiration of water at negative pressures in a synthetic tree. Nature 455, 208–212.
Zaharia, A., 2009. Research regarding the mechanism of water retention and resistance to drought of *Sempervivum cultivars*. Bul. Univ. Agr. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca Hort. 66, 543–549.
Zielinska, D., 1985. Metody okreslenia deficytu wodnego w tkankach roslin. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 294, 139–152.
Zijatdinova, K.Z., Urazgil'din, R.V., Denisova, A.V., 2013. Vodnyj obmen list'ev duba chereshchatogo (*Quercus robur* L.) v uslovijah tehnogennogo zagreznenija okruzhajushhej sredy [Water metabolism leaves of English oak (*Quercus robur* L.) in the conditions of muddy man-made environment]. Vestnik Cheljabinskogo Gosudarstvennogo Universiteta Biologija 298, 181–184 (in Russian).

Надійшла до редколегії 06.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 451–458.

doi:10.15421/011661

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

UDC 598.293.1:591.5

Spatial patterns of habitat distribution of Corvidae (the case of urban-rural gradient)

A.A. Zimaroyeva[1], A.V. Matsyura[2], K. Jankowski[3]

[1]*Zhytomyr National Argoecological University, Zhytomyr, Ukraine*
[2]*Altai State University, Barnaul, Russia*
[3]*Siedlce University of Natural Sciences and Humanities, Siedlce, Poland*

The spatial distribution and abundance of Corvidae species in Zhytomyr region was studied in terms of the urban-rural gradient. We selected Rook (*Corvus frugilegus* L.), Eurasian Jackdaw (*C. monedula* L.), Hooded Crow (*C. cornix* L.), Common Raven (*C. corax* L.), Eurasian Magpie (*Pica pica* L.) and Eurasian Jay (*Garrulus glandarius* L.) for our observations during 2009–2012. Some 38 survey routes totaling more than 8000 km were surveyed in 21 settlements in Zhytomyr region. Among them 13 routes were in Zhytomyr city. The average density of Rooks was 55.9 birds/km^2. We found a strong correlation between Rook density and rural-urban gradient and observed that the numbers of wintering Rooks in cities significantly increased due to the influx from villages. The peak number of Rooks in villages was registered in the breeding and post-breeding seasons while in the cities it was high in winter and during the spring migration. The average density of Eurasian Magpies in the study area was 8.7 birds/km^2 and we registered weak correlation with the urban-rural gradient. Their maximum density in urban habitats was in the winter period whereas the highest density in rural habitats was fixed in the summer months. The density of Magpies varied insignificantly within a narrow range during the three years of research, which suggests the species has successfully adjusted to the transformed landscapes. Average density of Hooded Crows in towns was 6.6 birds/km^2. The linear relationship between the urban-rural gradient and the density of this species was rather weak. In the breeding period, the birds' density was considerably higher in urban habitats. We also registered that the average density of Hooded Crows changed insignificantly but gradually increased during the study period. The average density of Eurasian Jackdaws was 9.7 birds/km^2 and had high annual dynamics. It also changed significantly during the three years of research. The average density of Eurasian Jays was 2.4 birds/km^2 and varied significantly in different settlements, although the fluctuation range was small (0.1–9.3 birds/km^2). We registered an expansion in the breeding distribution of Eurasian Jays in recent years i.e. the birds began to nest in old urban neighborhoods and small central parks of large cities. However, the number of birds naturally decreased along the gradient of landscape transformation. The impact of urban-rural gradient on Eurasian Jay density was significant but the correlation was weak and negative. The density of this species was highest in small villages (4.9 birds/km^2) and the lowest in medium-sized cities (1.5 birds/km^2). The seasonal density of Jays varied significantly and the greatest value was registered in the post-breeding period. In urban areas the birds' density was much higher in winter compared to the nesting period, and in villages we observed the reverse situation. The number of Eurasian Jays remained almost stable in all the settlements during the study period indicating the stability of the local populations. The average density of the Common Raven was 1.3 birds/km^2 and the highest density was registered in small villages (2.2 birds/km^2), the lowest – in the townships (small urban type settlements) (0.6 birds/km^2). The urban-rural gradient significantly affected the spatial distribution of Common Ravens, but we cannot claim an increase or decrease in their numbers along the gradient of urbanization, since the value of this indicator also depended on habitat conditions in each specific settlement. The spatial distribution of Common Ravens varied seasonally and the highest density was typical in winter due to food migrations towards human settlements.

Keywords: urban habitats; spatial distribution; abundance; Ukraine

Житомирський національний агротехнологічний університет, вул. Старий бульвар, 7, Житомир, 10008, Україна
Zhytomyr National Argoecological University, Stary Boulevard, 7, Zhytomyr, 10008, Ukraine

Алтайський державний університет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Росія
Altai State University, Lenin Ave., 61, Barnaul, 656049, Russia

Природничо-гуманістичний університет в Седльце, вул. Конарського, 2, Седльце, 08-110, Польща
Siedlce University of Natural Sciences and Humanities, ul. Konarskiego, 2, Siedlce, 08-110, Poland
Tel.: +38-098-799-55-13. E-mail: anastasia_zima@yandex.ru, amatsyura@gmail.com, kazjankowski@gmail.com

Особливості просторового та біотопічного розподілу воронових птахів (вплив градієнта урбанізації)

А.А. Зимароєва[1], О.В. Мацюра[2], К. Янковський[3]

[1]*Житомирський національний агротехнологічний університет, Житомир, Україна*
[2]*Алтайський державний університет, Барнаул, Росія*
[3]*Природничо-гуманістичний університет в Седльце, Седльце, Польща*

Протягом 2009–2012 рр. досліджено просторовий розподіл воронових птахів у Житомирській області відповідно градієнту антропогенного навантаження та сезонів року. У Житомирській області зустрічається шість видів воронових птахів: сіра ворона, ворон, грак, галка, сойка, сорока. Середня щільність граків у перший рік досліджень (2009–2010 рр.) становила 50,1 ос./км^2, у другий (2010–2011 рр.) – 58,3 ос./км^2, у третій (2011–2012 рр.) – 59,4 ос./км^2. Зростанню чисельності та подальшій урбанізації сірої ворони, на нашу думку, сприяє велика кількість кормів антропогенного походження, у вигляді харчових і господарських відходів, що дозволяє птахам пережити суворі погодні умови. Інтенсивне зростання чисельності сірої ворони стримує конкуренція з боку грака. За період досліджень помітно змінилася щільність галки в містах. Це свідчить про зростання чисельності міських популяцій і доводить, що у Житомирській області галка – типовий синурбаніст. Сойка активно заселяє всі типи населених пунктів області, а також триває її входження до найбільше перетворених людиною ландшафтів (великі міста), де її чисельність із року в рік зростає – спостерігається активна синантропізація виду. Середня щільність крука за три роки досліджень суттєво не змінилася, хоча спостерігалось її незначне підвищення з 1,2 ос./км^2 у 2009–2010 рр. до 1,5 ос./км^2 у 2011–2012 роках.

Ключові слова: просторовий розподіл; чисельність; Житомир; Україна

Introduction

Birds are an integral part of many ecosystems and quickly respond to the impact of various environmental factors. Birds are a rather ecological flexible group of vertebrates, which can acquire new adaptations and extend their distribution into human settlements under the influence of anthropogenic factors (Clergeau et al., 1998; Luniak, 2004; Blair and Johnson, 2008; Jokimäki et al., 2009). We have distinguished five categories reflecting the successive stages of bird synanthropization (synurbization): seasonal synanthropic – birds visiting population centers, but only reproducing outside human settlements; passive synanthropic – birds, that nest in settlement habitats which are close to nature; optional synurbanistic – birds that breed in settlements; developed synurbanistic – birds, more than a quarter of whose population inhabit urbanized areas and are characterized by certain biological differences from birds inhabiting natural habitats; extreme (full) synurbanistic – birds, the majority of whose population reproduces exclusively in human settlements (Chace and Walsh, 2006; Marzluff and Rodewald, 2008; Møller et al., 2012; Leveau, 2013). Nowadays, Corvidae prefer man-made landscapes and are well adapted to live in both urban and rural habitats due to their high ecological adaptability (Tratalos et al., 2007; Strohbach et al., 2009; Ramalho and Hobbs, 2012). These birds can occupy ecological niches with significant temperature fluctuations, and their generally high metabolism contributes to their omnivorous character and environmental flexibility (Blair and Johnson, 2008; Luck and Smallbone, 2010; Jokimäki and Kaisanlahti-Jokimäki, 2012).

Therefore, many corvids exhibit typical synanthropic features: they actively explore man-made landscapes, are numerous in towns, and therefore cause problems for municipal and sanitary-epidemiological services in places of high concentrations (Conole and Kirkpatrick, 2011; Kendall et al., 2013; Tryjanowski et al., 2015a). Currently, there is a large number of papers relating to the ecology of Corvidae in anthropogenic landscapes (McGowan, 2001; Goławski and Dombrowski, 2011; Laband et al., 2013; Tryjanowski et al., 2013; Tryjanowski et al., 2015b). This high level of interest in the study of Corvidae is associated not only with their large taxonomic and ecological diversity, but also with the challenges posed by their behavior and their practical importance (Luniak, 2004; Marzluff and Rodewald, 2008; Radford and James, 2013).

Research related to the study of corvids in the man-made and natural landscapes of Ukraine remains fragmented and has received hardly any detailed study. A few papers provide data concerning the size or density of certain species in different regions of Ukraine (Poluda and Tsukanova, 2012; Matsyura et al., 2015; Matsyura and Zimaroyeva, 2016). The impact of the rural-urban gradient on corvids in Ukraine has been almost unexplored. The aim of our research was to determine the degree of influence of the rural-urban gradient on the seasonal abundance and density of corvids in various settlements of Zhytomyr region.

Materials and methods

All bird surveys were conducted within Zhytomyr region, which is an region in northern Ukraine (Fig. 1). The administrative center of the oblast is the city of Zhytomyr. Population is 268,903 (2013 est.). The total area of Zhytomyr Oblast is 29,832 km^2. Coordinates: 50.65°N 28.52°E.

We have allocated 5 habitat types within the city. Zhytomyr and the suburban "green zone" (mixed forests, forest parks and ponds). The habitats within the urban areas are: old buildings (2–5 floors), multi-stored buildings (9–14 floors), individual buildings, habitats with artificial green spaces (parks, squares, boulevards) built into the architecture of the city, industrial landscapes. We took into consideration the percentage of various buildings and their distribution, degree of habitat gardening and human pressure.

At the local level (municipal) the urban-rural gradient increases toward suburban green areas (forests, riverine habitats, fields-buffer zones, which are closely associated with the city's economic activity and the flow of tourists), industrial buildings (industrial landscape), cottages, city parks, squares, boulevards, gardens, typical high rise buildings.

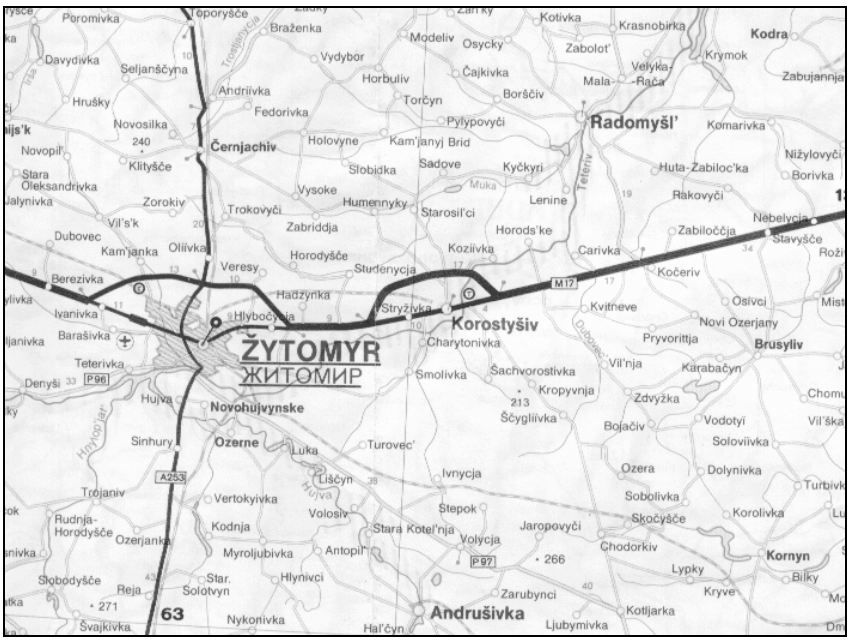


Fig. 1. Map covering the area around the city of Zhytomyr

The urban-rural gradient was scaled: 1 – small villages, 2 – middle-sized villages, 3 – large villages, 4 – townships (small urban type settlements), 5 – small towns, 6 – medium-sized towns, 7 – large cities.

The research objects were *Corvus frugilegus* L., *C. monedula* L., *C. cornix* L., *C. corax* L., *Pica pica* L., *Garrulus glandarius* L. We performed our survey on 38 routes (13 were in the city of Zhytomyr) and 21 were in villages (the length of our routes totalled more than 8.000 km).

The heterogeneity of the urban habitats and lack of adequate field techniques for bird counts in urban areas made it impossible to use a single method for determining the numbers of birds. Therefore, we took a differentiated approach. We used the transect method with variable-width strips in the conditions with different distances between buildings. For the birds in flight, the population density was calculated by Yapp (Bibby et al., 1992):

$$N = \frac{n}{2Rt\sqrt{v_1^2+v_2^2}},$$

where N – number of birds/km^2, n – number of birds in flight, R – radial detection range of individuals (groups of individuals, km), t – duration of observation (hours), v_1 – the speed of a bird (for Hooded Crow – 50 km/h, for others – 30 km/h), v_2 – the speed of the observer (km/h).

The transect width was averaged and it was: for old (3–5 storey) buildings – 60 m, within cottage areas – 100 m, for high rise buildings (9–14-storey) – 80 m, in the industrial zone – 200 m, in parks, squares and boulevards – 300 m.

We used Finnish transect methods in city parks and forest parks. For birds in flight, the density calculation was performed as follows (Ravkin and Chelintsev, 1990):

$$N = \frac{n_1 \times 40 + n_2 \times 10 + n_3 \times 5 + n_4}{t},$$

where t – the time of observation (hours), v – the speed of a bird (for Hooded Crow – 50 km/h, for others – 30 km/h).

We used seasonal differentiation of birds' life cycle as follows: winter (November, 1 – February, 15), pre-breeding (February, 16 – March, 30), nesting (April, 1 – June, 30), post-breeding period (1 July – 31 August) and autumn migration period (September, 1 – October, 30).

Statistical data processing was carried in Statistica 11.0 (Statsoft Inc., USA). We used the Kolmogorov-Smirnov test to determine the normal distribution. The level of significance was 5%, the difference between the averages was considered significant when the probability was $P < 0.05$. We made the assessment of linear linkage by correlation analysis with the Pearson coefficient. To establish reliable statistical differences between samples we used the t-Student test for independent samples and Fisher's criterion. If distribution was defined as non-normal, we used nonparametric tests with the Mann-Whitney criterion. Multiple regression was applied for the factor analysis.

Results

Some birds spend almost all their life cycle within the settlement areas, while species demonstrated definite fluctuations and distribution patterns in terms of their density, which were subject to habitat changes. These changes also reflected annual and seasonal factors which we describe below.

We observed that the Corvidae distribution patterns per habitat and seasons are not even, there were some density peaks which varied in a species-specific way (Fig. 2). Moreover, these patterns reflect adaptability of species, their tolerance to humans and habitat availability and seasonal preference.

The density and distribution of Rooks. The average density of the Rook was 55.9 birds/km^2 (n = 2,924; SD = 94.2) and this varied from 0.4 birds/km^2 in the small village of Staraya Aleksandrovka to 79.0 birds/km^2 in the city of Zhytomyr. We revealed that the population density of Rooks was not normally distributed (Kolmogorov-Smirnov test; d = 0.28; $P < 0.01$). We revealed a positive relation between Rook density and the rural-urban gradient ($P < 0.05$), which indicates high synanthropization of Rooks in Zhytomyr region. Rook density varies considerably in different types of settlements ($F = 13.4$; $P < 0.001$) and did not change linearly

towards the gradient of anthropogenic loading. The highest density of Rooks in the settlements was registered in winter in urban areas, especially in the city of Zhytomyr. Thus, the average winter density of Rooks in Zhytomyr for 2009–2012 was 182.4 birds/km^2.

It is assumed (Matsyura et al., 2015) that the increase in the number of Rooks in urban areas of Ukraine is caused by the migration of Rook populations from Northern Europe. This also supported by the large number of Rooks which do not leave for the wintering territories after the breeding season and this is true not only for the adults but also for young birds (Poluda and Tsukanova, 2012). We also found that the number of Rooks that overwinter in cities significantly increased due to the influx from suburban villages, i.e. the numbers of rural Rooks fell in winter whereas the abundance of urban Rooks increased.

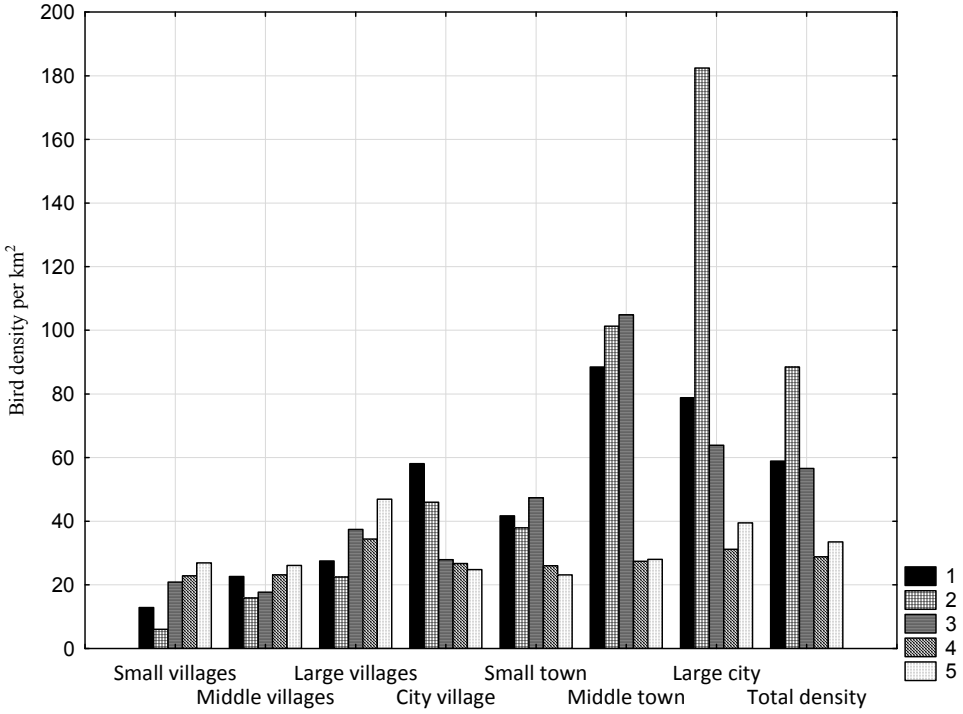


Fig. 2. Corvid density in various habitats per season:
they are presented on OX axis: *1* – winter, *2* – pre-breeding, *3* – nesting, *4* – post-breeding and *5* – autumn migration period

We concluded that Corvidae abundance is subject to different fluctuations in different type of settlements. Thus, the peak number of rural Rooks was reached in the nesting and post-breeding periods, whereas the peak for urban Rooks came in winter and during spring migration. This may be associated with migrations of corvids since in winter they moved from villages to cities, where there are sufficient food resources and the air temperatures are higher. During the pre-breeding period the birds migrate back to the villages, where most of them nest. In summer, the numbers of Rooks in urban areas drops – birds fly away from the cities and feed on the fields and gardens in suburban villages, where their density naturally increases.

The high density of Rooks during spring and autumn migrations is related, obviously, to the presence of Rooks which migrate from other regions outside the study area. Mass spring migration of Rooks through Zhytomyr region takes place from the third week of February – the first week of March. The temporal patterns of this passage are closely correlated to weather conditions: during the prolonged cold winter of 2012 we observed the start of passage only in early March, while in 2009 the first wave of spring migration began at the end of the first decade of February. In autumn the Rooks start their migration in late September – early October and complete it in the first week of November. In October, Rook migration activity is quite noticeable: we able to record thousands of flocking Rooks, which often roost at night in human settlements. The first wintering flocks appear in human settlements in the first half of October. Their number increases rapidly in late October – first week of November and continues to grow throughout the whole winter.

Rooks are the absolute dominant of winter corvid populations at landfill sites in all the settlements we observed. It should be noted that while the Rook dominates both in rural and urban landfills, the number of Rooks in urban landfills are much greater than in villages. Sometimes we surveyed about 5,000 Rooks in a cold and snowy winter in a solid waste landfill site in Zhytomyr. Factor analysis was performed for Rook density in order to estimate the character of dependency of bird density upon season, year number and habitat (Table 1).

We can consider that season and habitat are the principal factor of density fluctuation in settlement areas, while annual changes are not so pronounced.

Patterns of spatial distribution of the European Magpie. The average density of the European Magpie was 8.7 birds/km^2 (n = 2,919; SD = 11.2) and had an abnormal distribution (Kolmogorov-Smirnov criteria, Lilliefors test, $P < 0.01$). The distribution and abundance of Magpies in various habitats was associated primarily with the presence of thickets of bushes, interspersed with open spaces, i.e., the density of Magpies was significantly affected by the natural and spatial conditions of each specific locality ($F = 9.3$; $P < 0.001$). Magpie density was correlated with anthropogenic

loading but this link was rather weak (correlation coefficient 0.18, F = 20.1; P < 0.001).

Overall, the density of Magpies increases from less to more human-transformed landscapes and the highest average density was registered in Zhytomyr (10.2 birds/km^2). Comparison of mean density values of Magpies in settlements with different anthropogenic loading made it possible to identify the following trends: the density of Magpies in small villages is significantly different from all other types of settlements except for secondary villages (P = 0.66); the density of birds in large villages insignificantly differs from density in townships (P = 0.21), towns (P = 0.84), medium-sized cities (P = 0.88) and Zhytomyr (P = 0.38). The density of Magpies in townships significantly different from those in small, medium-sized towns and the city of Zhytomyr. The density of Magpies in urban areas significantly differs only from density of birds in villages with a population of less than 1,000 people (P < 0.05).

Table 1

Results of factor analysis for Rook density in settlement areas
(R = 0.402, R^2 = 0.161, Adjusted R^2 = 0.159, $F_{3, 1162}$ = 74.544, P < 0.002)

Parameter	Season	Year	Habitat
P-value	0.000	0.028	0.000
Standardized coefficient	–0.303	0.059	0.269
Unstandardized coefficient	–28.944	9.322	21.941
Std. Error	2.573	4.232	2.193
t	–11.248	2.202	10.007

The analysis of the annual density of Magpies revealed the non-significant effect of period on the number of birds in the city of Zhytomyr (F = 1.87; P > 0.05): the average number of Magpies remained unchangeable throughout the seasons. However, we found some differences in the dynamics of Magpie numbers in different types of settlements. Thus, the maximum density in cities was in winter, and in the villages it was maximal in summer months. This can be explained by the fact that a small number of winter birds entered the city from surrounding villages in search of food, especially on cold days, and that with the onset of spring the birds return to their nesting places.

The relatively high number of Magpies in rural areas in summer is related, on the one hand, to the increasing number of local populations due to the appearance of young birds, on the other hand, to feeding flights of Magpies from the outskirts of the city into country homestead areas and gardens which that are located outside the city. Magpie density varied significantly (F = 0.58; P > 0.05) in the research period 2009–2012, the highest was registered in 2010 (9.0 birds/km^2). In 2009, Magpie density was 8.5 birds/km^2, and in 2012 – 8.7 birds/km^2. Thus, Magpie density varies in a very narrow range, remaining relatively stable, which indicates a high level of adaptation to the urban environment.

Table 2

Results of factor analysis for European Magpie density in settlement areas
(R = 0.081; R^2 = 0.007; Adjusted R^2 = 0.004; $F_{3, 1162}$ = 2.542; P < 0.05)

Parameter	Season	Year	Habitat
P-value	0.166	0.510	0.019
Standardized coefficient	–0.041	0.019	–0.069
Unstandardized coefficient	0.402	0.314	–0.579
Std. Error	0.289	0.476	0.247
t	1.387	0.659	–2.351

We can consider that habitat is the only significant factor in Magpie density fluctuation in settlement areas, while other factors are not significant.

Patterns of spatial distribution of the Hooded Crow. The gradient of anthropogenic loading significantly affects the density of Hooded Crows (F = 29.2; P < 0.001). The average urban density was 6.6 birds/km^2. The linear relationship between anthropogenic pressure gradient and the density of Hooded Crows was rather weak (correlation coefficient 0.23; P < 0.05).

Despite the significant effect of urban-rural gradient, only in small villages and large cities did the density of this species significantly differ from those in all other settlements (P < 0.05); the density of birds in medium, large villages and towns varied slightly among themselves (P > 0.05); the difference in the density of Hooded crows in small and medium-sized cities was unreliable (P > 0.05).

Total abundance of crows varied considerably in the settlement areas (F = 9.9; P < 0.001) and normally it is not subject to linear changes along the rural-urban gradient. Hooded Crows were registered in all the towns and cities in the region, the highest was noted in Zhytomyr – 9.2 birds/km^2. The density also varied significantly in relation to the season (F = 4.8; P < 0.01). Winter distribution of crows was determined by the degree of economic development of the territory, thus birds are always located near human habitation along highways and railways, and in rural areas they concentrated around farms and livestock. In early spring birds begin to move towards their nesting areas, however, their number in urban areas, compared to the winter period, decreases. We established that urban populations of Hooded Crows had low densities during the breeding season, while in the villages, on the contrary, the density of crows was greater at that time than in autumn and winter, due to the distribution of birds in their breeding areas and the start of the reproductive cycle.

The crow populations increase in all types of human-transformed landscapes in first weeks of the post-breeding period, which is associated primarily with the dispersal of

young birds. Later (in July and August), the number of crows in urban areas decreased, but their density increased on the outskirts of cities, suburban areas and surrounding villages.

The average density of the Hooded Crow did not change significantly ($P > 0.05$), although it gradually grew over the years: in the first year of study (September 2009 – August 2010) it was 6.1 birds/km^2, in the second (September 2010 – August 2011) – 6.7 birds/km^2, and in third (September 2011 – August 2012) – 7.0 birds/km^2. We concluded that season and habitat are the principal factor of density fluctuation in settlement areas, while annual changes are not significant.

The number and distribution of Eurasian Jackdaws. The average density was registered as 9.7 ± 0.4 birds/km^2 (n = 2,921; SD = 21.9) and cannot be considered as normal (Kolmogorov-Smirnov test, Lilliefors test, $P < 0.01$). We also founded that urban-rural gradient significantly affected the density of Jackdaws ($F = 28.4$; $P < 0.001$).

In general, the population density of Jackdaws increased in the transition to more urban areas; with an exception to the general trend in middle sized villages, where the density was abnormally high. This was caused by the influence of specific climatic conditions in the studied settlements and the large population of nesting Jackdaws.

For Jackdaws we observed a noticeable seasonal dynamic: the highest density of urban birds was in winter, which can be explained by the large amount of migrant birds. The maximum number (268 birds/km^2) was registered in the city of Zhytomyr in February 2012 (a period of extremely low temperatures) in the central districts. The seasonal factor significantly affected the population density ($F = 18.7$; $P < 0.001$), although there are some distinctions in seasonal dynamics of density in different settlements. Thus, the peak number of birds in cities and towns was in the winter months, and in the villages – during the breeding and post-breeding periods. Jackdaws return to their nesting sites in spring and in rural areas the density of birds in the nesting period is greater compared to the winter months, and in the cities the reverse applies.

In the post-breeding period Jackdaw density increases in villages and cities due to the influx of young birds. Autumn migration of this species, along with the Rook, begins in the first week of October and it ends in the beginning of November. In winter the urban Jackdaws formed mixed flocks with Rooks, in which they made mutual daily and overnight movements in search of food.

Density of birds changed significantly within the study period ($F = 4.8$; $P < 0.001$). In 2010 the average density was 8.2 birds/km^2, in 2011 – 9.8 birds/km^2, and in 2012 – 11.3 birds/km^2.

Table 3

Results of factor analysis for Hooded Crow density in settlement areas ($R = 0.184$; $R^2 = 0.034$; Adjusted $R^2 = 0.031$; $F_{3, 1159} = 13.464$; $P < 0.001$)

Parameter	Season	Year	Habitat
P-value	0.000	0.113	0.000
Standardized coefficient	–0.117	0.046	–0.127
Unstandardized coefficient	–1.184	0.763	–1.098
Std. Error	0.293	0.481	0.249
t	–4.049	1.586	–4.406

Table 4

Results of factor analysis for Eurasian Jackdaw density in settlement areas ($R = 0.208$; $R^2 = 0.044$; Adjusted $R^2 = 0.041$; $F_{3, 1161} = 17.588$; $P < 0.001$)

Parameter	Season	Year	Habitat
P-value	0.286	0.049	0.000
Standardized coefficient,	0.031	0.057	–0.199
Unstandardized coefficient	0.142	0.219	0.114
Std. Error	0.133	0.219	0.114
t	1.068	1.975	–6.929

Here we observed the significant influence of annual fluctuations and habitats on Jackdaw density, the seasonal factor is not significant.

Main patterns of Eurasian Jay habitat distribution. Average density of Eurasian Jays was 2.4 ± 0.1 birds/km^2 (n = 2,922; SD = 5.3) and had a normal distribution (criteria of Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors test, $P < 0.01$). Jay density varied significantly in different locations ($F = 15.9$; $P < 0.001$) from 0.1 to 9.3 birds/km^2. The percentage of Jays among corvids as a whole varied from 0.2 to 22.3. We observed an expansion of nesting Jays in habitats of old green urban areas and small parks in the city center, however, the number of this species naturally decreases along the gradient of human transformation of the landscape.

The impact of anthropogenic pressure on the Eurasian Jay is significant ($F = 17.1$; $P < 0.001$), the highest density was registered in small villages (4.9 birds/km^2) and the lowest – in medium-sized towns (1.5 birds/km^2). There is a weak negative correlation between rural-urban gradient and Jay density ($r = –0.16$; $P < 0.05$).

Density of Eurasian Jays significantly changed with season ($F = 3.5$; $P < 0.001$): the greatest density was registered in the post-breeding (due to the dispersal of young birds). We have also identified certain characteristics in the seasonal dynamics of Jays depending on settlement type. In urban areas the density of Jays was higher in winter compared to the nesting period, and in the villages we observed the reverse situation. We believe this species is rather nomadic within Zhytomyr region and makes short-distance food flights, especially in winter, when natural habitats have depleted food resources, and when there is plenty of food in areas of human settlement.

The number of Jays in all the regional settlements remained almost unchanged within the study period, indicating a definite stability of local populations, although we observed a slight tendency to increase their number: in 2010 the density was 2.2 birds/km^2, in 2011 – 2.3 birds/km^2, and in 2012 – 2.6 birds/km^2. All the factors had a significant influence on the birds' density, the principal are season and habitat, the former had a negative effect.

The numbers and distribution of the Common Raven. The average density of the Common Raven was 1.3 ± 0.1 birds/km^2 (n = 2,682; SD = 3.7) with non-normal distribution (Kolmogorov-Smirnov criterion, Lilliefors test, P < 0.01). This species made up 0–33.7% of the total number of Corvidae in the settlement areas. The highest density of Ravens was registered in small villages – 2.2 birds/km^2, and the smallest – in townships – 0.6 birds/km^2.

Although the gradient significantly affected the spatial distribution of the Common Raven (F = 6.3; P < 0.001), we cannot consider that Raven density increases or decreases in relation to degree of urbanization, because the value of this indicator also depends strongly on specific habitat conditions of each settlement area.

Table 5

Results of factor analysis for Eurasian Jay density in settlement areas ($R = 0.347$; $R^2 = 0.121$; Adjusted $R^2 = 0.118$; $F_{3, 1160} = 52.854$; $P < 0.001$)

Parameter	Season	Year	Habitat
P-value	0.000	0.001	0.000
Standardized coefficient,	–0.171	0.092	0.294
Unstandardized coefficient	–3.664	3.259	5.383
Std. Error	0.592	0.973	0.504
t	–6.189	3.351	10.675

Table 6

Results of factor analysis for Common Raven density in settlement areas ($R = 0.423$; $R^2 = 0.179$; Adjusted $R^2 = 0.177$; $F_{3, 1163} = 84.671$; $P < 0.001$)

Parameter	Season	Year	Habitat
P-value	0.015	0.234	0.000
Standardized coefficient,	–0.065	0.032	–0.414
Unstandardized coefficient	–0.234	0.191	–1.295
Std. Error	0.098	0.161	0.083
t	–2.441	1.192	–15.573

We can consider that season and habitat are the principal factor of density fluctuation in settlement areas, while annual changes are not significant. Distribution of Ravens in the studied region had strong seasonal variation (F = 8.4; P < 0.001). Ravens were typical in all populated areas in winter, due to winter feeding movements into the urban areas. In spring birds returned to their breeding grounds and in summer they dispersed among natural habitats in search of available food. Autumn flocks of Ravens tended to move into populated areas again.

As reported by Møller et al. (2012), the contemporary avifauna of an urbanised area is a legacy of the species present in the former landscape, rather than solely being the product of invasion or colonisation. Since urban areas tend to substitute for forest-belts and Corvidae are rather woodland-adapted species (Conole and Kirkpatrick, 2011) we presume that corvids have a great potential to adapt to urban habitats.

For instance, in Berlin the abundance of Corvidae progressively increases from Common Raven to Jackdaw, Rook, Eurasian Jay, European Magpie and Hooded Crow (Otto and Witt, 2002). It is believed that Hooded Crows and Magpies are more successful in establishing themselves in urban environments compared to the other corvid species. However, we observed that patterns of abundance and distribution can differ between and within cities and along the urban-rural gradient. Moreover, we found that in our conditions the Rook is the most abundant corvid species.

Conclusions

We showed marked differences in distribution of Corvidae between urban and rural areas, the intensity of which varied upon season and habitat.

The numbers of birds were by far higher in the urban areas, confirming better habitat and food condition in the cities. Consequently, many more birds were noted in urban compared to rural areas in almost all habitats. The composition of bird communities was affected by species-specific habitat selectivity and tolerance towards humans. Although species richness was similar in both environments, community composition varied according to the type of habitat; for example, some species were primarily associated with food available in urban conditions and not in the rural areas.

These data contribute to the general conclusion that urban-rural gradient has large ecological impacts, affecting the numbers, distribution and behavior of Corvidae during their life cycle. However, we documented clear differences in distribution between urban and rural habitats and clear patterns in responses of birds to these differences. These patterns are likely to be directly linked to various avian adaptations and other drivers of successful urbanization, such as tolerance to humans, food selectivity. Populations of Corvidae are therefore subject to various pressures in response to changing urbanization gradients; however, their effects should be studied further.

We have proved that the density of birds differs between urban and rural areas, and that preferences between these two types of environment exist. We cannot state that these preferences appear to be highly species-specific, but in urban and rural areas the birds are significantly affected by environmental variables, such as habitat, season, population fluctuation, and available food resources.

References

Andersen, L., Hoerschelmann, H., 1996. Siedlungsdichte, Reviergrosse und Bruterfolg von Rabenkrahen (*Corvus corone* L.) in der Grossstadlandschaft Hamburgs. Hamburg. Avifaun. Beitr. 28, 17.

Bibby, C.J., Burgess, N.D., Hill, D.A., 2002. Bird census techniques. Academic Press, London.

Blair, R.B, Johnson, E.M., 2008. Suburban habitats and their role for birds in the urban – rural habitat network: Points of local invasion and extinction? Landscape Ecol. 23, 1157–1169.

Chace, J.F, Walsh, J.J., 2006. Urban effects on native avifauna: A review. Landscape Urban Plan. 74, 46–69.

Ciach, M., 2012. The winter bird community of rural areas in the proximity of cities: low density and rapid decrease in diversity. Pol. J. Ecol. 60, 193–199.

Clergeau, P., Savard, J.P.L., Mennechez, G., Falardeau, G., 1998. Bird abundance and diversity along an urban-rural gradient: A comparative study between two cities on different continents. Condor 100, 413–425.

Conole, L., Kirkpatrick, J.B., 2011. Functional and spatial differentiation of urban bird assemblages at the landscape scale. Landscape Urban Plan. 100, 11–23.

Evans, K.L., Newson, S.E., Gaston, K.J., 2009. Habitat influences on urban avian assemblages. Ibis 151, 19–39.

Fuller, R.A., Irvine, K.N., Davies, Z.G., Armsworth, P.R., Gaston, K.J., 2012. Interactions between people and birds in urban landscapes. Stud. Avian Biol. 45, 249–266.

Goławski, A., Dombrowski, A., 2011. The effects of weather conditions on the numbers of wintering birds and the diversity of their assemblages in villages and crop fields in east-central Poland. Ital. J. Zool. 78, 364–369.

Hou, Y., Müller, F., Li, B., Kroll, F., 2015. Urban-rural gradients of ecosystem services and the linkages with socio-economics. Landscape Online 39, 1–31.

Jokimäki, J., Kaisanlahti-Jokimäki, M.-L., 2012. Residential areas support overwintering possibilities of most bird species. Ann. Zool. Fenn. 49, 240–256.

Jokimäki, M.-L., Hakkarainen, H., Huhta, E., Inki., K, Suorsa, P., 2009. Urbanization and stability of a bird community in winter. Ecoscience 16, 502–507.

Kendall, W.L., Hines, J.E., Nichols, J.D., Grant, E.H., 2013. Relaxing the closure assumption in occupancy models: staggered arrival and departure times. Ecology 94(3), 607–610.

Laband, D.N., Lockaby, B.G., Zipperer, W.C., 2013. Urban-rural interfaces: Linking people and nature. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Crop Science Society of America, Inc. Madison, USA.

Leveau, L.M., 2013. Bird traits in urban-rural gradients: How many functional groups are there? J. Ornithol. 154, 655–662.

Luck, G.W., Smallbone, L.T., 2010. Species diversity and urbanization: Patterns, drivers and implications. In: Gaston K.J. (ed.) Urban ecology. Cambridge University Press, Cambridge.

Luniak, M., 2004. Synurbization – adaptation of animal wildlife to urban development. Proceed. 4 Int. Urban Wildlife Symp. P. 50.

Mac Nally, R., 2000. Regression and model-building in conservation biology, biogeography and ecology: the distinction between and reconciliation of 'predictive' and 'explanatory' models. Biodivers. Conserv. 9, 655–671.

Marzluff, J.M., Rodewald, A.D., 2008. Conserving biodiversity in urbanizing areas: Nontraditional views from a bird's perspective. Cities and the Environment 1(2), article 6.

Matsyura, A., Jankowski, K., Zimaroeva, A., 2015. Escape behaviours of Corvidae in an urban ecosystem of Zhytomyr (Ukraine). Romanian Journal of Biology – Zoology 60(2), 125–134.

Matsyura, A.V., Zimaroyeva, A.A., 2016. Osobennosti prostranstvennogo raspredeleniya voronovykh v usloviyakh transformirovannykh landshaftov Zhytomyrskoy oblasti [Spatial distribution of Corvidae in transformed landscapes of Zhytomyr area]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 22(1), 53–59 (in Russian).

McDonnell, M.J., Hahs, A.K., 2008. The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of urbanizing landscapes: Current status and future directions. Landscape Ecol. 23, 1143–1155.

McGowan, K.J., 2001. Demographic and behavioral comparisons of suburban and rural American Crows. In: Marzluff, J.M., Bowman, R., Donelly, R., (eds.) Avian ecology and conservation in an urbanizing world. Kluwer Academic Press, Norwell.

Møller, A.P., Diaz, M., Flensted-Jensen, E., Grim, T., Iba'nez-Alamo, J.D., Jokimaki, J.-M., Marko, G., Tryjanowski, P., 2012. High urban population density of birds reflects their timing of urbanization. Oecologia 170, 867–875.

Otto, W., Witt, K., 2002. Verbreitung und Bestand Berliner Brutvőgel. Berl. Ornithol. Ber. 12, Special Issue.

Poluda, A.M., Tsukanova, S.V., 2012. Osobennosti prostranstvenno-vremennogo raspredelenija grachej (*Corvus frugilegus*), svjazannyh s territoriej Ukrainy [Temporal and spatial distribution of Rook in Ukraine]. Branta 15, 103–120 (in Russian).

Radford, K.G., James, P., 2013. Changes in the value of ecosystem services along a rural-urban gradient: A case study of Greater Manchester, UK. Landscape Urban Plan. 109, 117–127.

Ramalho, C.E., Hobbs, R.J., 2012. Time for a change: Dynamic urban ecology. Trends Ecol. Evol. 27, 179–188.

Ravkin, E.S., Chelintsev, N.G., 1990. Metodicheskie rekomendacii po kompleksnomu marshrutnomu uchetu ptic [Manual on bird transect count]. Nauka, Moscow (in Russian).

Strohbach, M.V., Haase, D., Kabish, N., 2009. Birds and the city: Urban biodiversity, land use, and socioeconomics. Ecol. Soc. 14, 31.

Tratalos, J., Fuller, R.A., Evans, K.L., Davies, R.G., Newson, S.E., Greenwood, J.J.D., Gaston, K.J., 2007. Bird densities are associated with household densities. Glob. Chang. Biol. 13, 1685–1695.

Tryjanowski, P., Sparks, T.H., Kuźniak, S., Czechowski, P., Jerzak, L., 2013. Bird migration advances more strongly in urban environments. PLoS One 8(5), e63482.

Tryjanowski, P., Skórka, P., Sparks, T.H., Biaduń, W., Brauze, T., Hetmański, T., Wysocki, D., 2015a. Urban and rural habitats differ in number and type of bird feeders and in bird species consuming supplementary food. Environ. Sci. Pollut. R. 22(19), 15097–15103.

Tryjanowski, P., Sparks, T.H., Biaduń, W., Brauze, T., Hetmański, T., Martyka, R., Wysocki, D., 2015b. Winter bird assemblages in rural and urban environments: A national survey. PLoS ONE 10(6), e0130299.

Надійшла до редколегії 11.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 459–465.

doi:10.15421/011662

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

UDC 598.293.1:591.5

Spatial patterns of seasonal distribution of Corvidae (the case of urban habitats)

A.V. Matsyura[1], A.A. Zimaroyeva[2], K. Jankowski[3]

[1]*Altai State University, Barnaul, Russia*
[2]*Zhytomyr National Agroecological University, Zhytomyr, Ukraine*
[3]*Siedlce University of Natural Sciences and Humanities, Siedlce, Poland*

Corvids in Zhytomyr reach maximum density in the winter period. Rooks and Eurasian Jackdaws were the most abundant species in winter, usually feeding in multispecies flocks and forming collective roosts. Suburban green areas (buffer zones) were characterized by a considerably high diversity of Corvidae species: this habitat was occupied by all six species. We also registered the highest density of Eurasian Jays and Hooded Crows in this habitat. The green areas in the city center were also characterized by significant corvid density, especially during the breeding season. The maximum breeding density of Rooks was in these habitats, which held 6 of 12 identified urban colonies in Zhytomyr. We found that the European Magpies, Eurasian Jays, and Hooded Crows also had high breeding success here. Eurasian Jackdaws occurred here only in autumn and winter, when they fed together with Rooks on lawns, gardens, and parks. With stable snow cover the Rook density in habitats of the green areas decreased due to the depletion of food resources. The individual building blocks of the city were characterized by the lowest density of all corvid species, except for European Magpies and Eurasian Jays. The number of common species (Rooks, Eurasian Jackdaws, and Hooded Crows) was low because of shortage of food resources, lack of sites for large roosting flocks and shortage of suitable nesting sites. However, Eurasian Magpies reached one of their highest densities in this habitat (12.8 birds/km^2). This species was registered in habitats around private buildings all the year round, successfully nesting in the yards of private houses and on trees in the streets. Its breeding density was 11.2 birds/km^2. During three years of research (2009–2012) the density of all corvids except for European Magpie, practically did not change, although we determined a slight positive trend for all the species. The strong increase in the number of Eurasian Jackdaws could be explained by the increasing density of wintering populations or due to the increasing number of migrants from more northern regions.

Keywords: habitat pattern; spatial distribution; abundance; urban-rural gradient; Ukraine

Пространственные особенности сезонного распределения врановых (анализ городских биотопов)

О.В. Мацюра[1], А.А. Зимароєва[2], К. Янковський[3]

[1]*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*
[2]*Житомирский национальный агротехнологический университет, Житомир, Украина*
[3]*Естественно-гуманитарный университет в Седльце, Седльце, Польша*

В течение 2009–2012 гг. проведено исследование пространственного распределения врановых птиц в Житомирской области относительно градиента антропогенной нагрузки и сезонов года. Росту численности и дальнейшей урбанизации серой вороны, по нашему мнению, способствует большое количество кормов антропогенного происхождения, что позволяет птицам пережить суровые погодные условия. Интенсивный рост численности серой вороны сдерживает конкуренция со стороны грача. За период исследований заметно изменилась плотность галки в городских биотопах, что свидетельствует о росте численности городских

Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Россия
Altai State University, Lenin Ave., 61, Barnaul, 656049, Russia

Житомирский национальный агротехнологический университет, ул. Старый бульвар, 7, Житомир, 10008, Украина
Zhytomyr National Argoecological University, Stary Boulevard, 7, Zhytomyr, 10008, Ukraine

Естественно-гуманитарный университет в Седльце, ул. Конарского, 2, Седльце, 08-110, Польша
Siedlce University of Natural Sciences and Humanities, ul. Konarskiego, 2, Siedlce, 08-110, Poland
Tel.: +38-098-799-55-13. E-mail: anastasia_zima@yandex.ru, amatsyura@gmail.com, kazjankowski@gmail.com

популяций и доказывает, что в условиях Житомирской области галка является типичным синурбанистом. Сойка активно заселяет все типы населенных пунктов области, а также продолжается ее внедрение в наиболее преобразованные человеком ландшафты (крупные города), где численность вида из года в год растет. Это свидетельствует об активной синантропизации вида. Средняя плотность ворона за три года наших исследований существенно не изменилась, хотя и наблюдалось ее незначительное повышение.

Ключевые слова: биотоп; пространственное распределение; численность; антропогенная нагрузка; градиент урбанизации; Украина

Introduction

Corvids have a significant impact in urban areas and human transformed landscapes, especially in the places of their permanent concentrations (Marzluff and Rodewald, 2008; Catterall, 2009; Jokimäki et al., 2009). Large concentrations of birds could lead to changes in physical and chemical soil properties, microbiological processes, air composition, the composition and structure of plant communities (Fernandez-Juricic and Jokimäki, 2001; Bonier et al., 2007; Blair and Johnson, 2008; Evans et al., 2010; Luck and Smallbone, 2010). High densities of populations of Corvidae in urban environments facilitate extensive circulation of arboviruses, including influenza viruses, which they are able to spread over wide areas (Hundson, 1998; Ditchkoff et al., 2006; Anderies et al., 2007).

Many corvids feed on waste, fruits and young shoots of crops, so they affect the sanitary conditions of human settlements and agricultural fields (Ruszczyk et al., 1987; Chace and Walsh, 2006; Evans et al., 2009; Conole and Kirkpatrick, 2011). They also cause definite inconvenience within urban areas due to the noise from colonies and their droppings, which contaminate the soil and ruin architectural objects (Ruszczyk et al., 1987; Jerzak, 1995; Clergeau et al., 1998; Mac Nally, 2000).

The rapid human transformation of Corvidae habitats deeply affects all aspects of their lives, causing the formation of natural eco-ethological adaptations to changing environmental conditions (Marzluff et al., 2001; Jokimäki et al., 2009; Luck and Smallbone, 2010; Møller et al., 2012; Ramalho and Hobbs, 2012; Laband et al., 2013). Therefore, by the study of corvid ecology in urban areas and natural landscapes we can determine the environmental conditions of bird invasions of human settlement areas and the appearance of new ecological features (Ramalho and Hobbs, 2012; Laband et al., 2013). This could also help to manage the numbers and behavior of birds in areas of human settlement.

In Ukraine the study of the avifauna of urban environments is considered to be a relatively young branch of science, which has not yet attracted sufficient attention (Matsyura et al., 2015a). We discovered that interest in urban birds and their adaptive characteristics, geographical distribution and habitat preference has grown rapidly over the past ten-fifteen years (Savard et al., 2000; Zeller and Schuffernecker, 2004; Grimm et al., 2008; Ciach, 2012). It is obvious that information about the composition and number of birds of Zhytomyr is extremely limited, obsolete and requires detailed study (Matsyura et al., 2015b).

Materials and methods

We have identified some 5 types of urban bird habitat in Zhytomyr and the suburban "green zone" (mixed forests, forest parks, and ponds): old building zones (2–5 floors), multi-storey building zones (9–14 floors), individual buildings zones, habitats with artificial green spaces (parks, squares, boulevards), industrial landscapes. The allocation of these habitats was based on the ratio of different types of building, their location in the city, degree of habitat gardening and the levels of human impacts on habitat.

The gradient of urbanization increases toward suburban green areas at local level (in the city): forests, riverine habitats, fields – buffer zones, which are closely associated with the city's economic activity and the flow of tourists, individual buildings, city parks, squares, boulevards, gardens, industrial buildings (industrial landscape), typical multi-storey buildings (Matsyura and Zimaroeva, 2016).

We highlighted two specific habitats that are quite important for corvid survival, especially in winter – the meat processing plant and the landfill waste. The Zhytomyr meat processing plant is located in the industrial area and covers about 17 hectares. Maples are the dominant tree in this habitat.

Zhytomyr landfill (solid waste) is located on the southern outskirts of the city. It has an area of about 21.6 hectares and has accumulated about 15 million m^3 of waste with an annual increase of 0.4–0.5 million m^3. The dominant tree species here are planted poplars and pines.

We selected six bird species for our study: Rook (*Corvus frugilegus* L.), Eurasian Jackdaw (*C. monedula* L.), Hooded Crow (*C. cornix* L.), Common Raven (*C. corax* L.), European Magpie (*Pica pica* L.), and Eurasian Jay (*Garrulus glandarius* L.).

The study is based on the results of field studies conducted from September 2009 to August 2012 in the city of Zhytomyr.

We performed counts using the transect method with variable strips (because in different routes there were different distances between the buildings), i.e. a series of fixed fields, adjacent to each other (Matsyura, 2015a). Area correction (density of birds – the number of individuals per km^2) was performed using the formula:

$$N = \frac{n_1}{S},$$

where N – the number of birds per km^2, n_1 – number of recorded birds, S – site area.

Width of transect was averaged, within the old houses zone (3–5 storeys) it was 60 m; within the individual buildings zone – 100 m; multi-storey buildings zone (9–14-stores) – 80 m; in the industrial zone – 200 m; within parks, squares, and boulevards – 300 m.

In city parks and forest belts we counted the birds by interval survey with unlimited transect. Recalculation of the obtained ratio for the area (number of individuals per km^2) was carried out by the average of detected bird ranges (Ruszczyk et al., 1987; Tratalos et al., 2007). Recalculating was made by means of standard formula:

$$N = \frac{n_1 \times 40 + n_2 \times 10 + n_3 \times 3 + n_4}{L},$$

where n_1–n_4 – the number of individuals registered in detection strips of 0–25, 25–100, 100–300 and 300–1000 m; 40, 10, 3 and 1 are ratios to convert; L – distance (km).

We undertook an absolute bird count in the nesting period in order to determine the density of breeding birds and the overall density of Corvidae in the city.

We have distinguished several periods in terms of local weather patterns and the birds' life cycle: winter (November, 1 – February, 15), spring migration (February, 16 – March, 30), breeding (April, 1 – June, 30), post-breeding (July, 1 – August, 31) and autumn migration period (September, 1 – October, 30). The seasonal dynamics of the avifauna were examined in accordance with the selected periods.

Statistical data processing was performed by Statistica 6.0 (Statsoft Inc., USA). We used the Kolmogorov-Smirnov test to determine the normal distribution. The difference between the average was considered if the probability $P < 0.05$. The assessment of distress in linear relation was performed by using correlation analysis with Pearson correlation coefficient. To establish reliable statistical differences between samples we used t-Student test for independent samples and Fisher's criterion. The univariate analysis of variance was performed using procedures of one-way ANOVA. The regression analysis was performed in Multiple Regressions module within Statistica 6.0. The auto regression equations for bird density were calculated using Curve Expert 1.4; special software Trim 3.53 was applied for the calculation of trends.

Results

The breeding birds of the Corvidae family in Zhytomyr city were represented by 6 species, the dominant being the Rook. Its share was 68% (average density was 79.0 ± 3.7 birds/km^2, SD = 127.3). The European Jackdaw was the next most abundant species (12.5%), its average density in Zhytomyr was 14.5 ± 0.8 birds/km^2, SD = 28.6. The density of Eurasian Magpies was 10.2 ± 0.4 birds/km^2, SD = 13.2 (8.8%), Hooded Crows had a density of 9.2 ± 0.4 birds/km^2, SD = 13.5 (7.9%). The least numerous species were Eurasian Jay and Common Raven, the density of which were 1.9 ± 0.2 birds/km^2, SD = 6.2 (1.6%) and 1.4 ± 0.1 birds/km^2, SD = 4.9 (1.2%) respectively. The maximum density of corvids in Zhytomyr was registered in the winter period (Fig. 1). The most abundant winter species were Rooks and Jackdaws, which usually feed in mixed flocks and formed joint roosts.

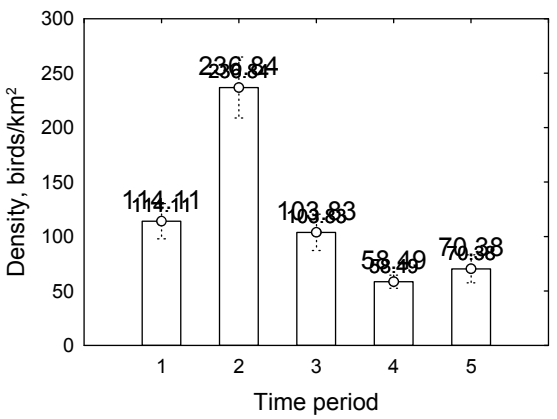


Fig. 1. The average seasonal density of corvids in Zhytomyr: 1 – autumn migration, 2 – winter, 3 – spring migration, 4 – nesting period, 5 – post-breeding period; mean and standard deviation

The Rook was the dominant species in all the urban habitats. The principal roosting cite for corvids was located in the military hospital and was occupied by birds from late October to early March. The number of birds on the coldest nights was around 13 thousand. There were some 4 peripheral roosting sites located along with Rooks' nesting colonies or near the central square. These sites operate in the summer-autumn period, and the number of Rooks and Jackdaws here reached 4 thousand.

The seasonal bird dynamics differed per habitat due to different degrees of human impact.

With increase in the urban gradient, the density of Rooks and Jackdaws significantly increased ($P < 0.05$), while the density of Hooded Crows, Jays, and Ravens decreased; the Magpie was distributed throughout the city more or less evenly.

The impact of urban gradient on Rook density is described by equation:

$$y = \frac{1}{ax+b},$$

where the correlation coefficient, $r = 0.79$; standard deviation, SD = 26.7; $a = -3.3$; $b = 2.4$.

The same dependence for Jackdaw:

$$y = \frac{1}{ax+b},$$

where $r = 0.81$; SD = 6.8; $a = -3.38$; $b = 2.3$.

The impact of urban gradient on Hooded Crow density:

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3,$$

where $r = 0.99$; SD = 1.4; $a = 4.6$; $b = -3.0$; $c = 7.1$; $d = -4.8$.

The dependence for Magpie is:

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3,$$

where $r = 0.97$; SD = 1.2; $a = -1.1$; $b = 2.7$, $c = -9.3$; $d = 9.4$.

The impact of urban gradient of density of Jays is described by the following equation:

$$y = ax^{\frac{1}{x}},$$

where $r = 0.96$; SD = 0.74; $a = 6.1$; $b = -4.8$.

The equation of Raven density towards the urban gradient:

$$y = \frac{a+bx}{1+cx+dx^2},$$

where $r = 0.84$; SD = 3.91; $a = 1.1$; $b = -3.6$, $c = -1.5$; $d = 4.9$.

Suburban green areas (buffer zones) are characterized by considerable diversity of Corvidae: this habitat was used by all species. It should be noted that the Raven was only registered in suburban forests, in the territory of the city dump and slaughterhouse waste. Quite a large population of Ravens was concentrated in a wooded area on the outskirts of Zhytomyr city adjacent to the city cemetery, where there were significant food resources. In this habitat we also observed the highest density of Jays and Hooded Crows; the large number of the former species could be explained by its invasion from the surrounding forests.

We surveyed a large concentration of Hooded Crows within the municipal Hydropark (13.4 birds/km^2), where they were registered in winter and breeding period. This can be explained by the proximity of the river Teterev, since the crows tend to live in watershed areas. Hooded Crows formed a great roosting cluster in spring, summer, and autumn in the territory of the Hydropark, whereas the central winter roosting site was situated in the city park, here we registered up to 800 birds. We registered Jays in these zones only in influxes during the summer and autumn migrations.

The population density of Rooks in green suburban areas decreased significantly in 2011, as a result of human intervention into the large colonies, which were located in Hydropark in winter and spring of 2011–2012. Normally their numbers grew during migration periods when Rooks often fed on agricultural fields located on the outskirts of the city.

We fixed the significant density of Ravens in green spaces within the city center, especially during the breeding season. The breeding density of Rooks was at its maximum in these habitats, as 6 of 12 identified Rook colonies were located here.

The urban green areas attract nesting Magpies, Jays and Hooded Crows, while Jackdaws occurred here only in autumn and winter, when they foraged together with Rooks on the lawns of gardens and parks. The density of Ravens in habitats with green areas decreased with the establishment of stable snow cover, due to the depletion of food resources.

The individual buildings habitat was characterized by the lowest density of all the species. Even the common species (Rooks, Jackdaws, Hooded Crows) were in low numbers here due to the poverty of food resources, lack of places for large roosting flocks and scarcity of suitable nesting sites. However, the density of Magpies in this habitat was one of its highest (12.8 birds/km^2) densities for any urban habitat. The Magpie was found in habitats with private buildings all year round and successfully nested in the yards of private houses and in street trees, where its nest density was 11.2 birds/km^2.

The Jay was rather common in this habitat, its average density was 1.6 birds/km^2, with peak numbers in the spring migratory and nesting periods.

We observed the largest number of corvids in the old quarters of the multi-storey buildings zone, especially in the downtown area (Table 1). Here we also registered the largest number of Rooks (133.1 birds/km^2), Hooded Crows (36.4 birds/km^2) and Jays (12.8 birds/km^2), which were attracted by the rich food supply in the form of garbage containers with food waste and by availability of suitable nesting habitats.

Table 1

Seasonal pattern of Corvidae density in urban habitats

Habitat	Period*	Density, birds/km^2					
		Rook	Eurasian Jackdaw	Hooded Crow	European Magpie	Eurasian Jay	Common Raven
Urban green belt	1	84.6	6.2	26.8	8.6	5.8	7.8
	2	20.3	8.0	27.0	4.1	3.9	7.1
	3	9.7	–	18.6	8.7	3.1	9.0
	4	7.2	–	13.4	8.8	7.5	5.9
	5	104.2	0.3	23.1	15.6	13.1	3.8
Urban parks and gardens	1	91.9	19.9	8.1	9.2	1.3	–
	2	116.4	13.8	7.0	7.6	1.7	–
	3	46.3	8.8	8.1	7.0	1.3	–
	4	128.5	3.9	7.1	8.2	1.7	–
	5	81.5	13.5	4.9	5.3	3.8	–
Cottages (individual buildings)	1	35.6	1.0	2.8	12.5	0.8	–
	2	85.6	8.2	5.4	14.3	1.8	–
	3	34.4	4.1	7.5	10.5	2.3	–
	4	11.7	2.1	3.5	11.2	1.5	–
	5	11.5	1.8	1.1	16.9	1.5	–
Old 2–5-storey houses	1	131.4	35.3	13.5	6.8	1.8	–
	2	363.0	61.8	18.6	9.9	2.8	–
	3	118.2	45.9	14.5	9.9	1.6	–
	4	44.7	24.0	9.4	9.1	1.0	–
	5	33.9	20.5	10.2	6.0	0.5	–
9-storey buildings	1	84.1	14.2	5.6	4.5	0.3	–
	2	367.9	48.4	9.2	11.3	0.5	–
	3	87.2	8.4	5.8	7.7	–	–
	4	19.0	2.8	6.7	8.2	0.2	–
	5	33.8	13.1	6.1	12.6	–	–
Industrial area	1	75.8	14.7	7.8	8.5	0.3	5.7
	2	240.6	29.2	18.3	14.7	0.6	14.4
	3	89.8	32.3	17.0	21.2	0.4	13.9
	4	21.5	6.8	6.2	15.5	0.4	9.9
	5	26.8	10.9	4.6	8.1	–	4.9

Note: * – time period corresponds with that of Figure 1, "–" – means missing data.

The Hooded Crows usually nest in tall trees situated in multi-storey blocks, often at a distance of 10–15 meters from the buildings. Although the main breeding habitats of Rooks are small squares, parks, and urban boulevards, they fed in surrounding habitats with old buildings in the downtown area, attracted primarily by garbage and lawns between the houses. The Jackdaw is known as a typical rock species but tends to live in objects of urban architecture, which can serve as a substitute for natural rock nesting niches. In the urban area the birds occupy wall cracks and holes, attics, ventilation passages, which are most common in 5-storey and 2–3-storey buildings of old municipal housing.

We counted maximum density of corvids in old building zone habitats in winter. The density of Rooks in this period

was 363 birds/km^2, Jackdaws – 61.8, Hooded Crows – 18.6, Magpies – 9.9 and Jays – 2.8 birds/km^2. We should mention that the density of all the species decreased with the onset of spring due to the migration outflow.

The high number of Corvidae was also characteristic for habitats in typical 9-storey building zones. Thus, the average density of Rooks was 108.8 birds/km^2, Jackdaws – 15.5, Hooded Crows – 6.8, Magpies – 8.7, Jays – 0.2 birds/km^2 and this reached peak values in winter. Thus, the average winter Rook density was 367.9 birds/km^2, Jackdaws – 48.4, Hooded Crows – 9.2, Magpies – 11.3 birds/km^2.

It is significant that the one of the lowest corvid densities was during the breeding period in the new multi-storey building zones. The density of Rooks was 19 birds/km^2, Jackdaws – 2.8, Hooded Crows – 6.7, Magpies – 8.2 birds/km^2. This could be explained by lack of appropriate nesting habitats: the new panel and brick 9-storey buildings have few niches that are suitable for nest building, there is lack of high trees within the new blocks, which limits the distribution of corvids.

The habitats in the area of industrial development attract corvids all year round, thus in the landfill waste the density of Corvidae was 136.9 birds/km^2. The territory of the slaughterhouse was characterized by large concentrations of birds, especially in winter where we observed five species (Rook, Hooded Crow, Jackdaw, Magpie, Raven) with a total density of 1,578.5 birds/km^2. In spring, the population density of corvids at the factory declined sharply (by nearly 3 times compared to winter). In breeding season, the number decreased even more, and only the numbers of Hooded Crow and Magpie remained more or less stable. The latter in this period sometimes became a dominant species as it nests in territories around the slaughterhouse (the distance between adjacent nests can even be 0.5 meters).

Some of the winter Raven population also nested near the slaughterhouse, the birds built nests on the observation rail towers and one nest was found on the damaged buildings of the company. The distance between the nests did not exceed 50 m, which can indicate some changes in the breeding pattern, i.e. the transition from single to semi-colonial and group nesting.

In summer the importance of the slaughterhouse in the corvids' life cycle decreased, but the number of Rooks and Jackdaws slightly increased compared to the nesting period. The density of Ravens at the site was low in summer and in some years they were totally absent. The numbers of Corvidae at the factory was 8 times lower than during the winter period, due to the availability of food objects in other habitats.

In autumn food resources in natural biocoenoses are significantly reduced, while the working activity in slaughterhouse becomes more intensive, hence the amount of food available for corvids increased, which caused the growth in numbers by 2.2 times compared to summer. Thus, meat processing plants in urban environments have a very important impact on birds as a forage base in winter.

Another important object that allows corvids to winter in a cities, supporting large numbers, is dump solid waste. These are very specific habitats, which are usually located near cities and have a rich food base. They attract Corvidae, which form large concentrations in a limited area. At the rubbish dump (though it was rather a landfill) we registered some 5 species: Rooks, Jackdaws, Hooded Crows, Magpies, and Ravens. Their numbers varied in different seasons ($P < 0.05$).

The dump was mostly visited by birds in the winter months, with the peak number in February, because this time was extremely cold and snowy during 2009–2012. We registered a significant dominance of Rooks and Jackdaws in this habitat. The number of corvids at the landfill declined sharply during the breeding season, mainly due to the lack of suitable nesting places. At this time it was highly inefficient for Corvidae to feed outside the city due to the energy costs involved, and only non-breeding birds continued to feed in the landfill during this period. Corvidae faced stiff competition from gulls, which almost completely displaced them from the landfill during the nesting period. The minimum number of birds was observed in July and August, during which months, we did not register Ravens, Rooks, and Jackdaws. Obviously, anthropogenic food does not play such an important role in corvids' lives in summer.

During three years of research (September 2009 – August 2012) the density of all the Corvidae except the European Magpie did not change noticeably, although we revealed some positive trends (Table 2) that could be explained by invasion of migrants from more northern regions.

Table 2

Trends and average density of Corvidae

Species	Density, birds/km^2			Trend
	2009–2010	2010–2011	2011–2012	
Rook	67.0	83.7	87.0	0.13; moderate increase ($P < 0.05$)
Eurasian Jackdaw	11.4	14.6	18.0	0.23; strong increase ($P < 0.01$)
Hooded Crow	8.2	9.4	10.0	0.09; strong increase ($P < 0.05$)
European Magpie	9.6	10.5	10.3	0.03; uncertain
Eurasian Jay	1.4	1.9	2.3	0.25; strong increase ($P < 0.01$)
Common Raven	1.2	1.3	1.7	0.17; strong increase ($P < 0.05$)
Total density	99.0	121.2	129.0	0.13; strong increase ($P < 0.01$)

Discussion

The large concentration of Corvidae in urban habitats can be explained by the availability of fodder in the form of food waste, mild winter weather conditions and less pressure from animal predators (Mac Nally, 2000; Zeller and Schuffernecker, 2004; Anderies et al., 2007; Grimm et al., 2008; Conole and Kirkpatrick, 2011; Ramalho and Hobbs, 2012). The growth in density and abundance of the dominant species (Rooks, Jackdaws and Hooded Crows) in the Zhytomyr area, distribution of Magpies in uncharacteristic habitats (9-storey building zones), colonization of densely populated city neighborhoods by the Jay, which used to be considered to be a typical forest dweller, together with the increase in the Raven population within the urban outskirts and near the land-

fill prove the intense sinurbanization of Corvidae in the modern conditions of Zhytomyr city.

When spring begins the number of Corvidae gradually declines, due to the departure of migrant birds that winter in cities, whereas after the breeding period Corvidae density increases due to the arrival of young birds, as also mentioned by other researchers (Donchev and Pyankov, 1989; Clergeau et al., 1998; McDonnell and Hahs, 2008; Ciach, 2012; Laband et al., 2013; Leveau, 2013). However, in mid-summer the numbers of Corvidae remain quite low, because in this period they migrate to surrounding natural habitats and they return to town for the winter after autumn begins.

The suburban green areas (buffer zones) are characterized by considerable diversity of Corvidae species: this habitat was used by all breeding species. Here we observed the highest density of Jays and Hooded Crows. The green spaces in the city center were also characterized by a high density of corvids, especially during the breeding season. The Rooks' nest density reached its maximum here (here were 6 of 12 identified colonies of Rooks in Zhytomyr). Jackdaws occurred here only in autumn and winter, when they used this area as a feeding habitat together with Rook flocks. With the establishment of stable snow cover, the density of corvids in green areas decreased due to the depletion of food resources.

The individual buildings habitat was characterized by the lowest density of all species. The number of Rooks, Jackdaws, and Hooded Crows was low due to limitation of food resources, lack of sites for large roosting flocks and scarcity of suitable nesting sites. However, Magpies reached one of their highest densities in this habitat (12.8 birds/km^2). This species was registered here all year round; its nest density was 11.2 birds/km^2.

Conclusion

The Rook was the most abundant species in urban habitats followed by Eurasian Jackdaw, European Magpie, Hooded Crow. The Eurasian Jay and Common Raven were characterized by considerably low densities. In winter we registered maximum numbers of Eurasian Jackdaws and Rooks which formed mutual feeding and roosting congregations.

The urban green belt seemed to be the most attractive for corvid distribution as well as green plots within the city center while the cottage area was characterized by low density with the exception of Magpies and Jays.

During the study period we registered slight positive trends for all corvids except for European Magpie, although it had a tendency to growth to some extent. Some increase of Corvidae density and abundance was probably caused by increased density of the wintering populations or due to increasing number of migrants from northern regions.

References

Anderies, J.M., Katti, M., Shochat, E., 2007. Living in the city: Resource availability, predation, and bird population dynamics in urban areas. J. Theor. Biol. 247, 36–49.

Blair, R.B., Johnson, E.M., 2008. Suburban habitats and their role for birds in the urban-rural habitat network: Points of local invasion and extinction? Landscape Ecol. 23, 1157–1169.

Bonier, F., Martin, P.R., Wingfield, J.C., 2007. Urban birds have broader environmental tolerance. Biol. Lett. 3, 670–673.

Catterall, C.P., 2009. Responses of faunal assemblages to urbanisation: Global research paradigms and an avian case study. In: McDonnell, M.J., Hahs, A.K., Brueste, J.H. (eds.) Ecology of cities and towns: A comparative approach. Cambridge University Press, New York. P. 129–155.

Chace, J.F., Walsh, J.J., 2006. Urban effects on native avifauna: A review. Landscape Urban Plan.74, 46–69.

Ciach, M., 2012. The winter bird community of rural areas in the proximity of cities: Low density and rapid decrease in diversity. Pol. J. Ecol. 60, 193–199.

Clergeau, P., Savard, J.P.L., Mennechez, G., Falardeau, G., 1998. Bird abundance and diversity along an urban-rural gradient: A comparative study between two cities on different continents. Condor 100, 413–425.

Conole, L., Kirkpatrick, J.B., 2011. Functional and spatial differentiation of urban bird assemblages at the landscape scale. Landscape Urban Plan. 100, 11–23.

Ditchkoff, S.S., Saalfeld, S.T., Gibson, C.J., 2006. Animal behavior in urban ecosystems: Modifications due to human-induced stress. Urban Ecosyst. 9, 5–12.

Donchev, S.I., Pyankov, P.N., 1989. Status and trends synantropyzatsyy and synurbyzatsyy birds in Bulgaria. Ecology 22, 35–42.

Evans, K.L., Chamberlain, D.E., Hatchwell, B.J., Gregory, R.D., Gaston, K.J., 2010. What makes an urban bird? Glob. Change Biol. 17, 32–44.

Evans, K.L., Newson, S.E., Gaston, K.J., 2009. Habitat influences on urban avian assemblages. Ibis 151, 19–39.

Fernandez-Juricic, E., Jokimäki, J., 2001. A habitat island approach to conserving birds in urban landscapes: Case studies from southern and northern Europe. Biodivers. Conserv. 10, 2023–2043.

Grimm, N.B., Faeth, S.H., Golubiewski, N.E., Redman, C.L., Wu, J., Bai, X., Briggs, J.M., 2008. Global change and the ecology of cities. Science 319, 756–760.

Hundson, W.H., 1998. Birds in London. Longmans Green and Co., London.

Jerzak, L., 1995. Breeding ecology of an urban Magpie *Pica pica* population in Zielona Góra (SW Poland). Acta Ornithol. 29, 123–133.

Jokimäki, M.-L., Hakkarainen, H., Huhta, E., Inki., K., Suorsa, P., 2009. Urbanization and stability of a bird community in winter. Ecoscience 16, 502–507.

Laband, D.N., Lockaby, B.G., Zipperer, W.C., 2013. Urban-rural interfaces: Linking people and nature. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Crop Science Society of America, Inc. Madison, USA.

Leveau, L.M., 2013. Bird traits in urban-rural gradients: How many functional groups are there? J. Ornithol. 154, 655–662.

Luck, G.W., Smallbone, L.T., 2010. Species diversity and urbanization: Patterns, drivers and implications. In: Gaston K.J. (ed.) Urban ecology. Cambridge University Press, Cambridge.

Mac Nally, R., 2000. Regression and model-building in conservation biology, biogeography and ecology: The distinction between and reconciliation of 'predictive' and 'explanatory' models. Biodivers. Conserv. 9, 655–671.

Marzluff, J.M., Bowman, R., Donnelly, R., 2001. A historical perspective on urban bird research: trends, terms, and approaches. In: Marzluff, J.M., Bowman, R., Donnelly, R. (eds.) Avian ecology and conservation in an urbanizing world. Kluwer Academic, Boston. P. 1–16.

Marzluff, J.M., Rodewald, A.D., 2008. Conserving biodiversity in urbanizing areas: Nontraditional views from a bird's perspective. Cities and the Environment 1(2), article 6.

McDonnell, M.J., Hahs, A.K., 2008. The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of

urbanizing landscapes: Current status and future directions. Landscape Ecol. 23, 1143–1155.
Matsyura, A., Jankowski, K., Zimaroeva, A., 2015a. Corvidae tolerance to human disturbance in settlement landscapes of Zhytomir (Ukraine). Romanian Journal of Biology – Zoology 60(1), 39–47.
Matsyura, A., Jankowski, K., Zimaroeva, A., 2015b. Escape behaviours of Corvidae in an urban ecosystem of Zhytomyr (Ukraine). Romanian Journal of Biology – Zoology 60(2), 125–134.
Matsyura, A.V., Zimaroyeva, A.A., 2016. Osobennosti prostranstvennogo raspredeleniya voronovykh v usloviyakh transformirovannykh landshaftov Zhytomyrskoy oblasti [Spatial distribution of Corvidae in transformed landscapes of Zhytomyr area]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 22(1), 53–59 (in Russian).
Møller, A.P., 2009. Successful city dwellers: A comparative study of the ecological characteristics of urban birds in the Western Palearctic. Oecologia 159, 849–858.
Møller, A.P., Diaz, M., Flensted-Jensen, E., Grim, T., Iba'nez-Alamo, J.D., Jokimaki, J.-M., Marko, G., Tryjanowski, P., 2012. High urban population density of birds reflects their timing of urbanization. Oecologia 170, 867–875.
Ramalho, C.E., Hobbs, R.J., 2012. Time for a change: Dynamic urban ecology. Trends Ecol. Evol. 27, 179–188.
Ruszczyk, A., Rodrigues, J.J.S., Roberts, T.M.T., Bendati, M.M.A., Del Pino, R.S., Marques, J.C.V., Melo, M.T.Q., 1987. Distribution patterns of eight bird species in the urbanization gradient of Porto Alegre, Brazil. Ci'encia e Cultura 39, 14–19.
Savard, J.P.L., Clergeau, P., Mennechez, G., 2000. Biodiversity concepts and urban ecosystems. Landscape Urban Plan. 48, 131–142.
Strohbach, M.V., Haase, D., Kabish, N., 2009. Birds and the city: Urban biodiversity, land use, and socioeconomics. Ecol. Soc. 14, 31.
Tratalos, J., Fuller, R.A., Evans, K.L., Davies, R.G., Newson, S.E., Greenwood, J.J.D., Gaston, K.J., 2007. Bird densities are associated with household densities. Glob. Chang. Biol. 13, 1685–1695.
Zeller, H.G., Schuffernecker, I., 2004. West Nile virus: An overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 23(3), 147–156.

Надійшла до редколегії 18.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 466–472.

doi:10.15421/011663

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

UDC 632.78

The problem of assessing the viability of invasive species in the conditions of the steppe zone of Ukraine

K.K. Holoborodko, O.M. Marenkov, V.A. Gorban, Y.S. Voronkova

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

This article proposes a completely new method of resolving the pressing global environmental problem of assessment the capacity of invasive organisms to adapt to new environmental conditions. A new three-step approach to the evaluation of vital and ecological functions of invasive species is recommended. In addition to classic species and population surveys, it was proposed to apply a stress-resistance biochemical assessment of invasive species. Stress resistance can be regarded as the main response of living organisms to changes in continuous environmental components. The obtained results will provide an opportunity to give a qualitative prognisis of what adaptive capacity an invasive species has, what precise ecological functions and for what time period it can perform in a new ecosystem.

Keywords: quarantine species; organism stress resistance; stress measurement technique

Проблема оцінки життєздатності інвазійних видів в умовах степової зони України

К.К. Голобородько, О.М. Маренков, В.А. Горбань, Ю.С. Воронкова

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

За оцінками ФАО та МСОП, щорічно збільшується кількість видів, які за впливу прямої чи опосередкованої дії людини потрапляють у непритаманні для себе, нові умови. Частина цих організмів, пристосувавшись, починає конкурувати з аборигенними видами, втручаючись у сталі екологічні функції різних екосистем. Для європейських країн визначено перелік із 435 видів карантинних організмів, які мають різні статуси небезпеки (як екологічної, так і економічної, адже своєю життєдіяльністю щорічно завдають прямих економічних збитків). Кількість потенційних інвазивних видів, здатних проникнути на територію України, зараз фахівці оцінюють у 1 500 видів. Порушення, викликані впливом інвазійних видів, зумовлюють пряму та опосередковану загрозу безпосередньо здоров'ю людини. На початок XXI ст. проблема оцінювання ризиків проникнення інвазійних видів та контролю вже існуючих лежить у царині національної безпеки кожної сучасної держави. Оцінка ризику, який може спричинити життєдіяльність інвазійного виду – це оцінка здатності його організму виживати в умовах нового навколишнього середовища. Аналіз досліджень виживання різних інвазійних видів (рослин, безхребетних і хребетних тварини) показав, що переважна більшість авторів дає оцінку лише видовим і популяційним характеристикам, що у більшості випадків не повною мірою відображає спроможність видувселенця адаптуватись до нових умов довкілля. Отже, потрібно розробити нову методику оцінювання життєздатності інвазійних видів. Запропоновано новий підхід, спрямований на оцінку потенціалу адаптаційних можливостей інвазійних організмів у новому для них середовищі. На відміну від аналогів, запропоновано трирівневий підхід до оцінювання життєдіяльності та екологічних функцій інвазійних видів. Окрім класичних видових і популяційних досліджень, пропонується здійснити біохімічне оцінювання стресостійкості інвазійних видів. Адже стресостійкість можна розглядати як основну реакцію організму на зміни сталих компонентів середовища. Проблема антиоксидантного захисту дуже актуальна в наш час. Але донині немає чіткої відповіді на питання про те, як реагують на вплив різних чинників, на стрес інвазійні організми, потрапляючи до нового середовища, та чому клітина використовує різні захисні системи адаптації до дії одного і того самого чинника. Оксидативний стрес – стан, за якого утворення активних форм кисню (АФК) переважає над процесами їх знешкодження, у результаті чого відбувається порушення основних обмінних процесів. Активні форми кисню разом з антиоксидантами складають систему клітинної редокс-сигналізації, яка, у свою чергу, є невід'ємним елементом загальної сигнальної мережі як клітини, так і цілого організму. Порушення балансу між утворенням АФК та їх знешкодженням антиоксидантами може спричинювати пошкодження біополімерів, ліпідів та, в кінцевому випадку, –

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-066-795-63-20. E-mail: goloborodko@ua.fm

загибель клітини. Індукція АФК-залежних шляхів сигнальної трансдукції за впливу різних зовнішніх чинників може спричиняти активацію антиоксидантної системи, а, отже, підвищити стійкість організмів до стресорів різної природи в різних умовах існування. При цьому механізми взаємодії різних компонентів антиоксидантної системи все ще залишаються маловивченими. Незалежно від тривалості життя організму, яка вимірюється днями чи десятиліттями, O_2 небезпечний для всіх організмів – рослин, комах, хребетних тварин тощо. Так, комахи не захищені від шкідливої дії АФК. Вони можуть бути особливо схильні до оксидативного стресу. Рослини, потрапляючи до нового середовища, зазнають осмотичного та іонного стресу, які поряд із сольовим стресом можуть викликати розвиток вторинного оксидативного стресу. Останній визначають як короткочасне або тривале підвищення стаціонарної концентрації АФК, що викликає порушення клітинного метаболізму та його регуляції, а також пошкодження клітинних компартментів. У захисті як рослин, так і тварин від дії стресових чинників ключову роль відіграють антиоксиданти, які можуть бути представлені низькомолекулярними сполуками та антиоксидантними ферментами. Запропоновано новий підхід до оцінки стресостійкості інвазійних організмів. Запропоновано розробити нову методику, яка б надала можливість зробити якісний прогноз, які адаптаційні можливості має інвазійний вид і які саме екологічні функції та за який проміжок часу він зможе виконувати в нових для себе екосистемах.

Ключові слова: карантинні види; стресостійкість організму; методика визначення стресостійкості

Introduction

According to FAO and IUCN estimations, there is an annually increase in the number of animal species which move into new environments, atypical for them, due to direct or indirect human activity. A number of these animals after adaptation begin to compete with native species, invading the stable environmental features of different ecosystems. The result of such penetration can often have irreversible environmental consequences leading to significant biological impairment in the living activities of entire ecosystems, resulting in significant economic waste in various economic sectors. In European countries, a list of 435 quarantine species was drawn up, which have different danger statuses, both environmental and economic, because they annually cause direct economic losses. Nowadays, according to specialist research, the number of potentially invasive species that are able to penetrate into the territory of Ukraine is estimated as 1500 species. Abnormalities in the functioning of the natural ecosystem caused by the influence of invasive species can also bring direct and indirect risk to human health. At the the early XXI century, the challenge of risk assessment on penetration by invasive species and control of existing species underlie the national security of every contemporary state.

Research has found that invasive plant species are able to cause significant changes in the soil environment, which is evident in the reduction of pH levels in the soil solution, changes in C/N ratio, increase of N content (Lazzaro et al., 2004). Along with this, soil characteristics, particularly conditions of contemporary and past land use, are the determining factors of rooting of newer plant species (Csecserits et al., 2016). Changes in environmental conditions in consequence of infestation lead to decrease in biodiversity and biomass productivity of native species, as well as reducing their toleration (Ruckli et al., 2004; Brygadyrenko, 2015a, 2015b). However, invasive species often do not lead to deterioration of the environmental state during the first stages of their dispersion (Hulme et al., 2013); this can be determined by application of more sensitive mechanisms to invasion diagnostics compared with environmental changes, particularly use of molecular markers (Wolf et al., 2012).

The results of current researches are devoted to the studies of biology, ecology, and spreading of invasive species in multiple-purpose water bodies (Marlis et al., 2015), as well as the socio-economic consequences of biological invasions (Lotz and Allen, 2013). European scientists conduct the study of migration vectors and spreading of invasive species (Frances et al., 2016), but studies of species adaptive capabilities have almost never been performed.

Living systems are faced with a variety of stresses in the process of their continuous interaction with the environment (Stoliar and Lushchak, 2012). Environmentally induced stresses often activate the production of endogenous reactive oxygen species (ROS), most of which are generated as by-products of tissue respiration. Thus, the permanent influence of stress factors can exacerbate the ROS-mediated oxidative damages. A large number of agricultural and industrial wastes enter the environment and, thereafter, pass into various living organisms, causing multiple changes in them. Some of effects involve enhancing the direct formation of reactive oxygen, while others can act indirectly, such as by binding to cell thiols and decreasing of antioxidant potential. Pollution of the aquatic environment especially affects fish. However, academic studies on the adaptive capabilities of invasive species have almost never been performed. So, the question of studying the antioxidant support network under development of oxidative stress is quite relevant.

Invasive plant species

Invasions by non-native species are the greatest global environmental problems in the modern age, which are of particular importance due to processes of biotic globalization (Davis, 2003). Invasive plants pose a significant hazard to biodiversity, ecosystem management, agriculture and forestry, etc. According to assessment of the Convention on Biological Diversity, invasions of non-native species are the second most important threat to biodiversity on the global level, following direct destruction of wildlife habitat (Mack et al., 2000).

In Ukraine, 95 plant species of adventive flora have been identified as the species with high invasive capacity (Protopopova et al., 2002). The most common of these are 21 species (Table 1) (Abduloeva et al., 2008).

In terms of occupied area, and thus in the impact on the local ecosystems, *Robinia pseudoacacia* ranks first among arboreal species. This species was introduced from South America. It was first introduced to Ukraine in the late XVIII century in Count Razumovsky's Park. In 1808, this plant was grown by I.N. Karazin in his estate in Kharkov region. In Ukraine, *R. pseudoacacia* came actively into cultivation in early 1920s (Vakulyuk and Samoplavskyy, 1998). The species occupies an especially large area within the

steppe zone, as it is perfectly adapted to arid conditions. *R. pseudoacacia* is a rapid-growth species, and in the first year after planting it grows to 1.5 m, while its stool shoot can reach 2–3 meters in the first year within clear felled areas (Ukraynska …, 1999). *R. pseudoacacia* is not soil-demanding tree species. At the present time, under steppe conditions almost everywhere a significant expansion of the distribution of *R. pseudoacacia* is observed; this is related to its growth-inhibiting role in respect to other tree species, such as the oak and ash (Riabchenko, 2012). Invasion of *R. pseudoacacia* into native oak forests can lead to significant changes in forest-site conditions (Nascimbene et al., 2012). At the same time, *R. pseudoacacia* often compares poorly in moistening to steppe herbaceous native species.

Table 1

The most common types of invasive plants in the steppe zone of Ukraine

No.	Name of species	Homeland	Year of first registration
1	*Acer negundo* Linnaeus (1753)	North America	1898
2	*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (1916)	China	1924
3	*Ambrosia artemisiifolia* Linnaeus (1753)	North America	1914
4	*Amorpha fruticosa* Linnaeus (1753)	North America	1809
5	*Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald. (1943)	North America	1951
6	*Echinocystis lobata* (Mixch.) Torr. et A. Gray. (1840)	North America	1946
7	*Helianthus tuberosus* Linnaeus (1753)	North America	1905
8	*Heracleum mantegazzianum* Sommier et Levier (1895)	North America	1810
9	*Solidago canadensis* Linnaeus (1753)	North America	1937
10	*Elodea canadensis* Michx. (1803)	North America	1889
11	*E. nuttallii* (Planch.) St. John. (1920)	North America	2004
12	*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt ex Maxim.) Nakai (1988)	Far East	1936
13	*Robinia pseudoacacia* Linnaeus (1753)	South America	1808
14	*Amaranthus albus* Linnaeus (1759)	North America	1861
15	*Anisantha tectorum* (Linnaeus) Nevski (1753)	Southwestern Asia, Northern Africa	1883
16	*Asclepias syriaca* Linnaeus (1763)	North America	1904
17	*Conyza canadensis* (Linnaeus) Cronq. (1943)	North America	1753
18	*Galinsoga quadriradiata* Ruiz and Pav. (1798)	South America	1946
19	*G. parviflora* Cav. (1795)	South America	1854
20	*Impatiens parviflora* DC. (1824)	Central Asia	1927
21	*Xanthium spinosum* Linnaeus (1753)	South America	1922

Some scientific researches (Abduloeva and Karpenko, 2008) have revealed a high allelopathic activity of *R. pseudoacacia* soluble exudates, which explains to some extent of its occupation of new territories and displacement of other plant species. Significant expansion in distribution of *R. pseudoacacia* is also observed in other countries, particularly in Northern Italy there is expansion of the species into new territories (Radtke et al., 2013). In South Korea, expansion of *R. pseudoacacia* occurs within lowlands, and this phenomenon is not observed for uplands (Lee et al., 2004).

Invasive invertebrate species

Representatives of insects are a serious hazard to the local ecosystems and economy. In Ukraine, according to the International Convention on Quarantine and Plant Protection and the International Standards for Phytosanitary Measures (ISPMs No. 19), lists of quarantine species were compiled. Today in Ukraine 218 species of quarantine organisms are listed to the National List of Regulated Hazardous Organisms, among which 98 species are insects. In the current list, all organisms are divided into three groups:

– A-1 Quarantine organisms absent from Ukraine;

– A-2 Quarantine organisms with restricted distribution in Ukraine;

– Adjustable non-quarantine hazardous organisms.

Species belonging to the A-2 group are the greatest environmental and economic hazards (Table 2) because of their annual irruption. The last 20 years it have seen an intense process of fauna transformation in the Dnieper reservoirs. Invasion and distribution of invertebrates occurred (Pligin et al., 2013, Semenchenko et al., 2015). During the period 2000–2015 alone the species composition of the benthos fauna was enrichened by 6 species (Table 3).

Table 2

List of insect species with quarantine status in Ukraine

No.	Name of species	Homeland	Year of first registration
A-2 Quarantine organisms with restricted distribution in Ukraine			
1	*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1868	Central America	2004
2	*Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895)	North America	1998
3	*Hyphantria cunea* Drury, 1773	North America	1952
4	*Phthorimaea operculella* (Zeller, *1873*)	South America	2002
Adjustable non-quarantine hazardous organisms			
5	*Lopholeucaspis japonica* (Cockerell, 1897)	North America	1962
6	*Quadraspidiotus perniciosus* Comstock, 1881	Far East	1876
7	*Dactylosphaera vitifoliae* (Fitch, 1855)	North America	1880

Table 3

List of introduced invertebrates in Zaporizhzhya Reservoir (2000–2016)

No.	Name of species	Homeland	Year of first registration
Amphipoda Latreille, 1816			
1	*Synurella ambulans* (F. Muller, 1846)	Freshwater habitats in Europe	2000
2	*Rivulogammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937	Freshwater's South or West Europe	2001
Mysidacea A.H. Haworth, 1825			
3	*Katamysis warpachowskyi* (Sars, 1893)	The brackish and freshwaters of the Ponto-Caspian region. Shortly before 1946, it spread across continental Europe by both intentional (for fish feeding) and unintentional introductions, and arrived in the coastal brackish waters of the Baltic and the North Sea. It is soon to be expected on the Mediterranean coast. The westward spread occurred mainly through multiple invasion waves along waterways of the southern corridor, from the Danube Delta, through the Main-Danube Channel, and in the River Rhine down to the North Sea	2007
Decapoda Latreille, 1802			
4	*Eriocheir sinensis* (Milne-Edwards, 1853)	The coastal estuaries of eastern Asia from Korea in the north to the Fujian province of China in the south	2002
5	*Rhithropanopeus harrisii* (Gould, 1841)	Atlantic coast of North America	2009
6	*Procambarus fallax* f. *virginalis* Martin et al., 2010	Florida's bodies of freshwater; Germany's bodies of freshwater (since 1990)	2015

In 2000, in the downstream area of the Samara river an amphipod species new for Ukraine was recorded, *S. ambulans*. In 2001, in the Kilchen river, was registered the species *R. kischineffensis*, untypical for the steppe of Ukraine and newer for the Dnieper basin, which also expanded its range to the Samara river floodplain. In 2002, in Zaporizhzhya Reservoir, a catch of the mitten crab *E. sinensis* has been recorded; further reports of catching this species came in 2003 (Kakhovske Reservoir) and 2010–2015 (lower reach of Zaporizhzhya Reservoir) (Novitskiy, 2010).

In the spring of 2009, the Holland crab *R. harrisii* was found in the Zaporizhzhya Reservoir. In 2015 specimens of marbled crayfish *P. fallax* f. *virginalis* were firstlobserved (Novitskiy, 2010).

Invasive vertebrate species

During all stages of existence of the Zaporizhzhya Rservoir, fish fauna has undergone significant transformation. Currently, 52 fish species belonging to 14 families inhabit the reservoir. The number of fish species in the Dnieper in its current form as a chain of huge reservoirs is the same as when it was a free-flowing river, but the composition of fish species has changed radically because of the establishment of new fish species (Fedonenko at al., 2008) (Table 4).

The fauna structure is considerably influenced by the complex of ecological factors that generated changes in ichtyocoenosis. The increase in number of species is associated with various events. Firstly, after disappearance of the Dnieper Rapids and rise of water salinisation, the natural colonizing process began (Fedonenko at al., 2008), resulting in expansion of southern species to the reservoir, such as *Alosa pontica*, *Gasterosteus aculeatus*, *Syngnathus abaster nigrolineatus*, *Aterina pontica*, *Clupeonella cultriventris*, *Benthophiloides brauneri*.

Secondly, some species of fish have been introduced in the reservoir for the purpose of fishery management implementation: *Hypophthalmichthys molitrix* and *Carassius gibelio*. In addition to the stocking of the Far-Eastern complex of herbivorous fish, *Pseudorasbora parva* has become established in the reservoir; this species unlike white amur and silver carp has acclimatized and expanded its distribution throughout the Zaporizhzhya Reservoir and tributary systems (Bulakhov at al., 2008; Fedonenko at al., 2008).

The emergence of new species was related also to the deliberate release of fish. In such a manner, *Lepomis gibbosus* appeared in water bodies of Dnipropetrovsk region; the species has adapted successfully and widely enlarged its range (Fedonenko at al., 2015). Because this introduced species is a predator, it can be potentially damaging for valuable commercial fish because it feeds on invertebrates, and occasionally eggs and young fish. At present, about 31% of the fish species in the Zaporizhzhya Reservoir are introduced. Such changes in the reservoir ichthyofauna composition can harm rational fishing, because introduced species are overwhelmingly the food competitors for the young of commercial fish species.

Determining species viability by stress resistance indices

Today, the problem of antioxidant protection is very relevant. But, despite the fact that quite a lot is already known about antioxidant system functioning and adjustment, many questions remain unanswered. For example, it remains unclear how the introduced species respond to the impact of various factors and to the stress they experience when they enter a new environment, and why their cells use different protective adapting systems to the same factor of influence (Halliwell, 2007). Oxidative stress is a condition when formation of reactive oxygen species (ROS) prevails over the processes of their disposal, resulting in a major disruption of the main vital processes (Hansen, 2006; Lushchak, 2011). Reactive oxygen forms cause many different damages through oxide modification of lipids, proteins, DNA, and other components. They are by-products of cellular aerobic metabolism, or results of many xenobiotic functions.

Along with antioxidants, reactive oxygen species constitute a system of cellular redox signaling, which is an integral element of the overall signaling system of both cells and the whole organism (Sies, 1991). At the same time, imbalance between ROS formation and their degradation by antioxi-

dants can lead to damage to biopolymers and lipids and, finally, to cell death. Induction of ROS-dependent pathways of signal transduction influenced by various external factors may cause the activation of the antioxidant system and thus improve organism resistance to stressors of various nature in different conditions of existence. Nevertheless, the mechanisms of interreaction of various components in the antioxidant system still remain unclear.

Table 4

Distribution of new fish species in the basin of the Zaporizhzhya Reservoir (compiled from data)

No.	Name of species	Homeland	Year of first registration
1	*Syngnathus abaster nigrolineatus* Eichwald, 1831	Eastern Atlantic: southern Biscay to Gibraltar, and also the Mediterranean and Black seas	1931
2	*Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840)	Eurasia: Black Sea (northwestern parts), Sea of Azov and Caspian Sea	1958
3	*Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758	Circumarctic and temperate regions: Extending south to the Black Sea, southern Italy, Iberian Peninsula, North Africa; in Eastern Asia north of Japan (35°N), in North America north of 30–32°N; Greenland	1959
4	*Alosa pontica* (Eichwald, 1838)	Eurasia: Black Sea and Sea of Azov (in sea and in the Don, Danube and other rivers, as much as 567 km up the Don and as far as Kiev on the Dneiper before the dam was built)	1961 (repeatedly)
5	*Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844)	Asia: China to eastern Siberia (Amur River system)	1960–1970
6	*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)	Originally from Asia (Siberia), they have been introduced to and now inhabit lakes, ponds, and slow-moving rivers throughout Europe, North America, and Asia	1970
7	*Aristichthys nobilis* (Richardson, 1845)	Bighead carp are native to the large rivers and associated floodplain lakes of eastern Asia. Their range extends from southern China north to the Amur River system, which forms the border between China and Russia	1970
8	*Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844)	Freshwaterbodies of China and eastern Siberia	1970
9	*Atherina pontica* (Eichwald, 1831)	Eastern Atlantic: Portugal and Spain to Nouadhibou in Mauritania and Madeira, and throughout the Mediterranean and Black Sea	1990
10	*Pseudorasbora parva* (Temminck et Schlegel, 1846)	Asia: Amur to Zhujiang [Pearl River] drainages in Siberia, Korea and China	1992
11	*Mesogobius batrachocephalus* (Pallas, 1814)	Europe and Asia: Black Sea, and Sea of Azov	1995
12	*Ictalurus punctatus* (Rafinesque, 1818)	North America: Central drainages of the United States to southern Canada and northern Mexico	1996
13	*Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758)	North America: New Brunswick in Canada to South Carolina in the USA; Great Lakes, Hudson Bay and upper Mississippi basins from Quebec and New York west to southeast Manitoba and North Dakota, and south to north Kentucky and Missouri	1992–1993 2002
14	*Benthophiloides brauneri* (Beling et Iljin, 1927)	Eurasia: Black Sea, Sea of Azov, and Caspian Sea estuaries and rivers	2006

Regardless of a longevity duration that can be days or decades, O_2 is dangerous for all living organisms, whether plants, insects, and vertebrates. For example, insects are not protected from the harmful ROS effect occurring at O_2 reduction. Insects can be particularly prone to oxidation stress (Felton, 1995). On reaching a new environment, plants are exposed to osmotic and ionic stresses that along with saline stress can cause the development of secondary oxidation stress. Oxidation stress is defined as short-term or prolonged increasing of steady-state ROS concentration, which causes disturbance of cell metabolism and its regulation processes as well as damaging the cellular compartments (Apel, 2004). Antioxidants play the key role in protection both plants and animals against the effects of stress factors; antioxidants can be represented by low-molecular compounds and antioxidant enzymes (Blokhina, 2003; Gill, 2010).

Superoxide dismutase and catalase are enzymes of the first line of defense against ROS. Superoxide dismutase (SOD, F.K. 1.15.1.1) is a permanent component of the antioxidant system. SOD catalyzes the dismutacion $O_2^{\bullet}$ to H_2O_2. Activity of SOD is related to redox-active metal ion in the molecular active center of the enzyme, and, depending on the enzyme type, that ion may be manganese, ferrum or cuprum, which is involved in the process of radical neutralization. At the first step, one-electron oxidation takes place, and the one-electron reduction at the second step. These reactions do not require an external source of oxidation-reduction equivalents, so they are independent components of the antioxidant system (Kohen, 2002).

Catalase (F.K. 1.11.1.6) is an enzyme that is present in most anaerobic cells, and it catalyzes the transformation reaction of hydrogen peroxide to water and oxygen. In animal tissues, catalase is localized in the cytoplasm and peroxisomes. Catalases represents a large group of oxido-reductases, which are divided into three subgroups, depending on the physical and biochemical properties (Kohen, 2002; Halliwell, 2007). Most aerobic organisms contain catalase except some algae and parasitic helminths (Imlay, 2003).

Different redox groups can be used as indicators of changes in cell oxidation-reduction balance (Hansen, 2006; Lushchak, 2011). In the cell, there are three basic oxidation-reduction systems. The eukaryote basic reduction systems supporting cell oxidation-reduction balance includes the glutathione-dependent system (GSH/GSSG) (Anderson, 1998). Glutathione acts as the most important intracellular low-molecular thioic antioxidant. The importance of glutathione in the cell is determined by its antioxidant properties. Actually glutathione not only protects the cell from such toxic agents as free radicals, but also determines the redox status of the intracellular environment generally (Anderson, 1998; Lushchak, 2012).

Conclusion

We propose a completely new advanced technique aimed at addressing the modern global environmental target of evaluation of potential adaptive capacities of invasive species in new environments. Unlike its analogues, the proposed three-step approach in evaluation of life activity and ecological functions of invasive species has been developed. In addition to the classic species and population surveys, it was proposed to carry out biochemical evaluation of stress resistance in invasive species. After all, stress resistance can be considered as the primary reaction of living organisms to changes of stable environment components. The results will provide the opportunity to make a more accurate forecast concerning adaptation opportunities in invasive species, and exactly what kind of ecological functions and for which time period such species will be able to perform in the ecosystems new to them.

References

Abduloeva, O.S., Karpenko, N.I., Senchylo, O.O., 2008. Obgruntuvannia "chornogo spysku" zagrozlyvykh dlia bioriznomanittia invaziynykh vydiv roslyn Ukrainy [Justification of "the black list" threatening the biodiversity of invasive species Ukraine]. Visnyk Kyivskogo Natsionalnogo Unirsytetu. Seria Biologiia 52–53, 106–107 (in Ukrainian).

Anderson, M.E., 1998. Glutathione: An overview of biosynthesis and modulation. Chem. Biol. Interact. 111, 1–14.

Apel, K., Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. Ann. Rev. Plant Biol. 55, 373–399.

Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Ann. Bot. 91, 179–194.

Brygadyrenko, V.V., 2015a. Evaluation of the ecological niche of some abundant species of the subfamily Platyninae (Coleoptera, Carabidae) against the background of eight ecological factors. Folia Oecol. 42(2), 1–18.

Brygadyrenko, V.V., 2015b. Parameters of ecological niches of Badister, Licinus and Panagaeus (Coleoptera, Carabidae) species measured against eight ecological factors. Baltic Journal of Coleopterology 15(2), 137–154.

Bulakhov, V.L., Novitskiy, R.O., Pakhomov, O.Y., Hristov, O.A., 2008. Biolohichne riznomanittya Ukrayiny. Dnipropetrovska oblast. Kruhloroti (Cyclostomata). Ryby (Pisces) [Biological diversity of Ukraine. Dnipropetrovsk region. Cyclostomes (Cyclostomata). Fish (Pisces)]. Dnipropetrovsk University Press, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Csecserits, A., Botta-Dukát, Z., Kröel-Dulay, G., Lhotsky, B., Ónodi, G., Rédei, T., Szitár, K., Halassy, M., 2016. Tree plantations are hot-spots of plant invasion in a landscape with heterogeneous land-use. Agr. Ecosyst. Environ. 226, 88–98.

Davis, M., 2003. Biotic globalization: Does competition from introduced species threaten biodiversity? BioScience 53, 481–489.

Fedonenko, O.V., Yesipova, N.B., Sharamok, T.S., Ananyeva, T.V., Yakovenko, V.O., Zhezherya, V.A., 2008. Ekolohichnyy stan biotsenoziv Zaporizkoho vodoskhovyshcha v suchasnykh umovakh [Ecological state of Zaporozhye Reservoir biocenoses under current conditions]. Dnipropetrovsk University Press, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Fedonenko, O.V., Yesipova, N.B., Marenkov, O.M., Sharamok, T.S., 2015. Kontseptsiya rozvytku rybnoho hospodarstva Dnipropetrovs'koyi oblasti na nastupni pyat rokiv [The concept of development of fisheries of Dnipropetrovsk region for the next five years]. Rybohospodarska Nauka Ukrayiny 31, 16–25 (in Ukrainian).

Felton, G.W., Summers, C.B., 1995. Antioxidant systems in insects. Arch. Insect Biochem. Physiol. 29(2), 187–197.

Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochem. 48, 909–930.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2007. Free radicals in biology and medicine. Free Radic. Biol. Med. 10(6), 449–450.

Hansen, J.M., Go, Y.M., Jones, D.P., 2006. Nuclear and mitochondrial compartmentation of oxidativestress and redox signaling. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 46, 215–234.

Hulme, P.E., Pyšek, P., Jarošík, V., Pergl, J., Schaffner, U., Vilà, M., 2013. Bias and error in understanding plant invasion impacts. Trends Ecol. Evol. 28(4), 212–218.

Imlay, J.A., 2003. Pathways of oxidative damage. Annu. Rev. Microbiol. 57(1), 395–418.

Kohen, R., Nyska, A., 2002. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicol. Pathol. 30(6), 620–650.

Lazzaro, L., Giuliani, C., Fabiani, A., Agnelli, A.E., Pastorelli, R., Lagomarsino, A., Benesperi, R., Calamassi, R., Foggi, B., 2014. Soil and plant changing after invasion: The case of *Acacia dealbata* in a Mediterranean ecosystem. Sci. Total Environ. 497, 491–498.

Li, G., Xu, G., Guo, K., Du, S., 2014. Mapping the global potential geographical distribution of Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) using herbarium data and a maximum entropy model. Forests 5, 2773–2792.

Lotz, A., Allen, C.R., 2013. Social-ecological predictors of global invasions and extinctions. Ecol. Soc. 18(3), 15.

Lushchak, V.I., 2011. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 153(2), 175–190.

Lushchak, V.I., 2012. Glutathione homeostasis and functions: Potential targets for medical interventions. J. Amino Acids 2012, Article ID 736837.

Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A., 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences and control. Ecological Applications 10(3), 689–710.

Nascimbene, J., Nimis, P.L., Benesperi, R., 2012. Mature non-native black-locust (*Robinia pseudoacacia* L.) forest does not regain the lichen diversity of the natural forest. Sci. Total Environ. 421–422, 197–202.

Novitskiy, R.O., 2010. Novi vydy hidrobiontiv-autovselentsiv u Dniprovs'komu vodoskhovyshchi [New species of self establishing hidrobionts in the Dnieper reservoir]. Naukovi Zapysky Ternopilskoho Natsionalnoho Pedahohichnoho Universytetu. Seriya Biolohiya 43, 373–376 (in Ukrainian).

Novitskiy, R.O., Semenova, O.V., 2010. Morfo-ekolohichna kharakterystyka oseledtsya chornomorsko-azovskoho *Alosa pontica pontica* Dniprovs'koho (Zaporizkoho) vodoskhovyshcha [Morpho-ecological characteristics of the Azov-Black Sea herring *Alosa pontica pontica* of Dnieper (Zaporizhia) Reservoir]. Pytannya Bioindykatsiyi ta Ekolohiyi 14(2), 204–214 (in Ukrainian).

Pligin, Y.V., Matchinskaya, S.F., Zhelezniak, N.I., Linchuk, M.I., 2013. Distribution of alien species of macroinvertebrates in the Dnieper Reservoirs in long-term aspect. Hydrobiological Journal 49(6), 21–36.

Protopopova, V.V., Mosiakin, S.L., Shevera, M.V., 2002. Fitoinvazii v Ukraini iak zagroza bioriznomanittyu: Suchasnyy stan i zavdannia na maybutne [Phytoinvasions in Ukraine as a threat to biodiversity: Current status and challenges ahead]. Instytut Botaniky NAN Ukrajiny, Kyiv (in Ukrainian).

Riabchenko, M.M., 2012. Nasadzhennia robinii pseudoakatsii v umovakh tsentralnoi chastyny Prydniprovskoi vysochyny [Plantation of *Robinia pseudoacacia* in the central part of

the Dnieper Plateau]. Naukovyy Visnyk Natsionalnogo Universytetu Bioresursiv i Pryrodokorystuvannia Ukrainy. Seria Lisivnytstvo ta Dekoratyvne Sadivnytstvo 171(2), 166–171 (in Ukrainian).

Ruckli, R., Rusterholz, H.-P., Baur, B., 2014. Invasion of an annual exotic plant into deciduous forests suppresses arbuscular mycorrhiza symbiosis and reduces performance of sycamore maple saplings. Forest Ecol. Manag. 318, 285–293.

Semenchenko, V.P., Son, M.O., Novitsky, R.A., Kvatch, Y.V., Panov, V.E., 2015. Alien macroinvertebrates and fish in the Dnieper River basin. Russian Journal of Biological Invasions 6(1), 51–64.

Sies, H., 1991. Role of reactive oxygen species in biological processes. J. Mol. Med. (Berl.) 69(21), 965–968.

Stoliar, O.B., Lushchak, V.I., 2012. Oxidative stress – environmental induction and dietary antioxidants [Environmental pollution and oxidative stress in fish]. InTech 132–166.

Vakulyuk, P.G., Samoplavskyy, V.I., 1998. Lisovidnovlennia ta lisorozvedennia v rivnynnykh rayonakh Ukrayny [Reforestation and afforestation in the plain areas of Ukraine]. Polifast, Fastiv (in Ukrainian).

Wolf, V.C., Gassmann, A., Clasen, B.M., Smith, A.G., Müller, C., 2012. Genetic and chemical variation of *Tanacetum vulgare* in plants of native and invasive origin. Biol. Control 61(3), 240–245.

Надійшла до редколегії 11.10.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 473–483.

doi:10.15421/011664

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

UDC 574.21+574.476

Functional and spatial structure of the urbotechnozem mesopedobiont community

O.N. Kunah

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University,
Dnipropetrovsk, Ukraine

The results of studying the spatial structure of soil mesofauna of an urbanotechnozem by OMI- and RLQ-analysis are presented. The research was conducted on 5 June 2012 in the Botanic Garden of Oles Gonchar University (previously – territory of the Park Y. Gagarin, Dnipropetrovsk). The studied plot is situated on the slope of the Krasnopostachekaya balka (48°25'57.43" N, 35°2'16.52" E). The plot consists of 15 transects directed in a perpendicular manner in relation to the talweg. Each transect is made of seven sample points. The distance between points is 2 m. The coordinates of the lower left point were taken as (0; 0). The plot consisted of artificial grassland with a single tree. The vegetation was composed of grassland and steppe, of a mega-mesotrophic, xeromesophilic character. At each point the mesopedobionts were studied (data presented as L-table); temperature, electrical conductivity and soil penetration resistance, and grass height were measured (data presented as R-table). The soil-zoological test area was 25 × 25 cm. The mesopedobiont community was represented by 28 species and with total abundance 70.1 ind./m^2. The following groups were dominant in the ecological structure of the soil animal community; saprohages, pratants, mesotrophocoenomorphs and the endogeic group. The measured edaphic characteristics were shown to play an important role in structurization of the ecological niche of the mesopedobiont community. The usage of morphological or physiological features of animals for the assessment of degree of specific distinctions is applicable for homogeneous taxonomic or ecological groups possessing comparable characteristics which also can be interpreted ecologically. The soil mesofauna is characterized by high taxonomic and ecological diversity of forms, which are difficult to compare by morphological or physiological criteria. The ecological value of characteristics in different groups will be not identical, and the basis for their comparison will be inadequate. Therefore we apply to the description of ecological features an ecomorphic analysis of the soil animals. The organization of communities of soil animals may be considered at the levels of investigated point,biogeocenosis, landscape and regional level. On the basis of landscape-ecological distribution of species in ecological space, their distribution in ecological groups – ecomorphs is established. The regular ratio of an ecomorph in these functional groups will be reflection of their organizational structure and ecological diversity. The obtained data testifies to the justice of this assumption. It is important to note the fact that the functional groups allocated in ecological space by means of the RLQ-analysis show regular patterns of spatial variability. Local functional groups are characterized by ecological characteristics in which any ecomorph may contain species occupying different hierarchical positions. Ascertaining the spatial heterogeneity of the animal community and determinancy of properties of an ecological niche by soil factors is an important result. However, for understanding of the nature of heterogeneity of the spatial variant of ecomorphs the analysis with RLQ-analysis application has been processed. Within a comparatively uniform field the spatial differentiation of the animal community in functional groups has been found. The reality of their existence was not only verified statistically, but also supplemented by a substantial interpretation of the ecomorphic markers of the interrelations between the groups and indicators of the ecological properties of the soil they inhabit. The variation of environmental properties within microsites leads to rearrangement of the ecological frame of the soil animal community. Heterogeneity of a soil body and vegetation mosaic form patterns of the spatial organisation of the soil animal community.

Keywords: mesopedobionts; ecological niche; spatial ecology; ecomorphs

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, пр. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-067-993-55-13. E-mail: olga-kunakh@rambler.ru

Функциональная и пространственная структура сообщества мезопедобионтов урботехнозема

О.Н. Кунах

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепропетровск, Украина

Приведены результаты изучения пространственного варьирования экоморфической структуры почвенной мезофауны технозема методами OMI- и RLQ-анализа. Биогеоценотическая обстановка в месте расположения экспериментального полигона имеет лугово-степной мегамезотрофный ксеромезофильный облик. Данные для исследования собраны с помощью ручной разборки почвенных образцов площадью 0,25 × 0,25 м по регулярной сетке (7 × 15 образцов) с расстоянием между точками отбора 2 м (результаты представлены как L-таблица), проведено измерение температуры, электропроводности и твердости почвы, мощности подстилки и высоты травостоя (R-таблица). Почвенная мезофауна экспериментального участка представлена 28 видами с общей плотностью 70,1 экз./м^2. В экологической структуре животного населения почвы преобладают пратанты, мезотрофоценоморфы, эндогейные беспозвоночные, сапрофаги. Такие эдафические характеристики как твердость почвы, электропроводность, мощность подстилки, а также высота травостоя играют важную роль в структурировании экологической ниши сообщества мезопедобионтов. Первые две оси OMI-анализа описывают 71,5% инерции, что вполне достаточно для того, чтобы описание дифференциации экологических ниш мезофауны на изучаемом полигоне проводилось в пространстве первых двух осей. Для среднего значения маргинальности сообщества (OMI = 3,32) уровень значимости составляет P = 0,001, что свидетельствует о важной роли выбранных переменных среды для структурирования сообщества почвенной мезофауны. В результате RLQ-анализа и последующей кластерной процедуры выявлены четыре ключевые функциональные группы мезопедобионтов и найдена роль эдафических факторов в их пространственном варьировании. Каждая из функциональных групп интерпретирована в терминах экоморфического подхода.

Ключевые слова: почвенная мезофауна; экологическая ниша; пространственная экология; экоморфы

Introduction

Evaluation of the properties of habitats is essential for forecasting the impact of disturbances on communities of living organisms and to identify the properties of the environment that are important for the protection of biodiversity and maintenance of ecosystem functions (Brind'Amour et al., 2011; Brygadyrenko, 2015). Differences in species composition and community variability in response to environmental conditions are a key obstacle to the development of habitat models that could be applied to different types in various ecosystems (Olden and Jackson, 2002; Faly and Brygadyrenko, 2014). Functional classification of animals into groups whose species are characterized by common ecological features provides an alternative to the individual model-type of environment and can bypass these obstacles (McGill et al., 2006; Brind'Amour et al., 2011). Groups of species that share common environmental properties form the operational units that respond to environmental factors and are more predictable than individual species, greatly increasing the predictive ability of the model habitats compared to models created for high levels of taxonomic resolution, such as the species level (Austen et al., 1994). Combination of species according to their ecological features is also a method for identifying functional groups of species in order to assess key ecosystem functions, this being the most important step for clarifying functional diversity within and between ecosystems (Brind'Amour et al., 2005; Mouillot et al., 2006). The hypothesis of habitat filtering suggests that species with similar ecological requirements form a functional group which occupies similar habitats (Tonn et al., 1990; Zobel, 1997; Brygadyrenko and Komarov, 2008). Combining species on grounds such as morphology, or behavior, is one way to simplify the study of a variety in species communities (Angermeier and Winston, 1998).

The relationship between the species characteristics and properties of the environment are usually evaluated indirectly using the following two-step analysis. First, the abundance of species associated with the environmental conditions and the types of reaction to the changing environment, then the properties relating to biological or physiological characteristics of the species (Thuiller et al., 2004; Santoul et al., 2005; Brind'Amour et al., 2011). RQL analysis allows us to correlate ecological characteristics of species to environmental conditions (Doledec et al. 1996). This article examines the joint structure as presented in three data tables: the R-table (containing environmental variables), the Q-table (containing species characteristics) and the L-table (species abundance) (Doledec et al., 1996; Dray et al., 2002). The L-table performs a connection function between the tables R and Q, and measures the intensity of the connection between them. Before the actual analysis, three separate analyses were conducted. Correspondence analysis is applied on the L-tables and gives the optimal correlation structure between the study sites and the species scores. Ordination of tables R and Q is performed by principal component analysis. Thus, RQL performs co-inertia analysis on the cross-matrix of R, Q, and L. This analysis maximizes the covariance between the studied site's scores constrained by environmental variables of table R and the species scores constrained by the traits of table Q (Minden et al., 2012). The result could be obtained by a combination of the best coordination in their environmental characteristics, the ordination of species by their attributes (traits), and the simultaneous ordination of species and sites (Thuiller et al., 2006). The RQL-analysis combines the three separate ordination solutions to maximize the covariance between the traits of species and environmental data via the use of co-inertia analysis (Bernhardt-Romermann et al., 2008). Next, a hierarchical cluster analysis of the balance of species in two axes is made by RQL. The Ward method enables us to extract the functional groups (Minden et al., 2012). The optimal number of groups can be determined using Calinski criteria (Calinski and Harabasz, 1974). The clusters show the distribution of functional groups in the traits-environment space (Minden et al., 2012).

The soil animal community is a reliable indicator of the direction of biogeocenotic processes (Gilyarov, 1965). This is true for artificial soil-like structures – technozems. Disadvantages of design of this technozem may be accurately di-

agnosed by the specifics of the spatial organization of the mesopedobiont community (Andrusevych et al., 2014). RLQ-analysis allows us to evaluate the relationship between the three most important characteristics of the soil ecosystem: edaphic factors, species diversity and ecomorphic structure (Kunah et al., 2013). The ecomorphs reflect the adaptation of animals to different aspects of the biogeocenotic environment (Zhukov, 2009). In a particular community the observed variability of the ecomorphs' conjunctions makes it possible to give a multidimensional characterization of its ecomorphic organization.

Physical soil characteristics describe environmental conditions in the soil (Karpachevsky, 2010). Technozems are an artificial soil-like structure characterized by a high variability of properties (Shemavnev et al., 2005; Zadorozhna et al., 2012; Zhukov and Zadorozhna, 2013, Demidov et al., 2013). To characterize the spatial heterogeneity of soil as a habitat for soil animals we selected indicators that meet two requirements (Kunah et al., 2013, 2014; Zhukov et al., 2014). First of all, it is the environmental relevance that means performance, which is capable of informative display of features of the soil as a habitat for plants and soil animals. One further criterion is important to describe the spatial variability of the environmental properties of the indicator, the measurement process should be relatively easy to conduct, i.e. within a short time a significant amount of data may be collected (Kunakh et al., 2013). Such indicators as soil mechanical impedance, electrical conductivity and temperature of the soil can be quite quickly measured with modern tools which generate a large amount of data, and estimates of the non-uniformity of soil clearly correlate with the properties of the soil inhabited by the animal population. This approach has been shown to be effective in the study of forest biogeocenosis soil mesofauna (Kunah and Baldin, 2011), forest urbanozem (Kunah et al., 2013; Pakhomov et al., 2013), the spatial distribution of mole rats' mounds (Zhukov et al., 2013), the role of pedoturbation activity of mole rats in the structuring of the spatial organization of the herpetobiont spiders community (Zhukov et al., 2011).

Analysis of species' ecological niche marginality showed that a visually homogeneous and relatively small plot of land is a diverse habitat for soil animals. It was found that the design features of tehnozem, which manifest themselves through the variability of the soil's mechanical impedance in horizontal and vertical directions lead to a significant differentiation of the soil animal population of this area. The variability of the soil's mechanical impedance also impacts on the water regime of the soil, which affects the vegetation area and is quantitatively reflected in terms of electrical conductivity and temperature of the soil, as well as the height of the grass (Pakhomov et al., 2013).

The aim of the investigation is to study the spatial organization of the ecomorphic aspect of the mesopedobiont community of a model polygon within an urban area under intensive recreational load (Botanical Garden of Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk).

Material and methods

The study was performed on 13 June 2012 in the Botanical Garden of DNU named after Oles Gonchar (previously – the territory of the park was named after Yuri Gagarin, Dnipropetrovsk). The test polygon N 12 is located in the talweg of a branch of the Krasnopovstancheskaya balka (48°25'55.24" N, 35°02'20.27" E). Spatial placement of the polygon is presented in the article by Baluk et al. (2014). The natural talweg and part of the slope is covered with a mixture of technical construction waste, on which artificial soil formed. The soil at the study site is urbotechnozem (sod urbopedozem on technical construction waste mixture, since the establishment of the soil structure of the upper layer a chernozem-like mass was formed) (Mirzak, 2001). The soil of the investigated polygon was referred by Kabar (2003) to an order of anthropogenic soil, type – technozem, subtype – black soil technozem, the genus – humous, lithographic series – heterogeneous, species – with low humus content, with middle depth of soil layer, variety – median-loamy.

The investigated polygon represents a regular grid with 7 × 15 sample points. The distance between sampling points was 2 m. The size of the plot was 18 × 42 m.

The site is an artificial lawn with isolated planted trees. Forest plants are represented by Norway maple (*Acer platanoides* L.) and box elder (*A. negundo* L.). In the sward the following plants are abundant; orchard grass (*Dactylis glomerata* L.), Volga fescue (*Festuca valesiaca* Goud. Sl), large salsify (*Tragopogon major* Jacq.) and field sow thistle (*Sonchus arvensis* L.). The vegetation is meadow-steppe in appearance (44.4% of the projective cover is represented by the meadow coenomorph, and 37.0% by the steppe coenomorph). Phytoindication assessment allows trophotopes of the studied polygon to be assessed as a megamesotrophic (mesotroph projective cover is 59.3%, the other is megatroph). The hygrotop generally has a xeromesophilous character (xeromesophiles' projective cover is 33.3%).

At each point soil-zoological samples were taken to collect mesopedobionts (the size category of the soil animals was equivalent to macrofauna). The soil zoological samples measured 25 × 25 cm. Results are shown in the L-table. Soil temperature (layer 0–5 cm), soil electrical conductivity, soil mechanical impedance, depth of litter layer and height of grass were measured (presented in the R-table).

Measurements of mechanical impedance of the soil were carried out in field conditions to a depth of 100 cm at intervals of 5 cm. Mechanical impedance of the soil was recorded using a cone-penetrometer (Eijkelkamp Agrisearch Equipment, the Netherlands) (Zhukov and Zadorozhnaya, 2016). The average error of device measurement results is 8%. Measurements of mechanical impedance of the soil were made by a cone of cross-section 2 cm² in each cell of range.

Soil electrical conductivity was measured in situ by HI 76305 (Hanna Instruments, Woonsocket, R.I.). The HI 76305 is an amperometric steel probe that can be inserted directly into the soil or substrate and is connected to a HI 993310 portable water conductivity and soil salinity meter. The probe measures the total conductivity of the soil, i.e. the combined conductivity of air, water, and soil particles or substrate components (Scoggins and van Iersel, 2006).

Soil temperature was measured over 13 to 14 hours with a digital thermometer WT-1 (PJSC "Steklopribor", http://bit.steklopribor.com, accuracy is 0.1 °C) at a depth of 5–7 cm. Depth of the litter layer and grass height were measured by ruler. Measurements of electrical conductivity, tem-

perature, litter layer depth and grass height were made in triplicate at each test point.

The characteristics of plant ecomorphs are presented according Belgard (1950) and Tarasov (2005, 2012), the Q-table is represented by soil animals ecomorphs (Zhukov, 2006, 2007, 2009; Zhukov et al., 2007). Statistical procedure RLQ and OMI-analyses were performed using the ade4 package for R (The R Foundation, 2010). The significance of RLQ was evaluated using the procedure randtest.rlq. The essence and characteristics of OMI-analysis is discussed in the work of Pakhomov et al. (2013).

Results and discussion

The characteristic of the taxonomic and ecological diversity of the mesopedobiont community within the studied polygon is presented in Table 1.

At the study site 28 species of soil animals were found. The abundance of the mesopedobiont community of the studied polygon was 70.06 ± 15.67 ind./m^2. Earthworms were a numerous and diverse group of saprophagous species within the site and were represented by 4 species. Earthworms made up 61.6% of the total mesopedobiont community density. The dominant species was the endogeic *Aporrectodea c. trapezoides*. Its abundance was 31.70 ind./m^2. Endogeic earthworms were also represented by *Octolasion lacteum* and *Aporrectodea r. rosea*, and epigeic species were represented by *Lumbricus rubellus*. Earthworm hygromorphs were represented by hygrophylous and mesophylous species. The range of the cenomorphs was also very wide. Among earthworms, stepants, pratants and silvants were represented. Thus, the earthworm complex of the studied polygon was abundant and diverse in taxonomic and ecological aspects.

Table 1

Composition and abundance of species composing the mesopedobiont community

Family	Species	Coeno-morph	Hygro-morph	Coeno-tropho-moph	Topo-morph	Tropho-morph	Phoro-morph	Abundance, x ± SE, ind./m^2
Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa trapezoides* (Duges, 1828)	Pr	Ms	MsTr	End	SF	B4	31.70 ± 3.88
	A. rosea rosea (Savigny, 1826)	St	Ms	MgTr	End	SF	B4	1.68 ± 0.62
	Lumbricus rubellus Hoffmeister, 1843	Sil	Hg	MsTr	Ep	SF	B4	7.92 ± 1.36
	Octolasion lacteum (Oerley, 1885)	Sil	Ms	MsTr	End	SF	B4	1.83 ± 0.70
Aranei	*Aranea spp.*	St	Ms	MsTr	Ep	ZF	A3	1.22 ± 0.41
Phalangiidae	*Zacheus lupatus* (Eichwald, 1830)	St	Ks	MsTr	Ep	ZF	A3	0.30 ± 0.21
Geophilidae	*Geophilus proximus* C.L.Koch, 1847	Pr	Hg	MsTr	Anec	ZF	A2	8.38 ± 1.44
Julidae	*Megaphyllum rossicum* (Timotheew, 1897)	Pr	Ms	MgTr	Ep	SF	A3	0.91 ± 0.36
Polydesmidae	*Schizothuranius dmitriewi* (Timotheew, 1897)	Pr	UHg	MsTr	Ep	SF	A3	1.83 ± 0.73
Cantharididae	*Cantharis rustica* Fallen, 1807	St	Ks	MsTr	Ep	ZF	A3	0.15 ± 0.15
Carabidae	*Bembidion sp.*	Sil	Hg	OlgTr	Ep	ZF	A1	0.76 ± 0.32
	Carabidae sp. (larv.)	St	Ms	OlgTr	Ep	ZF	A3	1.07 ± 0.49
	Harpalus sp.	St	Ms	MsTr	Ep	FF	A1	0.30 ± 0.22
Cerambicidae	*Dorcadion fulvum* (Scopoli, 1763)	St	Ks	UMgTr	End	FF	B4	0.15 ± 0.15
Coccinellidae	*Coccinella septempunctata* Linnaeus, 1758	Pr	Ks	MsTr	Ep	ZF	B7	0.15 ± 0.15
Dermestidae	*Dermestes laniarius* Illiger, 1801	St	Ks	UMgTr	Ep	ZF	A1	0.15 ± 0.15
Elateridae	*Elateridae spp.*	Pal	Ms	MsTr	End	FF	B5	0.15 ± 0.15
Scarabaeidae	*Melolontha melolontha* (Linnaeus, 1758)	St	Ks	MsTr	End	FF	B7	1.37 ± 0.45
	Rhizotrogus aestivus (Olivier, 1789)	St	Ms	UMgTr	End	FF	B7	0.15 ± 0.15
Staphilinidae	*Staphylinus caesareus* Cederhjelm, 1798	Sil	Ms	MsTr	Ep	ZF	A1	0.15 ± 0.15
Noctuidae	*Lepidoptera spp.*	Sil	Ks	MsTr	End	FF	B4	1.22 ± 0.42
Trachelipodidae	*Trachelipus rathkii* (Brandt, 1833)	Pr	UHg	MsTr	Ep	SF	A3	1.83 ± 0.65
Enidae	*Brephulopsis cylindrica* (Menke, 1828)	St	Ks	MgTr	Ep	FF	A3	0.15 ± 0.15
Cochlicopidae	*Cochlicopa lubrica* (Müller, 1774)	Sil	Hg	MsTr	Ep	FF	A1	0.30 ± 0.22
Enidae	*Chondrula tridens* (O.F. Muller, 1774)	St	Ks	UMgTr	Ep	FF	A3	3.20 ± 0.79
Gastrodontidae	*Zonitoides nitidus* (O.F. Muller, 1774)	Pal	UHg	UMgTr	Ep	FF	A3	1.52 ± 0.52
Limacidae	*Limax sp.*	Sil	Hg	OlgTr	Ep	FF	B4	1.52 ± 0.68

Notes: coenomorphs: St – stepants, Pr – pratants, Pal – pallyudants, Sil – silvants; hygromorphs: Ks – xerophyllous, Ms – mesophyllous, Hg – hygrophyllous, UHg – ultrahygrophillous; coenotrophomophs: MsTr – mesotrophocoenomorphs; MgTr – megatrophocoenomorphs; UMgTr – ultramegatrophocoenomorphs; topomorphs: End – endogeic, Ep – epigeic, Anec – anecic; phoromorphs: A – move using the soil porosity; B – active burrowing; 1 – minimal size of animal body is less than soil pore size; 2 – animal body size commensurate with the soil pore size; 3 – animal body size larger than cavities in the litter or commensurate with the large gaps or cracks in the soil; 4 – moving with a change in body thickness; 5 – moving without changes of body thickness; 6 – digging holes with limbs; 7 – C-shaped body shape; trophomorphs: SF – saprophagous; FF – phytophagous; ZF – zoophagous.

In addition to the earthworms, the group of soil saprophages included the millipede *Megaphyllum rossicum* (0.91 ± 0.36 ind./m^2), the millipede of the family Polydesmidae – *Schizothuranius dmitriewi* (1.83 ± 0.30 ind./m^2) and the woodlouse *Trachelipus rathkii* (1.83 ± 0.65 ind./m^2).

Predatory centipedes were represented by *Geophilus proximus* (8.38 ± 1.44 ind./m^2), which moves within the system of soil holes and cracks. Predators are also represented by larvae of ground beetles, adult rove beetles *Staphylinus caesareus*, spiders and harvestmen.

The group of phytophages was diverse and represented by larvae of noctuid scoop (Noctuidae), beetles (*Melolontha melolontha* and *Rhizotrogus aestivus*), ground beetles, the longhorn beetle (*Dorcadion fulvum*) and molluscs (5 species).

The coenomorphic structure of the mesopedobiont community was constructed on the basis of pratants (68.6% in abundance). The proportions of stepants and silvants was almost equal (15.9% and 14.3%, respectively) (Fig. 1). Thus, the coenomorphic structure of the mesopedobiont community of the studied polygon can be described as meadow type with steppe and forest elements.

Among hygromorphs, mesophilous species dominated (60.0%), with slightly fewer hygrophilous invertebrates (20.5%). Both xerophyllous and ultragigrophyllous species were uncommon (9.5% and 10.0% respectively). The hygromorphic structure of the community may be assessed as mesophyllous. The community was dominated by mesotrophocoenomorphs (86.5%). In the topomorph structure endogeic and epigeic forms dominate (59.5% and 33.0% respectively). Anecic invertebrates were significantly less abundant (7.6%). Saprophagous invertebrates were the clear dominant in the trophic structure (76.5%). The proportion of zoophages was 11.9%, and that of herbivores was 11.6%.

Phoromorphs were dominated by animals which actively burrowg, moving by changing their body thickness (phoromorph B4 – 70.0%) and those which use the existing system of cavities and whose body size is larger than litter cavities or commensurate with large gaps or cracks in the soil (phoromorph A3 – 18.6%).

Edaphic characteristics can be considered as determinants of the ecological space of the mesopedobiont community (Table 2).

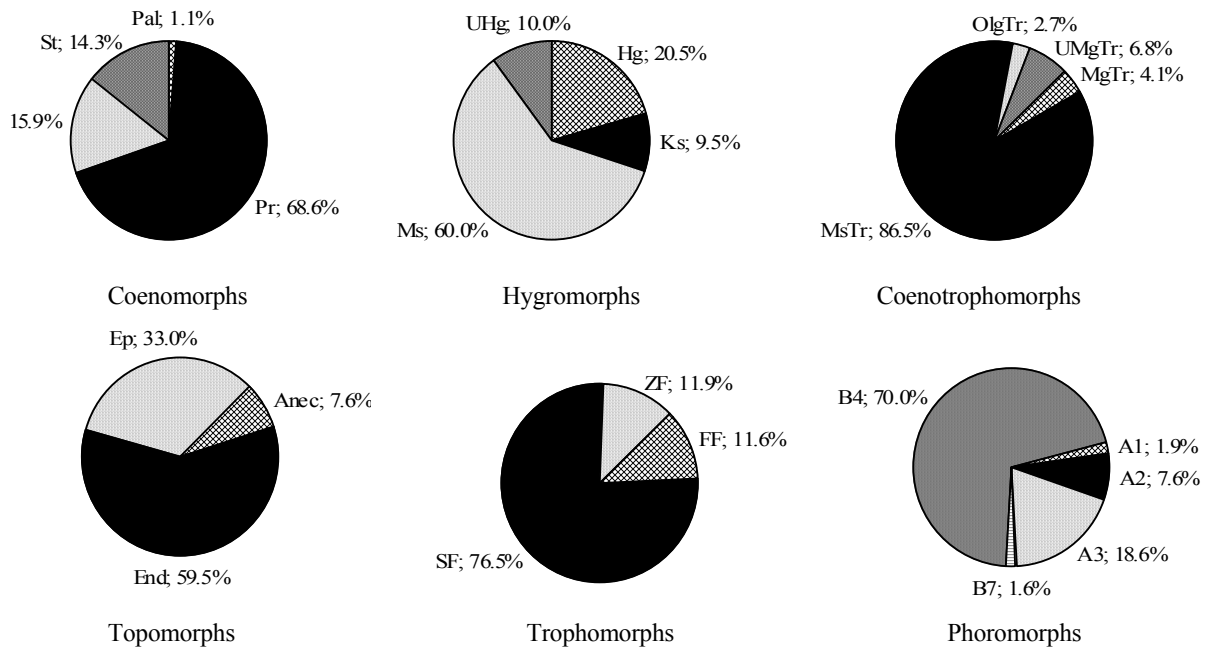


Fig. 1. Ecological structure of the mesopedobiont community: legend see Table 1

Table 2

Determinants of mesopedobiont community in ecological space

Environment parameters	Average	Confidence interval		CV, %	RLQ axes 1	RLQ axes 2
		– 95%	+ 95%			
Soil mechanical impedance on the depth, MPa						
0–5 cm	1.78	1.69	1.87	25.06	–0.53	0.10
5–10 cm	2.38	2.25	2.51	27.82	–0.80	–0.30
10–15 cm	3.05	2.88	3.21	27.66	–0.90	–0.46
15–20 cm	3.81	3.62	4.00	26.26	–0.86	–0.64
20–25 cm	4.24	4.04	4.45	25.42	–0.87	–0.69
25–30 cm	4.61	4.39	4.84	24.91	–0.86	–0.74
30–35 cm	4.75	4.50	4.99	26.54	–0.86	–0.75
35–40 cm	4.83	4.55	5.10	29.54	–0.84	–0.73
40–45 cm	4.92	4.62	5.22	31.47	–0.83	–0.73
45–50 cm	5.00	4.68	5.32	33.04	–0.82	–0.74
Physical properties, litter depth and grass height						
Electrical conductivity, dSm/cm	0.48	0.45	0.51	30.39	0.23	–0.15
Temperature of the soil layer 5–7 cm, °C, 10.06.2012	24.71	24.12	25.29	12.22	0.38	–0.36
Litter depth, cm	1.81	1.07	2.54	210.06	0.18	0.25
Grass height, cm	43.41	40.17	46.65	38.56	0.09	0.54

In the study polygon, the mechanical impedance of the soil was characterized by a monotonic increase with increasing depth. The upper soil layer's mechanical impedance was on average 1.78 MPa, and the bottom – 5.00 MPa. The average values of the soil mechanical impedance in the range of the studied polygon exceeded those critical for the growth of plant roots (3.0–3.5 MPa) starting from soil layers of 15–20 cm (Medvedev, 2009). This suggests a high structuring effect of spatial variability of mechanical impedance of the soil on the organization of the animal community. The coefficient of variation of soil mechanical impedance was characterized by the presence of two local maxima (at a depth of 10–20 and 45–50 cm) and local minima (0–5 and 30–35 cm).

The electrical conductivity of the soil was on average 0.48 dS/cm and characterized by a coefficient of variation of 30.4%. High concentrations of electrolytes begin to exert a negative impact on the vegetation with conductivity values of 1.5–2.0 dS/cm (Smagin et al., 2006). The observed values of the electrical conductivity were significantly lower than these values, indicating a lack of inhibitory effect of vegetation on soil solution, and probably on the animals.

The temperature of the soil layer of 5–7 cm during the study period was 24.7 °C with the coefficient of variation was 12.2%. The depth of plant litter within the area was 1.81 cm with a coefficient of variation of 210.1%. The high value of the coefficient of variation is due to the fact that in the 13 sample points there was no litter, and the maximum depth of the litter reached 20–22 cm.

The coefficient of variation for grass height was 38.6% with an average level of this indicator 43.4 cm.

Joint measurement of edaphic characteristics and features of the animal community structure allowed us to evaluate the properties of the ecological niches of the soil macrofauna (Table 3). The total inertia which can be calculated as a result of OMI-analysis is proportional to the average marginality of species and is a quantitative assessment of the impact of environmental factors on the separation of the species. The analysis found that the total inertia is 1.67. The first axis, resulting from OMI-analysis describes 52.5%, and the second – 19.0% inertia. The two first axes of the OMI analysis accounted for 71.5% of the marginality. As a sequence, the subsequent graph uses only these two axes. For average value of community marginality (OMI = 3.32) the significance level is P = 0.01, which indicates the importance of the selected environment variables for the structuring of the soil macrofauna community.

Table 3

OMI-analysis of the mesopedobiont community

Species	Acronym	Inertia	OMI	Tol	Rtol	*p*-level
Aporrectodea trapezoides	A_trapezoides	12.94	8.70	24.20	67.10	0,02
Aporrectodea rosea	A_rosea	14.64	31.70	28.70	39.50	0,05
Aranea sp.	Aranea	24.73	11.60	13.10	75.30	0,13
Bembidion sp.	Bembidion	11.86	30.60	15.00	54.40	0,21
Carabidae sp.	Carabidae	18.01	31.40	34.20	34.40	0,05
Chondrula tridens	Ch_tridens	14.48	18.60	36.50	44.90	0,04
Geophilus proximus	G_proximus	12.92	7.70	14.10	78.20	0,05
Lepidoptera sp.	Lepidoptera	12.61	11.70	24.60	63.70	0,38
Limax sp.	Limax	8.49	45.50	24.30	30.30	0,26
Lumbricus rubellus	L_rubellus	11.60	4.70	8.50	86.80	0,23
Megaphyllum rossicum	M_rossicum	9.66	42.00	21.40	36.70	0,16
Melolontha melolontha	M_melolontha	9.69	10.80	13.70	75.50	0,58
Octolasion lacteum	O_lacteum	9.77	42.40	22.90	34.80	0,05
Schizothuranius dmitriewi	Sch_dmitriewi	12.93	17.90	41.20	40.80	0,32
Trachelipus rathkii	T_rathkii	12.94	30.60	31.00	38.40	0,05
Zonitoides nitidus	Z_nitidus	14.02	21.50	13.10	65.40	0,15
Total OMI		–	2.88	–	–	0.01

Note: OMI – outlying mean index; Tol – the tolerance index, Rtol – residual tolerance index; indices represent the corresponding percentage of the variability; p-level – Monte Carlo test p-level after 999 permutation.

Marginality, which was significantly different from the random alternatives, was typical for 7 species of the 16 which were subject to OMI-analysis (Table 3). Thus, for a large number of species the typical edaphic conditions of the studied polygon do not coincide with the centroid of their ecological niche. Marginality of the niches indicates the degree of difference of optimum conditions for the species from conditions typical within a given habitat. Tolerance of niche is the inverse of specialization: the more tolerance, the less specialization. Residual tolerance indicates the role of random neutral factors and measurement errors. Species such as *Zonitoides nitidus*, *Megaphyllum rossicum*, *Octolasion lacteum* are characterized by high marginality and specialization (low tolerance). Thus, the studied habitat for these species is very extreme, and within this they occupy a very limited number of microstations. Species such as *Schizothuranius dmitriewi*, *Chondrula tridens* and *Trachelipus rathkii* are tolerant to the conditions within the habitat. Residual tolerance is large enough for a number of species (for *Lumbricus rubellus* is 86.8%, for *Geophilus proximus* is 78.2%), which suggests a significant role in structuring communities of soil factors of a neutral nature.

Configuration of the ecological niches of mesopedobionts is shown in Figure 2. Analysis of the data shown in Figure 2 indicates that a key aspect of the structuring of the ecological niche of soil animals is mechanical impedance in all soil layers of soil temperature (axis 1). Also, an important role is played by the electric conductivity of soil and herbage height (axis 2). The resulting visualization of the ecological niches of soil animals indicates that almost all niches are squeezed into the zone of lower soil mechanical impedance

at all depths. This indicates a significant environmental impact of soil mechanical impedance on mesopedobionts.

RLQ analysis results are shown in Table 2 and Figure 3. It was found that 91.1% of the total variation (total inertia) describe the first two RLQ axes (81.5% and 9.6% respectively). Randtest procedure confirmed the importance of RLQ-analysis of the results on the district level 0.002. RLQ axes are integral estimates of the relationship between environmental factors (in our case are edaphic characteristics, litter depth and height of the grass), the structure of the community and its ecomorphic organization. In one metric space we are able to display the community structure (location of the mesopedobiont species), sampling point (spatial component considering the fact that the coordinates of sampling points were recorded), the weight factors of the environment and animal weight ,ecomorphic soil characteristics (Fig. 3).

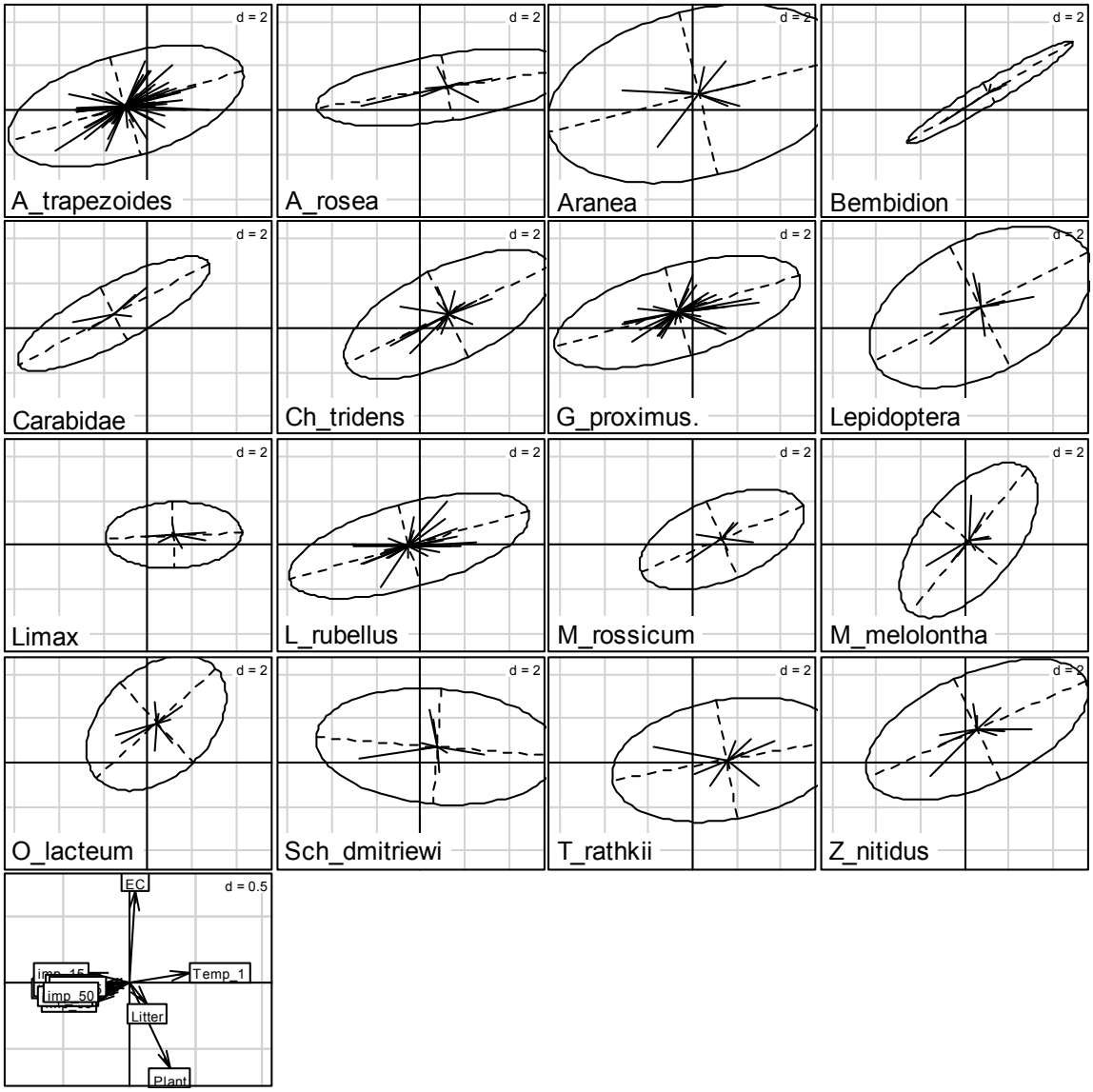


Fig. 2. Ecological niches of mesopedobionts:
coordinate axes are axes 1 and 2 obtained after OMI-analysis; origin – zero marginality; the ellipse represents the inertia of the ecological niche; rays associate centroid of the ecological niche with the meeting sites in the space of community marginality; in the lower right corner are normalized weights of environmental variables; abbreviation of the name of species – see Table 3

RLQ axes 1 and 2 have been found to be determined by the variability of the soil mechanical impedance. A feature of the axis 1 is the synchronous nature of the impact, starting at a depth of 10–15 cm. For axis 2 is characterized by the growth of the impact with the depth and the maximum level of determination of soil mechanical impedance from a depth of 25–30 cm. An important marker of axis 1 is the temperature of the soil, and axis 2 is the height of grass.

RLQ-analysis allows us to classify the animals by the nature of their ecological structure and due to environmental factors. Cluster analysis allowed us to identify four complexes of species which form functional groups A, B, C and D (Fig. 4). The location of these functional groups in the space of RLQ–axes is shown in Figure 5. All functional groups are located mainly in the field of positive values of the axis 1, which corresponds to areas with lower soil mechanical impedance.

Centroids of functional groups A and B are the closest to the origin, which indicates that the representatives of these groups occupy the most common sites for the polygon. The functional group A is represented by the endogeic earthworms, which due to its capacity for active burrowing is less

sensitive than other groups to the limiting effect of the soil mechanical impedance. The ecological characteristics of this group is that it belongs to the endogeic mesophyllous, mesotrophocoenomorph, phoromorph B4 categories.

The most extreme position along the RLQ 1 axis is occupied by representatives of functional group D, which consists of epigeic molluscs. Probably among of the complex factors that characterize RLQ 1 axis litter depth is the most important for positioning of the group D. The ecological markers of the positive value of axis 1 are the diverse collection of environmental characteristics of soil animals, some of which are an opposite in nature. For example, it is a combination of the ecologically opposite ultrahygrophyllous and xerophyllous or combination of the silvants and stepants. Obviously, this fact suggests that hygromorphs and coenomorphs are not important aspects in the creation of the structural units of the animal community, shown in the axis 1. The variability of axis 1 is important for topomorphs (close connection with the litter layer) and trophomorphs (high proportion of herbivores).

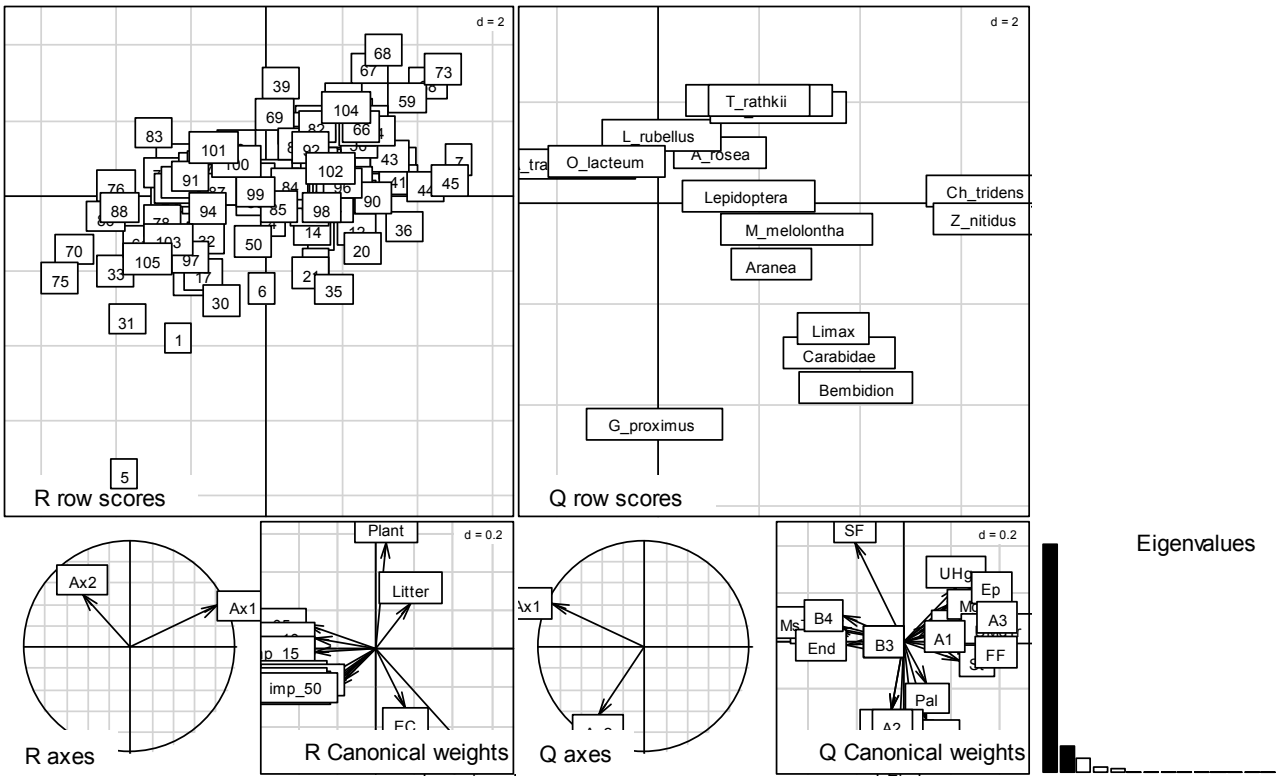


Fig. 3. The results of RLQ analysis: the axis of abscissa is RLQ-1 axis, the axis of ordinate is RLQ-2 axis, A are the weights of the sampling points (R-matrix) in the space constructed from RLQ-axes; B are the weights of the species in the space constructed from RLQ-axes (Q-matrix); C is the correlation principal component 1 and 2, based on factor analysis of environment variables with RLQ–axes; D is the correlation of environment variables with RLQ-axes; E is the correlation of the principal components 1 and 2 obtained by factor analysis of the ecomorphs with RLQ-axes; F is the correlation of the ecomorphs with RLQ-axes; G is a histogram of the eigenvalues

The ecological specificity of the functional groups B and C is determined by their opposite positions along the axis 2. The group B is characterized by the predominance of saprophages, and the group C is characterized by the predominance of zoophages. The functional group B has been found to respond positively to the height of the grass and depth of the litter, but negatively to the soil mechanical impedance. The soil mechanical impedance can be seen not only as a factor that restricts the movement of animals in the soil, but also as an indicator of the ability to move and burrow in the soil system, if already set up. In this context, it can be considered that there is a positive relationship between the soil mechanical impedance and the functional group C.

Spatial distribution of the RLQ-axis values is shown in Figure 6. The variation RLQ-1 axis linear trend describes only 7.7% of the variance, while in the regression model, which acts as a predictor of geographical coordinates, is valid only the y-axis. Linear trend RLQ-axis 2 describes 10.3% of the variance. Thus, for both axes linear trend is not a key feature of the spatial organization of the community of soil macrofauna.

The figures which reflect the spatial variability of the RLQ axis 1 and axis 2 show typical areas with high and low values of the axes which have an irregularoval (amoeboid) form. Analysis of the data presented earlier indicates that spatial patterns induced by factors connected with RLQ axis 1 are most closely associated with the heterogeneity of soil conditions within the polygon, as a marker of that axis is the soil mechanical impedance throughout the soil profile, within which the measurements were taken. Probably related to this is the great contrast and tortuous nature of the structural boundaries corresponding to spots of spatial pattern. RLQ axis 2 is also marked by soil mechanical impedance, but another important marker is the height of the grass. It can

be assumed that in the case of RLQ axis 2, the soil mechanical impedance is no longer a cause of variability of environmental conditions but this soil property may be considered as a consequence of the spatial organization of plant cover. It is known that vegetation is a significant modulator of many soil properties and soil mechanical impedance (Medvedev, 2008). Thus, we can conclude that the RLQ-1 axis, showing the relationship of soil conditions and environmental properties with the animal community, is caused by pedogenic factors. In turn, RLQ-2 axis reflects the convening role of phytogenic factors , which their effects on soil mesopedobionts are also refracted through the transformation of soil conditions.

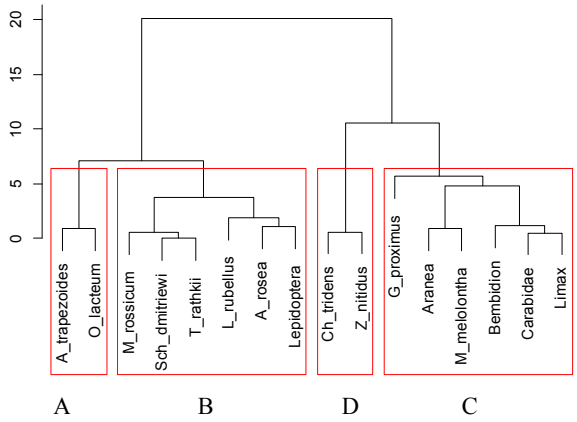


Fig. 4. Cluster analysis of the mesopedobiont community structure

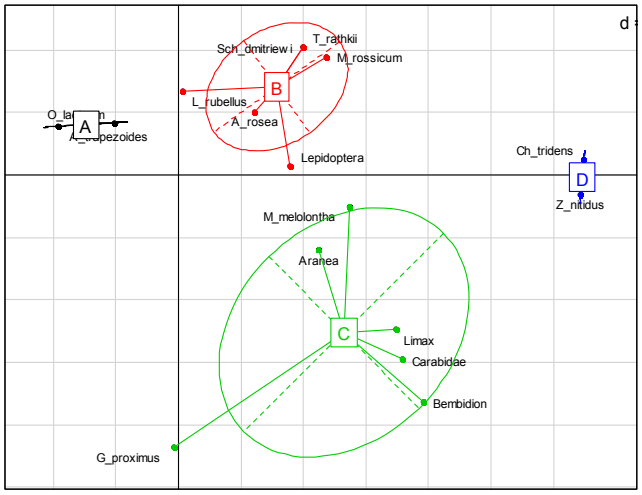


Fig. 5. An arrangement of functional groups in the RLQ-axes space

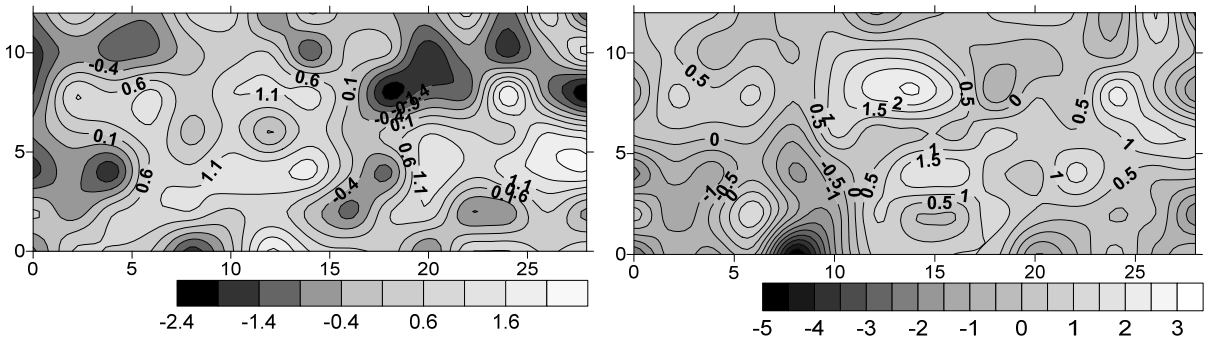


Fig. 6. Spatial variability of RLQ-axes

Discussion

It is possible to apply morphological or physiological characteristics of animals in order to assess the degree of species differences applicable to homogeneous taxonomic or ecological groups with comparable characteristics, which can also be interpreted ecologically. Soil macrofauna presents a high degree of the taxonomic and ecological diversity of forms, which are difficult to compare on the basis of the morphological or physiological criteria. Ecological saturation of the characteristics in different groups will not be the same. The basis for comparison would be uneven. Therefore, to describe the ecological properties of mesopedobionts we use ecomorphic analysis of soil animals (Zhukov, 2009).

Pokarzhevskiy et al. (2007) consider community organization of the soil animals at the levels of investigated point, biogeocenosis, landscape and regional level. An ecomorph

may be considered as an ecological group. In order to assess a species as belonging to a particular ecomorph, the distribution of the species in ecological space at the landscape level has to be studied. A different direction of ecomorph selection at the landscape level conventionally considered to be independent and forming the ecological matrix (in multidimensional space) is the multidimensional matrix, or tensor (Zhukov, 2010). At the level of the biogeocoenosis the degree of the different ecomorphs correlativity is likely to be higher, so the soil animals will form local, but functionally significant, groupings. The regular ecomorph ratio in these functional groups will be a reflection of their organizational structure and ecological diversity.

Our results indicate that the mechanical impedance of the soil is an important factor that structures the ecological niches of soil animals. It should be noted that variations in the soil mechanical impedance influence not only quantitative changes of the animal community of soil and vegetation (Zhukov and Zadorozhnaya, 2016), but also qualitative adjustments in the structure of the biotic communities. We received evidence that quantitative adjustments of the mesopedobiont community are accompanied by a transformation of the functional structure, which leads to the formation of spatially and functionally isolated groups of soil animals.

It is important to note the fact that the functional groups identified in ecological space by means of RLQ-analysis demonstrate regular patterns of spatial variability. Local functional groups are characterized by ecological characteristics, which may by presented in terms of ecomorphs. Functional group A can be described as a complex of endogeic mesophyllous, mesotrophoceonomorphs, phoromorphs of the type B4. This group is the least affected of all the established groups by high values of soil mechanical impedance due to the ability of its representatives to burrow actively. The representatives of the functional group D are characterized by opposite functional properties. Functional group D is presented by epigeic and phytophagous forms, which determines the sensitivity of this functional group to the litter depth. The functional groups B and C may be differentiated on the basis of trophic specialization. Functional group B is characterized by the predominance of saprophages. Functional group C is characterized by the predominance of zoophages. Functional group B tends to inhabit microstations with greater litter depth and lower soil mechanical impedance value. Functional group C tends inhabit to microstations with greater soil mechanical impedance value, which may be due to the greater safety of the soil system moves in such conditions.

Conclusions

The community of the urbotechnozem mesopedobionts was represented by 28 species with density of 70.1 ± 15.7 ind./m^2. The dominant group of soil animals was earthworms, which were represented by 4 species. In the structure of the community earthworms made up 61.6% of the total population. Coenomorphic features of the animal community within studied polygon can be characterized as a meadow type with the steppe and forest elements. The community was dominated by mesophyllous, mesotrophocoenomorph, endogeic, saprophages, and also animals which actively burrow by changing body shape.

The community of urbotechnozem mesopedobionts was structured within the polygon in spatial and ecological aspects. The main animal community structuring factor was the mechanical impedance of the soil. Quantitative changes in community abundance as a reaction to variation of mechanical impedance of the soil in horizon and vertical directions was accompanied by transformation in the functional structure of the community. This transformation may be detected in terms of ecomorphs. Spatial variation of the community's functional structure generates regular spatial patterns.

References

Andrisevich, K.V., Zhukov, A.V., Kunah, O.N., 2014. Ecomorphic organisation of the mesopedobionts community as the basis of the anthropogenic soils zoological diagnostic. The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University 22, 89–97.

Angermeier, P.L., 1998. Local vs regional influences on local diversity in stream fish community of Virginia. Ecology 79, 911–927.

Austen, D.J., Bayley, P.B., Menzel, B.W., 1994. Importance of the guild concept to fisheries research and management. Fisheries 19, 12–20.

Baljuk, J.A., Kunah, O.N., Zhukov, A.V., Zadorozhnaja, G.A., Ganzha, D.S., 2014. Sampling adaptive strategy and spatial organisation estimation of soil animal communities at various hierarchical levels of urbanised territories. Biol. Bull. 4(3), 8–33.

Belgard, A.L., 1950. Forest vegetation of South-Eeast part of the USSR. Kiev University Press, Kiev (in Russian).

Bernhardt-Romermann, M., Romermann, C., Nuske, R., Parth, A., Klotz, S., Schmidt, W., Stadler, J., 2008. On the identification of the most suitable traits for plant functional trait analyses. Oikos 117, 1533–1541.

Brind'amour, A., Boisclair, D., Legendre, P., Borcard, D., 2005. Multiscale spatial distribution of a littoral fish community in relation to environmental variables. Limnol. Oceanogr. 50(2), 465–479.

Brind'Amour, A., Boisclair, D., Dray, S., Legendre, P., 2011. Relationships between species feeding traits and environmental conditions in fish communities: A three-matrix. Ecol. Appl. 21(2), 363–377.

Brygadyrenko, V.V., 2015. Community structure of litter invertebrates of forest belt ecosystems in the Ukrainian steppe zone. Int. J. Environ. Res. 9(4), 1183–1192.

Brygadyrenko, V.V., Komarov, O.S., 2008. Trofichna struktura pidstylkovoji mezofauny: Rozpodil biomasy za trofichnymy rivniamy [Trophic structure of litter mesofauna: Biomass differentiation between trophic levels]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 16(2), 12–23 (in Ukrainian).

Calinski, T., Harabasz, J., 1974. A dendrite method for cluster analysis. Commun. Stat. 3, 1–27.

Demidov, A.A., Kobets, A.S., Gritsan, Y.I., Zhukov, A.V., 2013. Spatial agricultural ecology and soil recultivation. A.L. Svidler Press, Dnepropetrovsk.

Doledec, S., Chessel, D., Ter Braak, C.J.F., Champely, S., 1996 Matching species traits to environmental variables: A new three-table ordination method. Environ. Ecol. Stat. 3, 143–166.

Dray, S., Pettorelli, N., Chessel, D., 2002. Matching data sets from two different spatial samples. J. Veg. Sci. 13, 867–874.

Faly, L.I., Brygadyrenko, V.V., 2014. Patterns in the horizontal structure of litter invertebrate communities in windbreak plantations in the steppe zone of the Ukraine. J. Plant Prot. Res. 54(4), 414–420.

Gilarov, M.S., 1965. Zoological methods of the soils diagnostic. Nauka, Moscow (in Russian).
Kabar, A.N., 2003. Biological and ecological features of soil cover in Botanical garden of Dnepropetrovsk State University (formation, development, sustainable use). Dnepropetrovsk (in Russian).
Karpachevsky, L.O., 2005. Ecological soil science. Geos, Moscow.
Kunah, O.N., Zhukov, O.V., Balik, Y.A., 2013. Ecomorphic and spatial organization of mesopedobions of the forest park planting within Dnipropetrovsk. Problems of the Ecology and Nature Protection of the Technogenic Region 13, 106–121 (in Russian).
Kunah, O.N., Zhukov, A.V., Balyuk, Y.A., 2013. Prostranstvennaya organizatsiya soobschestva mezopedobiontov urbotehnozema [The spatial organization of the urbotechnozem mesopedobionts]. Gruntoznavstvo 14(3), 76–97 (in Russian).
Kunah, O.N., Zhukov, A.V., Balyuk, Y.A., 2013. Prostranstvennoe varirovanie ekomorficheskoy strukturyi pochvennoy mezofaunyi urbazema [The spatial variation of soil mesofauna ecomorphic structure in urbazem]. Scientific Notes of Taurida National V.I. Vernadsky University. Series Biology and Chemistry 65, 107–126 (in Russian).
McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. Trends Ecol. Evol. 21(4), 178–184.
Medvedev, V.V., 2009. Tverdost pochvyi [Soil penetration resistance]. Gorodskaya Tipografiya, Kharkov (in Russian).
Minden, V., Andratschke, S., Spalke, J., Timmermann, H., Kleyer, M., 2012. Plant-trait environment relationships in salt marshes: Deviations from predictions by ecological concepts. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 14, 183–192.
Mirzak, O.V., 2001. Experience of the investigation of the great industrials centers of the steppe zone of the Ukraine (city Dnipropetrovsk as example). Gruntosnavstvo 1, 87–92 (in Russian).
Mouillot, D., Spatharis, S., Reizopoulou, S., Laugier, T., Sabetta, L., Basset, A., Do Chi, T., 2006. Alternatives to taxonomic-based approaches to assess changes in transitional water. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosys. 16, 469–482.
Olden, J.D., Jackson, D.A., 2002. A comparison of statistical approaches for modelling fish species distributions. Freshwater Biol. 47, 1976–1995.
Pakhomov, A.E., Kunakh, O.M., Zhukov, A.V., Baliuk, Y.A., 2013. Spatial organisation of an ecological niche of the urbozem mesofauna. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 21(1), 51–57 (in Russian).
Pokarzhevskiy, A.D., Gongalskiy, K.B., Zaycev, A.S., Savin, F.A., 2007. Spatial ecology of soil animals. KMK Scientific Press, Moscow (in Russian).
Santoul, F., Cayrou, J., Mastrorillo, S., Cereghino, R., 2005. Spatial patterns of the biological traits of freshwater fish communities in south-west France. J. Fish Biol. 66, 301–314.
Scoggins, H.L., van Iersel, M.W., 2006. *In situ* probes for measurement of EC of soilless substrates: Effects of temperature and substrate moisture content. HortScience 41, 210–214.
Shemavnev, V.I., Gordienko, N.A., Dirda, V.I., Zabaluev, V.A., 2005. The stable development of the complicated ecotechnosystems. Novaya Ideologia, Moscow, Dnipropetrovsk.
Smagin, A.V., Azovtseva, N.A., Smagina, M.V., Stepanov, A.L., Miagkova, A.D., Kurbatova, A.S., 2006. Some criteria and estimation methods of soil ecological conditions regards to greenery of urban areas. Soil Sciences 5, 603–615 (in Russian).
Tarasov, V.V., 2005. Flora Dnipropetrovs'koyi i Zaporiz'koyi oblastey [Dnipropetrovsk an Zaporozhie regions flora]. Dnipropetrovsk University Press, Dnipropetrovsk (in Ukranian).
Tarasov, V.V., 2012. Flora Dnipropetrovs'koyi i Zaporiz'koyi oblastey [Dnipropetrovsk an Zaporozhie regions flora]. Second ed. Lira, Dnipropetrovsk (in Ukranian).
Thuiller, W., Lavorel, S., Midgley, G., Lavergne, S., Rebelo, T., 2004. Relating plant traits and species distributions along bioclimatic gradients for *Leucadendron* taxa. Ecology 85, 1688–1699.
Tonn, W.M., Magnuson, J.J., Rask, M., Toivonen, J., 1990. Intercontinental comparison of small-lake fish assemblages: The balance between local and regional processes. Am. Nat. 136, 345–375.
Zadorozhna, G.O., Kunah, O.N., Zhukov, O.V., 2012. The spatial organization of soddy-lithogenic soils on the redbrown clays. Problems of the Ecology and Nature Protection of the Technogenic Region 12, 226–237.
Zhukov, A.V., Zadorozhnaya, G.O., 2013. Spatial variability of pedozems mechanical impedance. Biol. Bull. 1(7), 34–49.
Zhukov, A.V., 2006. Hygromorphes of the soil animals and their purpose for hygrtopes assessment. Problems of the Ecology and Nature Conservation of the Technogenic Region 6, 113–130.
Zhukov, A.V., 2007. Soil animal trophocoenomorphes and their diagnostic importance for gygrotops indicating. Visnyk of Donetsk University. Natural Science 277–291 (in Russian).
Zhukov, A.V., 2010. Belgard – Akimov's ecomorphes and ecological matrix. Ecology and Noospherology 21, 109–111.
Zhukov, A.V., Kunah, O.N., Konovalova, T.M., 2013. Spatial distribution of mole rat (*Spalax microphthalmus*) mounds and soil penetration resistance. Povolzhskiy Journal of Ecology 1, 3–15.
Zhukov, A.V., Kunah, O.N., Prokopenko, E.V., Konovalova, T.M., 2011. The pedoturbation activity of the mole rats (*Spalax microphthalmus*) as a factor of the spatial organization of the spider (Aranei). News of Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University 6, 28–35.
Zhukov, A., Zadorozhnaya, G. 2016. Spatial heterogeneity of mechanical impedance of a typical chernozem: The ecological approach. Ekológia (Bratislava), 263–278.
Zhukov, O.V., 2006. The ecomorphic analysis of the soil animals consortia. Svidler Press, Dnipropetrovsk.
Zhukov, O.V., Kunah, O.M., Baluk, Y.O., 2014. Spatial variation of the ecomorphic structure of the soil mesofauna of the forest park planting (park within Dnipropetrovsk as example). Bulletin of L'viv University. Biological Issue 65, 224–237.
Zobel, M., 1997. The relative role of species pools in determining plant species richness: Alternative esplanation of species coexistence? Trends Ecol. Evol. 12, 266–269.

Надійшла до редколегії 11.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 484–488.

doi:10.15421/011665

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 636.13.088:612.11

Вплив фізичного та емоційного навантаження на метаболічний профіль сироватки крові спортивних коней

Т.І. Баєва, Г.Ф. Жегунов

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Наведено результати дослідження показників метаболічного профілю сироватки крові 12 спортивних коней української верхової породи в умовах фізичного та емоційного навантаження. Тварини належали до навчальної групи, тобто не мали вузькоспеціалізованого спортивного застосування, лише періодично брали участь у показових виступах і, в основному, використовувалися для підготовки початківців-вершників та спортсменів різного рівня. У сироватці крові коней визначено загальний білок, сечовину, креатинін, сечову кислоту, загальний білірубін та його фракції, глюкозу, холестерол, триацилгліцероли, загальний кальцій, ферум, лактат, піруват, активність АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЛДГ, лужної фосфатази (ЛФ), що дає можливість об'єктивізувати адаптаційний потенціал коня за різних механізмів дії стресових факторів. Під час тренувальних та психоемоційних навантажень у спортивних коней навчальної групи спостерігаються різноспрямовані зміни біохімічних показників сироватки крові. Концентрація біомаркера оксидативного стресу – сечової кислоти збільшилась за фізичного напруження на 8,6%, а за емоційного навантаження на 55,1%, що свідчить про негативний ефект останнього та про недостатню адаптованість коней до показових виступів. За фізичного навантаження посилювалась реакція переамінування у клітинах печінки коней, за емоційного стресу її інтенсивність знизилась, що відповідає змінам показників обміну білків. Активність АсАТ у сироватці крові тварин перевищила верхню межу норми, що збігається з підвищенням концентрації креатиніну та лактату, показник посилення катаболічних процесів у м'язах за фізичного навантаження. Тільки за емоційного напруження в коней спостерігали гіперглікемію та незначну гіпербілірубінемію за рахунок спазму жовчовідвідних шляхів, який мав тимчасовий характер на тлі відсутності значних змін активності лужної фосфатази та ГГТП. За фізичного навантаження зріс рівень лактату (на 185,7%), активність ЛДГ (на 76,2%), концентрація холестеролу (на 76,2%), триацилгліцеролів (на 140,9%) – індикатор посилення анаеробного гліколізу та ліполізу. Отже, емоційне напруження – сильніший стрес-фактор, ніж фізичне навантаження. Воно викликає негативні зміни показників метаболічного профілю коней навчальної групи. Це необхідно враховувати під час тренувань і показових виступів, щоб максимально сприяти адаптації коней до будь-яких навантажень і тим самим забезпечити можливість адекватно та своєчасно корегувати фізіологічний стан тварин.

Ключові слова: біохімічні показники; фізичне тренування; тренінг; емоційний стрес

Influence of physical and emotional activity on the metabolic profile of blood serum of race horses

T.I. Bayeva, G.F. Zhegunov

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkov, Ukraine

In the article data are presented on dynamics of the level of indicators of metabolic profile of blood serum of race horses of the Ukrainian riding breed in the conditions of physical and emotional loading. Clinically healthy race horses were the object of research. Blood was taken from the jugular vein to obtain serum and for further biochemical research. For the research 12 race horses from a training group were chosen. From time to time the animals took part in competitions; they were not specially used in races and were mostly used for the training of junior riders and sportsmen of different levels. Blood was taken in conditions of relative rest after ordinary training and after emotional stress during the entertainment performances when a large number of people were present and loud music was played. In the blood serum the following biochemical indicators were defined: whole protein, urea, creatinine, uric acid, total bilirubin and its fractions, glucose, cholestererol, triacylglycerol, calcium, ferrum, lactate, pyruvate, activity of the AlAT, SGOT, GGTP, LDH, an alkaline phosphatase – which makes it possible to determine reasonably accurately the adaptation potential of a horse under various types of loading. We established that

Харківська державна зооветеринарна академія, смт Мала Данилівка, 62341, Дергачівський р-н, Харківська обл., Україна
Kharkiv state zooveterinary academy, village Mala Danilovka, 62341, Dergachi district, Kharkiv region, Ukraine
Tel. +38-063-67-23-579. E-mail: tendalsi@mail.ru

during training and psychoemotional loading of racing horses of the training group of the Ukrainian riding breed, multidirectional changes in the level of biochemical indicators of blood serum occurred, which is evidence of stress in the metabolic processes in the animals' organisms. Concentration of a biomarker of an oxidative stress, uric acid, increased after physical loading by 8.6%, and after emotional loading by 55.1%, which demonstrates that emotional stress had the more negative effect, indicating insufficient adaptation by the horses before demonstration performances. After physical loading, reaction of transamination in the horses' liver cells intensified, and after emotional loading its intensity decreased, which conforms to changes of indicators in exchange of proteins. SGOT activity in the animals' blood serum exceeded the upper rate of norm, it coincides also with rising of concentration of creatinine and sodium lactatum, and is an indicator of intensification of catabolic processes in the muscles after physical loading. Only after emotional loading, did hyperglycemia and hyperbilirubinemia occur because of a temporal spasm in the cholic paths without changes in the activity of the alkaline phosphatase and GGTP. After physical loading the level of lactatum increased (by 185.7%), activity of LDH (by 76.2%), concentration of cholesterol (by 76.2%), triacylglycerol (by 140.9%), which is an indicator of intensification of anaerobic glycolysis and lipolysis. Emotional loading is the stronger stress factor which causes negative changes in indicators of the metabolic profile. Trainers should take this into account during the training and testing of horses in order to facilitate their adaptation to the influence of various stress factors, to correct the animals' physiological state and thus enable them to cope with intensive loading without threat to their health.

Keywords: biochemical indicators; physical loading; emotional loading; training; stress

Вступ

У спортивному конярстві особлива увага приділяється стану здоров'я тварин, їх здатності відновлювати сили після фізичного та емоційного навантаження (Aoi et al., 2004; Butler et al., 1993; Evans, 2007; Fazio et al., 2007). Тому під час підготовки коней до змагань необхідно проводити комплексне клінічне обстеження тварин для попередження та виявлення ранніх ознак їх перетренованості та перевтоми (Escribano et al., 2011; Cywińska et al., 2012). Важливе завдання – оцінка фізіолого-біохімічного статусу спортивних коней за показниками крові залежно від їх функціонального стану під час тренінгу та виступів (Lindner et al., 2009; Lawan et al., 2010; Aoki et Ishii, 2012). Біохімічні методи, які дозволяють оперативно оцінити фізіологічний стан спортивного коня, вигідно відрізняються від інших діагностичних методів високою чутливістю (Anderson, 1975).

Мета цього дослідження – встановити показники метаболічного профілю сироватки крові спортивних коней навчальної групи української верхової породи за фізичного та емоційного навантаження під час тренування та розважально-показового виступу, оцінити загальний стан здоров'я та ступінь їх тренованості на основі методів біохімічного аналізу.

Матеріал і методи досліджень

Із загальної кількості обстежених 57 спортивних коней української верхової породи відібрано 12 тварин, які не мають вузькоспеціалізованого спортивного застосування, періодично беруть участь у показових виступах, а в основному, використовуються для підготовки початківців-вершників і спортсменів різного рівня. Всі коні клінічно здорові. У тварин відбирали кров з яремної вени для отримання сироватки та подальшого біохімічного дослідження. Кров брали у стані відносного спокою відразу після фізичного навантаження (тренування) та відразу після емоційного навантаження (стресу) під час розважально-показового виступу за участю великої кількості людей і впливу гучної музики.

У сироватці крові визначали такі біохімічні показники: загальний білок, сечовину, креатинін, сечову кислоту, загальний білірубін та його фракції, глюкозу, холестерол, триацилгліцероли, загальний кальцій, ферум, лактат, піруват, активність АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЛДГ, лужної фосфатази (ЛФ). Визначення біохімічних показників проводились згідно іззагальноприйнятими методами.

Розрахунки отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері за допомогою статистичної програми Statistica 7.0 (StatSoft Inc., USA) з визначенням середньоарифметичного (M), помилки середньої (m), лімітів (Lim) і довірчих інтервалів (ДІ) для P = 0,05. Метод статистичного порівняння вибірок – дисперсійний аналіз для залежних вибірок (Friedman ANOVA), достовірними вважали відмінності за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Динаміка рівня біохімічних показників у сироватці крові спортивних коней навчальної групи за різних варіантів навантаження наведена в таблицях 1–4. Після фізичного навантаження (табл. 1) спостерігали вірогідне збільшення вмісту загального білка в сироватці крові коней (на 23,5%, $P < 0,01$), у той час як за емоційного навантаження вміст білка знижувався (на 15,6%, $P < 0,01$). Така різноспрямована динаміка вмісту загального білка свідчить, що обидва варіанти навантаження порізному впливають на стан білкового обміну, обидва – стресові фактори для тварин, які раніше не зазнавали впливу таких варіантів навантаження. Це підтверджується змінами вмісту сечовини – кінцевого метаболіту білкового обміну. За фізичного навантаження її концентрація збільшилась (на 28,6%, $P < 0,001$), а за емоційного стрессу – навпаки, знизилась (на 27,3%, $P < 0,001$). Отже, обидва стресові фактори значно вплинули на білковий обмін коней навчальної групи.

Рівень креатиніну також зріс за фізичного напруження з великим ступенем достовірності (на 29,9%, $P < 0,001$), що, скоріше за все, зумовлено значним навантаженням на м'язову систему тварин. За емоційного стресу вміст креатиніну знизився тільки на 7,1%, проте це зниження було достовірним ($P < 0,01$). На відміну від цих двох показників, вміст сечової кислоти, яка теж є компонентом системи залишкового азоту, за обох варіантів навантаження зріс за фізичного напруження на 8,6%, а за емоційного навантаження – на 55,1% ($P < 0,01$). Оскільки сечова кислота – кінцевий метаболіт обміну пуринів – сильніший прооксидант, ніж антиоксидант за фізичного навантаження коней, її вважають біомаркером оксидативного стресу, який має серйозні наслідки для здоров'я коней (Adamu et al., 2012a). Такі

зміни її рівня – показник катаболічної спрямованості метаболічних процесів за дії обох стресових факторів. Більш патогенний вплив на тварин учинив саме емоційний стрес, бо коні навчальної групи не адаптовані до таких випробувань, якими виявилися для них значна кількість людей, гучна музика та нервова атмосфера.

Активність АлАТ і АсАТ за фізичного навантаження (табл. 2) достовірно збільшується майже однаковою мірою (на 19,3% та 18,6% відповідно, P < 0,01). За емоційного стресу, навпаки, активність АлАТ знижується (на 19,9%, P < 0,001), а АсАТ – не змінюється. Таким чином, за фізичного навантаження спостерігається збільшення інтенсивності реакції переамінування у клітинах печінки, оскільки вищезгадані показники не перевищують референтні норми, у той час як за емоційного стресу інтенсивність реакції переамінування знижується, що відповідає змінам показників обміну білків (табл. 1). Активність АсАТ за фізичного навантаження перевищує верхню межу норми у деяких тварин, що збігається з підвищенням концентрації креатинину та є показником посилення катаболічних процесів у м'язах. За емоційного стресу цього не відбувалось.

Таблиця 1

Показники обміну білків у сироватці крові спортивних коней навчальної групи у стані відносного спокою, за фізичного та емоційного навантаження (n = 12)

Біохімічні показники	Відносний спокій		За фізичного навантаження		За емоційного навантаження	
	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)
Загальний білок, г/л	62,0 ± 1,18	53,8–67,2	76,6 ± 0,76**	72,2–80,3	52,3 ± 0,85**	48,4–55,8
Сечовина, ммоль/л	7,7 ± 0,10	7,2–8,2	9,9 ± 0,10***	9,4–10,5	5,6 ± 0,12***	5,0–6,3
Креатинін, мкмоль/л	119,4 ± 0,77	115,4–123,9	144,3 ± 2,78***	130,2–156,9	110,9 ±1,72**	101,3–119,1
Сечова кислота, мкмоль/л	36,1 ± 0,87	32,5–40,2	39,2 ± 1,78**	32,6–56,2	56,0 ± 4,00**	30,8–72,3

Примітки: * – P < 0,05, ** – P < 0,01, *** – P < 0,001 щодо стану відносного спокою; метод дисперсійного аналізу для залежних вибірок (Friedman ANOVA).

Таблиця 2

Активність ферментів у сироватці крові спортивних коней навчальної групи у стані відносного спокою, за фізичного та емоційного навантаження (n = 12)

Біохімічні показники	Відносний спокій		За фізичного навантаження		За емоційного навантаження	
	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)
Білірубін загальний, мкмоль/л	18,9 ± 1,64	10,2–25,0	12,8 ± 0,39**	10,4–15,1	22,5 ± 1,44	15,3–30,4
Білірубін прямий, мкмоль/л	6,8 ± 0,67	4,1–10,3	5,0 ± 0,28	3,0–6,2	11,3 ± 1,13*	6,1–20,8
Білірубін непрямий, мкмоль/л	12,1 ± 1,22	6,0–18,5	7,8 ± 0,49	4,9–10,3	11,2 ± 0,97	7,2–19,7
АлАТ, од./л	17,1 ± 0,43	14,8–19,6	20,4 ± 0,60**	17,4–23,8	13,7 ± 0,19***	12,9–14,9
АсАТ, од./л	309,3 ± 7,55	274,2–344,8	366,9 ± 10,27**	308,4–400,2	322,1 ± 8,04	279,6–361,8
ЛФ, од./л	189,2 ± 9,80	145,6–236,3	197,7 ± 5,07	158,6–215,1	200,4 ± 5,31	175,6–229,6
ГГТП, од./л	51,4 ± 0,64	48,6–56,6	54,9 ± 0,95*	49,8–59,9	43,7 ± 0,71***	39,9–47,8

Примітки: див. табл. 1.

Концентрація загального білірубіну за фізичного навантаження знизилась на 32,3% (P < 0,01), головним чином, за рахунок непрямого білірубіну. А за емоційного стресу була тенденція до зростання концентрації загального білірубіну за рахунок прямої його фракції (на 66,2%, P < 0,05), скоріше за все, за рахунок спазму жовчовідвідних ходів, чого не відбувалось за фізичного навантаження. Слід зазначити, що активність ЛФ, яка зазвичай зростає за значного холестазу, достовірно не відрізнялась за дії обох стрес-факторів від стану спокою коней. Тобто незначне збільшення прямого білірубіну за емоційного стресу мало тимчасовий характер. Щоб упевнитись у цьому, ми дослідили активність ГГТП – ферменту, який відображає стан внутрішньопечінкових жовчних проток, на відміну від ЛФ, яка, як уважають, віддзеркалює стан зовнішніх жовчних проток. Виявилось, що за фізичного напруження активність цього ферменту зросла на 6,8% (P < 0,05), що збігається зі зростанням активності обох трансаміназ. ГГТП вважається одним із найчутливіших показників стану печінки. Отже, внаслідок фізичного навантаження печінка коней реагувала незначним зростанням активності цього індикаторного ферменту. За емоційного стресу спостерігаються протилежні зміни його рівня – показник зменшився на 15,0% (P < 0,001). Таким чином, за дії емоційного стресу відбуваються незначні зміни функціонального стану печінки коней.

Концентрація глюкози у сироватці крові коней навчальної групи за фізичного навантаження (табл. 3) не виходить за межі референтної норми, у той час як за емоційного стресу рівень глюкози збільшується на 13,0% (P < 0,001). Така гіперглікемія типова для емоційного навантаження.

Аналіз системи лактат-піруват-ЛДГ показав, що за обох видів навантаження зростала концентрація лактату (P < 0,001): за фізичного – на 185,7%, за емоційного – на 50,0%. Таке значне зростання лактату за фізичного навантаження – показник посилення анаеробного гліколізу; це збігається з динамікою креатиніну та АсАТ. Скоріше за все, фізичне навантаження перевищує можливості коней цієї групи, не адаптованих до такого напруження. Вміст пірувату знизився на 67,5% за фізичного навантаження та на 35,0% за емоційного стресу. Активність ферменту, який каталізує реакцію гліколізу, – ЛДГ за фізичного навантаження збільшився на 76,2% (P < 0,001), що свідчить про зростання анаеробної спрямованості реакцій у бік збільшення рівня лактату. За емоційного стресу активність ферменту зросла меншою мірою (на 44,3%, P < 0,001).

Таблиця 3

Показники вуглеводного та ліпідного обміну у сироватці крові спортивних коней навчальної групи у стані відносного спокою, за фізичного та емоційного навантаження (n = 12)

Біохімічні показники	Відносний спокій		За фізичного навантаження		За емоційного навантаження	
	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)
Глюкоза, ммоль/л	4,6 ± 0,07	4,1–4,9	4,7 ± 0,10	4,2–5,5	5,2 ± 0,04***	4,9–5,3
ЛДГ, од/л	211,5 ± 6,6	180,0–246,0	314,4 ± 7,7***	263,9–353,9	305,2 ± 4,5***	281,9–335,9
Холестерол, ммоль/л	2,1 ± 0,08	1,8–2,5	3,7 ± 0,08***	3,2–4,1	2,3 ± 0,05	2,0–2,6
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,10 ± 0,06	0,78–1,41	2,65 ± 0,03***	2,33–2,74	1,80 ± 0,05***	1,59–2,01
Лактат, ммоль/л	1,4 ± 0,05	1,1–1,6	4,0 ± 0,10***	3,5–4,5	2,1 ± 0,03***	1,9–2,3
Піруват, ммоль/л	0,40 ± 0,01	0,33–0,48	0,13 ± 0,01***	0,09–0,17	0,26 ± 0,01***	0,23–0,29

Примітки: див. табл. 1.

Динаміка показників стану ліпідного обміну (холестеролу та триацилгліцеролів) також була значнішою за фізичного напруження: концентрація холестеролу зросла на 76,2%, а триацилгліцеролів – на 140,9% (P < 0,001), що свідчить про посилення ліполізу за фізичного напруження, у той час як за емоційного стресу вміст холестеролу не змінюється, а концентрація триацилгліцеролів зростає меншою мірою (на 66,4%, P < 0,001).

Вміст кальцію за фізичного навантаження та емоційного стресу (табл. 4) достовірно зростає (на 30,0%, P < 0,001 та 20,0%, P < 0,01, відповідно) через вплив паратиреоїдного гормона, дія якого посилюється внаслідок стресу. Концентрація феруму за фізичного навантаження не змінюється, а за емоційного – зростає (на 10,8%, P < 0,05).

Таблиця 4

Вміст кальцію та заліза у сироватці крові спортивних коней навчальної групи у стані відносного спокою, за фізичного та емоційного навантаження (n = 12)

Біохімічні показники	Відносний спокій		За фізичного навантаження		За емоційного навантаження	
	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)	M ± m	Lim (min–max)
Загальний кальцій, ммоль/л	2,0 ± 0,05	1,8–2,4	2,6 ± 0,08***	2,1–3,0	2,4 ± 0,06**	2,1–2,8
Ферум, ммоль/л	3,7 ± 0,05	3,4–3,9	3,6 ± 0,06	3,3–3,9	4,1 ± 0,08*	3,6–4,5

Примітки: див. табл. 1.

Ефективність використання спортивних коней зумовлена комплексом чинників: породою та типом будови, віком, темпераментом, умовами та режимом тренінгу (Carlson, 1985). Оскільки коні навчальної групи не мають вузькоспеціалізованого спортивного застосування і, в основному, використовуються для підготовки початківців вершників, установлено, що під час показових виступів вплив фізичного та емоційного навантаження викликає різноспрямовані зміни біохімічних показників сироватки крові. Отже, коні спортивного спрямування, віднесені до навчальної групи, вимагають особливого ставлення. Під час тренувань і показових виступів необхідно враховувати, що для покриття дефіциту енергії та поживних речовин за дії інтенсивних фізичних і емоційних навантажень тварини змушені витрачати внутрішні резерви організму, у результаті чого виникають зміни метаболізму, що спричинюють зниження результативності, працездатності коней і становлять загрозу їх здоров'ю (Hinchcliff et al., 2002; Castejon et al., 2006; Fielding et al., 2009; El-Ashker, 2011; Adamu et al., 2012b).

Для коней навчальної групи емоційне напруження – сильніший стресовий фактор, ніж фізичне навантаження. Тому, щоб забезпечити можливість адекватно та своєчасно корегувати фізіологічний стан тварин, необхідне обстеження коней під час тренінгу та показових виступів із застосуванням комплексу біохімічних методів дослідження сироватки крові на тлі впливу різних за механізмом дії стресових факторів (Fielding et al., 2009; Lindner 2009; Lawan, 2010; Cywińska, 2012).

Висновки

За фізичного та емоційного навантаження спостерігаються різноспрямовані синхронні зміни показників білкового обміну (загального білка та сечовини) у сироватці крові коней навчальної групи. Концентрація біомаркера оксидативного стресу – сечової кислоти збільшилась за фізичного навантаження на 8,6%, а за емоційного – на 55,1% (P < 0,01), що свідчить про негативний ефект останнього на організм коней навчальної групи та про недостатню їх адаптованість до показових виступів.

За фізичного навантаження спостерігалось збільшення інтенсивності реакції переамінування у клітинах печінки коней навчальної групи, а за емоційного стресу її інтенсивність знизилась, що відповідає змінам показників обміну білків.

Активність АсАТ у сироватці крові цих коней за фізичного навантаження перевищила верхню межу норми, що збігається з підвищенням концентрації креатинину та лактату і є показником посилення катаболічних процесів у м'язах.

За емоційного навантаження в коней спостерігали незначну гіпербілірубінемію за рахунок, скоріше за все, спазму жовчовідвідних шляхів, який мав тимчасовий характер і не відбувався за фізичного навантаження на тлі відсутності значних змін активності лужної фосфатази та ГГТП.

За емоційного стресу в коней спостерігали гіперглікемію, відсутню за фізичного навантаження. За фізичного навантаження спостерігали значне зростання рівня лактату (на 185,7%) та активності ЛДГ (на 76,2%) – індикатори посилення анаеробного гліколізу.

Зміни рівня холестеролу та триацилгліцеролів у сироватці коней спортивної групи значніші за фізичного навантаження: концентрація холестеролу зросла на 76,2%, а триацилгліцеролів – на 140,9%, що свідчить про посилення ліполізу.

Біохімічні показники сироватки крові коней спортивного напряму (загальний білок, сечовина, креатинін, сечова кислота, загальний білірубін та його фракції, глюкоза, холестерол, триацилгліцероли, загальний кальцій, ферум, лактат, піруват, активність АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЛДГ, лужна фосфатаза) дозволяють об'єктивно оцінити адаптаційний потенціал коня, визначити його спроможність витримувати стреси під час фізичного та емоційного навантаження.

Бібліографічні посилання

Adamu, L., Noraniza, M.A., Rasedee, A., Bashir, A., 2010. Effects of race distance on physical, hematological and biochemical parameters of endurance horses. Am. J. Anim. Vet. Sci. 5(4), 244–248.

Adamu, L., Noraniza, M.A., Rasedee, A., Bashir, A., 2012a. Metabolic responses in endurance horses during racing in relation to uric acid profile, leucocytes, heart rate and plasma biochemical parameters. Veterinarna Medicina 57(11), 591–596.

Adamu, L., Noraniza, M.A., Rasedee, A., Bashir, A., 2012b. Alterations in biochemical, hematological and physical parameters in endurance horses with metabolic crisis. J. Anim. Vet. Adv. 11, 4108–4114.

Anderson, M.G., 1975. The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse. Equine Vet. J. 7, 160–165.

Aoi, W., Naito, Y., Takanami, Y., Kawai, Y., Sakuma, K., Ichikawa, H., Yoshida N., Yoshikawa, T., 2004. Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. Free Radic. Biol. Med. 37(4), 480–487.

Aoki, T., Ishii, M., 2012. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (heavy draft horse). J. Equine Vet. Sci. 32(3), 170–176.

Butler, P.J., Woakes, A.J., Smale, K., Roberts, C.A., Hillidge, C.J., Snow, D.H., Marlin, D.J., 1993. Respiratory and cardiovascular adjustments during exercise of increasing intensity and during recovery in Thoroughbred racehorses. J. Exp. Biol. 179, 159–180.

Carlson, G.P., 1985. Medical problems associated with protracted heat and work stress in horses. Comp. Cont. Educ. Pract. 7, 542–550.

Castejon, F., Trigo, P., Muñoz, A., Riber, C., 2006. Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. Equine Vet. J. Suppl. 36, 70–73.

Chiaradia, E., Avellini, L., Rueca, F., Spaterna, A., Porciello, F., Antonioni, M.T., Gaiti, A., 1998. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. Comp. Biochem. Phys. B 119(4), 833–836.

Cywińska, A., Szarska, E., Górecka, R., Witkowski, L., Hecold, M., Bereznowski, A., Schollenberger, A., Winnicka, A., 2012. Acute phase protein concentrations after limited distance and long distance endurance rides in horses. Res. Vet. Sci. 93(3), 1402–1406.

El-Ashker, M.R., 2011. Acute kidney injury mediated by oxidative stress in Egyptian horses with exertional rhabdomyolysis. Vet. Res. Commun. 35(5), 311–320.

Escribano, B.M., Agüera, E.I., Rubio, M.D., Santisteban, R., Vivo, R., Agüera, S., Tovar, P., 2011. Utility of the discriminant analysis to categorize untrained Spanish Pure Bred horses on the basis of biochemical and muscle variables before and after a standardized exercise test. Res. Vet. Sci. 91(3), 144–148.

Evans, D.L., 2007. Physiology of equine performance and associated tests of function. Equine Vet. J. 39(4), 373–383.

Fazio, F., Casella, S., Giannetto, C., Caola, G., Piccione, G., 2009. Serum homocysteine and oxidative stress evaluation during exercise in horse. Pol. J. Vet. Sci. 12(2), 169–174.

Fielding, C.L., Magdesian, K.G., Rhodes, D.M., Meier, C.A., Higgins, J.C., 2009. Clinical and biochemical abnormalities in endurance horses eliminated from competition for medical complications and requiring emergency medical treatment: 30 cases (2005–2006). J. Vet. Emerg. Crit. Care 19(5), 473–478.

Guhl, A., Lindner, A., von Wittke, P., 1996. Use of the relationship between blood lactate and running speed to determine the exercise intensity of horses. Vet. Rec. 139(5), 108–110.

Hinchcliff, K.W., Lauderdale, M.A., Dutson, J., Geor, R.J., Lacombe, V.A., Taylor, L.E., 2002. High intensity exercise conditioning increases accumulated oxygen deficit of horses. Equine Vet. J. 34(1), 9–16.

Lindner, A., Mosen, H., Kissenbeck, S., Fuhrmann, H., Sallman, H.P., 2009. Effect of blood lactate-guided conditioning of horses with exercise of differing durations and intensities on heart rate and biochemical parameters. J. Anim. Sci. 87(10), 3211–3217.

Moriwaki, Y., Yamamoto, T., Higashino, K., 1999. Enzymes involved in purine metabolism – A review of histochemical localization and functional implications. Histol. Histopathol. 14(4), 1321–1340.

Надійшла до редколегії 19.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 489–494.

doi:10.15421/011666

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 595.617+574.34

Сезонна динаміка чисельності *Brachyiulus jawlowskii* (Diplopoda, Julidae) на арені р. Дніпро

Н.Г. Гудим

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

Досліджено сезонну динаміку чисельності та біотопічного розподілу двопарноногої багатоніжки *Brachyiulus jawlowskii* Lohmander, 1928 на арені р. Дніпро (у межах природного заповідника «Дніпровсько-Орільський»). Розглянуто основні типи біогеоценозів арени, які характеризуються надмірним або помірним рівнем зволоження едафотопів: піщаний степ, чорнокленовники, соснові насадження, широколистяний ліс, луки та болото. *B. jawlowskii* заселяє всі досліджені біотопи в межах арени р. Дніпро, що характеризує його як екологічно пластичний вид. У болотних та лучних біотопах вид характеризується високим рівнем чисельності. *B. jawlowskii* відіграє найбільшу роль в угрупованні герпертобіонтів болотних біотопів та у діброві (6,7% та 4,6% відповідно), в інших типах біотопів частка цього виду в угрупованні становить 0,1–3,5%. У степовій зоні України екосистеми перебувають в умовах значного антропогенного впливу, а в природних заповідниках цей вплив мінімізований, що дозволяє дослідити природні режими динаміки популяції. Розглядаючи чисельність *B. jawlowskii*, можна виділили три періоди: весняно-літній, літній та осінній. Кожен із цих періодів характеризується різною динамічною чисельністю, але в цілому популяція *B. jawlowskii* досить стійка. Це зумовлено перерозподілом чисельності особин у широкому біотопічному діапазоні досліджуваної території.

Ключові слова: динаміка чисельності; метапопуляція; ценопопуляція; біотопічний діапазон

Seasonal population dynamics of *Brachyiulus jawlowskii* (Diplopoda, Julidae) in the Dnieper river arena

N.G. Gudym

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

We have researched the population dynamics of *Brachyiulus jawlowskii* Lohmander, 1928 in the arena of the Dnepr river (within the "Dnieper-Orilsky" Nature Reserve) and also present a full picture of the habitat distribution of Julidae within the researched area. The tested models were basic types of arena biogeocenosis: sand steppe, black maple forests, artificial pine plantations, deciduous forest, meadow and swamp. Variation in population density of *B. jawlowskii* is determined by biotopical features. The swamp and meadow habitats can be characterized by the highest level of population dynamics. *B. jawlowskii* plays the greatest role in the herpetobiont grouping in swamp and oak forest habitats (6.7% and 4.6% respectively). In other types of habitat this species composes 0.1–3.5% of the total abundance of this group. The highest abundance dynamic was reached by the Julidae cenopopulations which inhabit the swamp, oak forest and meadow habitats. *B. jawlowskii* occupies a relatively significant share in the herpetobiont communities of these habitats. Thus, the indicators of absolute number of this species and its relative participation in the herpertobiont grouping indicate the preference of this species for marsh, oak forest and meadow habitats. These habitats can be characterized by an excessive or moderate level of edaphotopic humidification. The ecosystem of the steppe zone of Ukraine is subject to significant human impact. In nature reserves, this effect is minimized, which permits research to be conducted on regimes of natural population dynamics. We established that *B. jawlowskii* inhabits all habitats investigated within the arena zone of the Dnepr river. This indicates that this is an environmentally flexible Julidae species. The population dynamics of *B. jawlowskii* can be characterized by three distinct periods: spring-summer, summer and autumn. Each of these periods is characterized by a distinct population dynamic, but throughout the study period the metapopulation of *B. jawlowskii* remained stable. This is due to the redistribution of representatives of the biotopical metapopulation over a wide range. The conservation regime within the "Dnieper-

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-098-340-81-05. E-mail: najunakedju@mail.ru

Orilsky" Nature Reserve had a positively effect on the state of the *B. jawlowskii* population. Within the reserve on the territory of the arena of the Dnepr river *B. jawlowskii* uses a wide variety of types of habitats.

Keywords: population dynamics; metapopulation; cenopopulation; biotopical range

Вступ

Істотну роль у складі тваринного населення ґрунтів відіграють двопарноногі багатоніжки (Diplopoda). Вони – один з основних компонентів ґрунтової фауни в регіонах із помірним кліматом (Evsyukov and Golovatch, 2013; Brygadyrenko, 2015, 2016). За трофічними преференціями у більшості ківсяки – фітосапрофаги. Диплоподи відіграють важливу роль як компонент комплексу первинних руйнівників у розкладанні рослинних залишків та процесі ґрунтоутворення (Gilyarov, 1957, 1978; Zhukov and Pakhomov, 2007). Найбільшу участь у процесі розкладання підстилки в липо-ясеневих дібровах і аренних борах беруть диплоподи (Brygadyrenko and Solovjov, 2007; Fedorchenko and Brygadyrenko, 2008; Moroz et al., 2011). Це – в основному мезофільна група, але в екологічному плані вони досить різноманітні, мають адаптації, які дозволили їм широко розселитися майже в усіх географічних зонах Земної кулі (Farzalieva, 2008). Приуроченість диплопод до певних типів ґрунтів робить цю групу індикатором у біологічній діагностиці ґрунтів та практиці екологічного моніторингу (Gilyarov, 1965; Striganova, 1980; Krivolutskiy, 1994). Диплоподи акумулюють свинець і радіоактивний стронцій, які відкладаються в їх покривах, заміщаючи собою кальцій. Тому вони можуть бути використані як біоіндикатори радіоактивного та токсичного забруднення ґрунту, що спостерігається в усіх сучасних великих містах (Pokarzhevskiy, 1985).

Тісний зв'язок диплопод із прихованими місцеперебуваннями, відносно слабка рухливість і вагільність (здатність до активного розселення), схильність до ендемізу, значне поширення підвищують роль диплопод у зоогеографічних реконструкціях (Golovatch, 1980, 1984). Із застосуванням лабораторних моделей популяції (на прикладі *Rossiulus kessleri*) проаналізовано вплив окремих вікових груп і популяції диплопод у цілому на різні групи трофічних ресурсів, за впливу різних видів паразитів (Svyrydchenko and Brygadyrenko, 2014; Brygadyrenko and Svyrydchenko, 2015). Лабораторні експерименти зі впливу Julidae на розкладання рослинних залишків у градієнті концентрації Fe показав достовірне прискорення споживання підстилки за умов зростання в ній концентрації Fe та Cu (Brygadyrenko and Ivanyshyn, 2014, 2015). Ареали багатьох видів багатоніжок, які зустрічаються на Східно-Європейській рівнині, простягаються далеко на захід до Європи, і лише деякі, такі як *Brachyiulus jawlowskii* (Golovatch, 1992), обмежені цією територією або її частиною (Wytwer et al., 2009).

Brachyiulus jawlowskii Lohmander, 1928 – сапрофаг, субендемік Східно-Європейської рівнини. Зустрічається в Україні та Європейській частині Росії до Ростова-на-Дону на півдні (Lokshina, 1969; Golovatch, 1984; Evsyukov and Golovatch, 2013). Цей ківсяк відомий у Румунії, нещодавно зафіксований у Польщі (Wytwer et al., 2009). Це новий вид для фауни азіатської частини Росії. Нині його зареєстровано в семи антропогенних біотопах у містах Барнаул і Бійськ, а також на відкритому робочому майданчику в Первомайському районі Алтайського краю (Nefediev et al., 2014). У Ставропольському краї *B. jawlowskii* не знайдений у природному середовищі, тому, ймовірно, тут він – чисто синантропна форма (Zuev, 2014). На півдні ареалу вперше знайдений у Туреччині (Enghoff, 2006). *B. jawlowskii* виявлений у долині р. Буг на експериментальній площадці, розташованій на річкових мулових відкладах, зарослих свіжих луків (Jastrzebski, 2012). *B. jawlowskii* зафіксований під час фауністичного обстеження в період із 1997 по 2002 рік у Білгородській і Воронезькій областях на півдні Росії (Prisnyiy, 2001). *B. jawlowskii* виявлений в Ульяновській області, у підстилці розрідженого листяного лісу та на присадибних ділянках. Також *B. jawlowskii* установлений у Пензенській області (Volkova, 2013, 2015). У Канівському природному заповіднику ківсяк знайдений у 1986–1988 рр., але з того часу більше не реєструвався (Chorniy and Kos'yanenko, 2003, 2008).

Останнім часом спостерігається чітко визначена тенденція щодо збільшення ареалу цього виду у східному, південному та північному напрямках від початкового осередку його поширення. Така тенденція може бути викликана глобальними кліматичними змінами. Для визначення механізмів географічного розселення виду велике значення має оцінка особливостей його біотопічного розподілу. Вид зустрічається в лісах, полезахисних смугах, заростях, на луках, по заплавах річок, на посівах різних сільськогосподарських культур, у плодових садах. Це – один із небагатьох видів диплопод, який досить часто трапляється на полях (Lokshina, 1969). У лісостепу мешкає в різноманітних біотопах, у тому числі синантропних, але тут рідко трапляється у значній чисельності (Golovatch, 1984). В умовах Імертинської низовини, розташованої на Чорноморському узбережжі Кавказу, *B. jawlowskii*, навіть маючи високу чисельність, зустрічається винятково на менш вологих ділянках (Chumachenko, 2008). Цей вид проникає у Південний Лісостеп і зону степів по байрачних лісах, полях і полезахисних лісосмугах (Lokshina, 1969). *B. jawlowskii* зареєстрований у заплаві р. Самара та інших лісах степової зони України (Kisenko and Zhukov, 1998, 2000). У плакорному степу вид зустрічається епізодично, але у досить високій кількості. Чисельність *B. jawlowskii* максимальна у притерасній заплаві, а у прирусловій заплаві цей вид не зустріли (Zhukov and Pakhomov, 2007). Під час дослідження забруднених свинцем ґрунтів у центральній заплаві р. Самара (в кількості 2 ГДК) частка сапрофагів (*B. jawlowskii*) практично не змінюється (Kunah, 2007).

Таким чином, *B. jawlowskii* хоч і є субендеміком Східно-Європейської рівнини, але нині спостерігається тенденція розширення його ареалу. На фоні загальної мезофільності за рахунок уподобання більш сухих стацій *B. jawlowskii* може займати широкий біотопічний діапазон. Літературні дані про його біотопічний розподіл мають уривчастий характер, не надають повної картини про чисельність і сезонну динаміку активності *B. jawlowskii* у біотопічному контексті.

Мета цього дослідження – охарактеризувати сезонну динаміку чисельності *B. jawlowskii* на арені р. Дніпро (у межах природного заповідника «Дніпровсько-Орільський»), розглянути особливості біотопічного розподілу виду в межах дослідженої території.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені з квітня по листопад 2015 р. у природному заповіднику «Дніпровсько-Орільський». За цей період зібрано 449 екземплярів *B. jawlowskii*. У межах дослідженої території (табл. 1) закладено 24 дослідні точки, в яких розміщено пастки Барбера у триразовій повторності: псамофільний степ, верхня частина дюн (4 точки); псамофільний степ, міждюнне пониззя (4 точки); чорнокленові кущі (4 точки); насадження сосни на арені (тут та всі інші біотопи – по 3 точки); широколистяне лісове насадження; луг (дві точки у заплаві р. Проточ і одна – у тальвезі балки Орлова); болота. У межах кожної пробної точки розміщено по три пастки Барбера. Пастки розміщені по вершинах рівностороннього трикутника з довжиною сторони 3 м. Як пастки Барбера застосовано скляні ємності об'ємом 0,5 л. Консервант – концентрований розчин кухонної солі з етиленгліколем. Пастки встановлено 10 квітня 2015 року. Дати відбору проб: 1 – 28.04, 2 – 5.05, 3 – 11.05, 4 – 18.05, 5 – 28.05, 6 – 8.06, 7 – 17.06, 8 – 29.06, 9 – 20.07, 10 – 29.07, 11 – 8.08, 12 – 19.08, 13 – 7.09, 14 – 20.09, 15 – 4.10, 16 – 18.10.2015 р.

Статистичні розрахунки проведено за допомогою програми Statistica 7.0 і програмної оболонки Project R "R: A Language and Environment for Statistical Computing" (www.R-project.org). Розбіжності між середніми значеннями вважали статистично вірогідними за $P < 0,05$.

Таблиця 1

Координати досліджуваних біотопів на арені р. Дніпро в межах природного заповідника «Дніпровсько-Орільський»

№	Біотоп	Координати у системі UTM (зона 36)	
		X	Y
1	Лук із кипцем лучним та куничником наземним	633 983	5 376 208
2	Чорнокленова діброва з грястицею	633 217	5 375 728
3	Насадження сосни з куничником наземним	633 151	5 375 697
4	Лук із пирієм повзучим та бодяком польовим	633 458	5 375 187
5	Насадження сосни зі стоколосом безостим	633 364	5 375 137
6	Псамофільний степ, нижня частина міждюнного пониззя з мохом *Syntrichia ruralis*	633 269	5 374 891
7	Псамофільний степ, верхня частина дюни з житом посівним	633 334	5 374 806
8	Псамофільний степ, верхня частина дюни з житняком пухнастоквітковим	633 861	5 374 692
9	Псамофільний степ, нижня частина міждюнного пониззя з анізантою кровельною	633 885	5 374 689
10	Чорнокленовник із житом диким	633 910	5 374 671
11	Чорнокленовник із мохом *Syntrichia ruralis*	633 943	5 374 703
12	Чорнокленовник із жостером проносним	634 086	5 374 713
13	Псамофільний степ, верхня частина дюни з кипцем пісковим	634 087	5 374 727
14	Псамофільний степ, нижня частина міждюнного пониззя із житом диким	634 145	5 374 788
15	Діброва із в'язом білим та ожиною сизою	634 665	5 375 137
16	Болото з тополями чорними та осокою	634 717	5 375 210
17	Болото з вербою білою та підмаренником чіпким	634 475	5 375 311
18	Насадження сосни із в'язом білим та бугилою	634 193	5 375 517
19	В'язо-чорнотопольник із розхідником	634 110	5 375 698
20	Болото з перстачем повзучим та живокостом лікарським	634 004	5 375 865
21	Лук із кострицею валіською	634 539	5 375 989
22	Псамофільний степ, верхня частина дюни з мохом *Syntrichia ruralis*	634 732	5 375 084
23	Псамофільний степ, нижня частина міждюнного пониззя з кипцем пісковим	634 773	5 375 045
24	Чорнокленовник із чистотілом великим	634 842	5 374 944

Результати та їх обговорення

За період досліджень у середньому чисельність *B. jawlowskii* склала 3,33 ± 1,23 екз./100 пастко-діб, а у структурі угруповання герпетобіонтів частка цього виду склала 2,07 ± 0,63% (табл. 2). Варіювання чисельності популяції *B. jawlowskii* визначається біотопічними особливостями. Чисельність виду статистично вірогідно відрізняється між різними біотопами ($F = 10,11$; $P < 0,001$). Також частка *B. jawlowskii* в угрупованні герпетобіонтів за чисельністю статистично вірогідно відмінна у різних типах біотопів ($F = 4,72$; $P < 0,01$). Найвищим рівнем чисельності характеризуються болотні та лучні біотопи.

Найбільшу роль *B. jawlowskii* відіграє в угрупованні герпетобіонтів болотних біотопів та у діброві (6,71 ± 1,86% та 4,57 ± 2,48%, відповідно). В інших типах біотопів вид складає 0,11–3,50% від загальної чисельності угруповання.

Сукупність ценопопуляцій *B. jawlowskii* формує загальну метапопуляційну систему, яка обіймає майже увесь досліджений простір як за географічним, так і біотопічним аспектами. Розглянемо динаміку чисельності метапопуляції *B. jawlowskii* протягом періоду досліджень (рис. 1). Із початку спостережень відбувається збільшення чисельності популяції ківсяка. У період із початку червня відбувається різке зменшення чисельності, яке, вірогідно, викликане чинниками природної смертності. Починаючи з кінця серпня спостерігається тенденція до збільшення чисельності популяції. Можна припустити, що міграційні процеси відіграють ключову роль у цій компоненті динаміки. Зібрані 29 липня 2015 р. тварини дозволили

встановити суттєвий спад чисельності *B. jawlowskii*. Далі до закінчення періоду досліджень спостерігалась тенденція до поступового зниження чисельності популяції *B. jawlowskii*.

Після аналізу динаміки чисельності у біотопічному розрізі механізми динаміки метапопуляційної системи стають зрозумілішими. Протягом весняно-літнього періоду популяції *B. jawlowskii* розподілені в широкому діапазоні біотопів. Займаючи значну частину біотопів арени, метапопуляція *B. jawlowskii* використовує максимальну кількість ресурсів, що на довгий час залишає цю систему у стабільному стані.

Ценопопуляції, які складають досліджену метапопуляцію, характеризуються значним рівнем варіабельності чисельності. Але протягом часу відбувається біотопічний перерозподіл особин *B. jawlowskii* таким чином, що загальна чисельність усієї метапопуляції протягом весняно-літнього періоду залишається стабільною.

Таблиця 2

Чисельність і частка в угрупованні *Brachyiulus jawlowskii* Lohmander, 1928 у різних типах біотопів (у середньому за період дослідження)

Типи біотопів	Чисельність (x ± SE), екз./100 пастко-діб	Частка *B. jawlowskii* в угрупованні герпетобіонтів за чисельністю (x ± SE), %
Болотні	14,44 ± 4,85	6,71 ± 1,86
Широколистяні	3,80 ± 2,39	4,57 ± 2,48
Лучні	6,71 ± 4,33	3,50 ± 1,94
Псамофітний степ, верхні частини дюни	0,18 ± 0,10	0,17 ± 0,13
Псамофітний степ, міждюнні пониження	0,71 ± 0,71	0,25 ± 0,25
Сосняки, соснові насадження	0,48 ± 0,30	1,06 ± 0,12
Чорнокленовники у псамофітному степу	0,04 ± 0,04	0,11 ± 0,11

Примітки: x – середнє, SE – стандартна помилка.

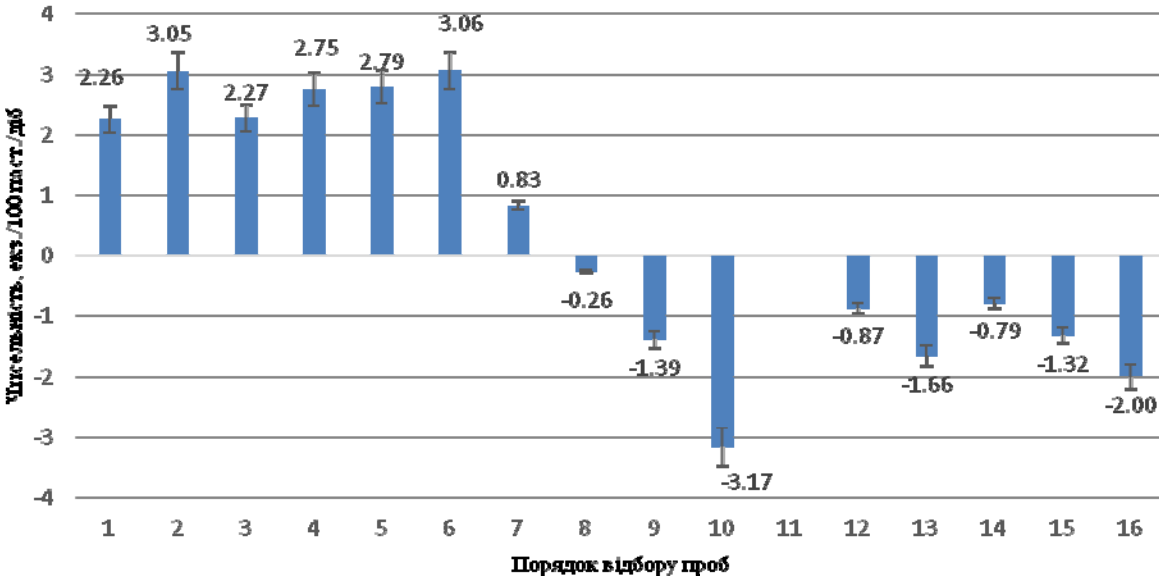


Рис. 1. Чисельність метапопуляції *Brachyiulus jawlowskii* Lohmander, 1928:
разом – 449 екз.; по осі абсцис – порядок дат відбору проб (див. «Матеріал і методи досліджень»), по осі ординат – чисельність у логарифмованому масштабі, у середньому по всіх біотопах

У період літнього спокою значно зменшується динамічна чисельність *B. jawlowskii* та біотопічний діапазон. Цей вид зафіксовано переважно у найбільш вологих місцеперебуваннях (луки та болота). У зборах 8 серпня ківсяків не виявлено. У літньо-осінній період діапазон біотопічного розподілу ценопопуляцій *B. jawlowskii* звужується. У цей період ківсяки переважно зустрічаються в лучному біотопі у заплаві р. Проточ. Це може свідчити про те, що найкомфортнішими умовами місцеперебування для відновлення популяції характеризуються лучні біотопи. Дослідження герпетобіонтів екосистем арени р. Дніпро у межах природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» дозволили встановити двох представників ківсяків в угрупованні: *Enantiulus nanus* Latrfel, 1884 та *B. jawlowskii*. Слід зазначити, що *E. nanus* зустрічався епізодично, а *B. jawlowskii* протягом усього дослідження мав високу чисельність і зустрівався в усіх біотопах арени, тому біотопічний розподіл саме цього виду розглянуто в нашому дослідженні.

Дослідження динаміки чисельності та біотопічного розподілу популяцій тварин – важлива наукова проблема (Bigon et al., 1989). Динаміка чисельності популяцій тварин визначається чотирма чинниками: народжуваність, смертність, еміграція та імміграція (Gilyarov, 1990). Екосистеми у межах степової зони України перебувають в умовах значного антропогенного впливу. Природний заповідник «Дніпровсько-Орільський» уособлює в собі, так би мовити, частинку природи, затиснуту між промисловими гігантами – містами Дніпропетровськ і Дніпродзержинськ. Тому *B. jawlowskii* може підтримувати рівень

динамічної чисельності популяції та розповсюджуватися в усі прилеглі території, які зазнали антропогенного та господарського впливу.

Як модельні в дослідженні розглянуті основні типи екосистем арени. В них є спільна риса – сформованість на піщаних ґрунтах. Цей біогеоценотичний ряд формує катену, в межах якої біотопи упорядковано за ступенем зволоження едофотопу: від сухих до вологих. *B. jawlowskii* заселяє всі досліджені біотопи в межах арени р. Дніпро – вид екологічно пластичний. За даними багатьох дослідників (Enghoff, 2006; Wytwer et al., 2009; Nefediev et al., 2014), останнім часом спостерігається тенденція до розширення ареалу цього виду. Загальний механізм подолання кліматичних рубежів ґрунтовими тваринами – принцип зональної зміни стацій (Bey-Bienko, 1930). Особливості біотопічного розподілу ківсяка *B. jawlowskii* у різних частинах ареалу ілюструють цей закон. Якщо північніше вид поводиться як мезофіл або ксеромезофіл та віддає перевагу біотопам із середнім зволоженням і достатнім прогріванням (Prisnyiy, 2001), то в умовах дослідженої території він віддає перевагу вологим біотопам із меншим прогріванням, які належать до мезофільних або гігрофільних типів умов.

Висновки

Найбільшою чисельністю характеризуються ценопопуляції ківсяка болотних, дібровних і лучних біотопів. У цих екосистемах *B. jawlowskii* займає порівняно значну частку в угрупованнях герпетобіонтів. Указані біотопи характеризуються надмірним або помірним рівнем зволоження. У посушливих біотопах (у піщаному степу, соснових насадженнях і чорнокленовниках на арені) чисельність виду характеризується низькими значеннями та невеликою часткою в угрупованні герпетобіонтів у межах досліджуваної території. Розглядаючи чисельність *B. jawlowskii* можна виділити три періоди: весняно-літній, літній та осінній. У весняно-літній та осінній періоди чисельність популяції має стабільний характер, у літній вона зазнає значних змін.

Режим заповідання в межах природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» позитивно відбивається на стані популяцій *B. jawlowskii*. У межах заповідника на території арени р. Дніпро *B. jawlowskii* займає різноманітні типи місцеперебувань. Динаміка його чисельності характеризується наявністю стаціонарних станів, що свідчить про стабільність метапопуляційної системи, представленої сукупністю локальних ценопопуляцій *B. jawlowskii*. *B. jawlowskii* виконує важливу функціональну роль у підтриманні стабільності функціонування аренних екосистем у межах території, яка охороняється.

Бібліографічні посилання

Bey-Bienko, G.Y., 1930. Orthoptera Tenizo-Kurgaldzhinskoy zoologicheskoy ekspeditsii [Orthoptera Tengiz-Korgalzhyn to the zoological expedition]. Izv. Zap.-Sib. Omsk (in Russian).

Bigon, M., Harper, D., Taunsend, K., 1989. Ekologiya. Osobi, populyatsii i soobschestva [Ecology of individuals, populations and communities]. Mir, Moscow.

Brygadyrenko, V., Ivanyshyn, V., 2015. Changes in the body mass of *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) and the granulometric composition of leaf litter subject to different concentrations of copper. J. Forest Sci. 61(9), 369–376.

Brygadyrenko, V.V., 2015. Community structure of litter invertebrates of forest belt ecosystems in the Ukrainian steppe zone. Int. J. Environ. Res. 9(4), 1183–1192.

Brygadyrenko, V.V., 2016. Effect of canopy density on litter invertebrate community structure in pine forests. Ekológia (Bratislava) 35(1), 90–102.

Brygadyrenko, V.V., Ivanyshyn, V.M., 2014. Vlijanie soli zheleza na massu tela *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) i granulometricheskij sostav podstilki v laboratornom jeksperimente [Impact of ferric salt on body weight of *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) and litter granulometric composition in the laboratory experiment]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 22(1), 83–87 (in Russian).

Brygadyrenko, V.V., Solovjov, S.V., 2007. Vplyv pervynnogo g'runtoutvorennja u zaplavnyh lisah Dniprovs'ko-Oril's'kogo pryrodnogo zapovidnyka na strukturu gerpetobiju [Effect of initial soil in floodplain forests of the Dnieper-Oril's'ke Nature Reserve on the litter invertebrates communities structure]. Pynannia Bioidycacii ta Ecologii 12(1), 34–45 (in Ukrainian).

Brygadyrenko, V.V., Svyrydchenko, A.O., 2015. Influence of the gregarine *Stenophora julipusilli* (Eugregarinorida, Stenophoridae) on the trophic activity of *Rossiulus kessleri* (Diplopoda, Julidae). Folia Oecol. 42(1), 10–20.

Chumachenko, Y.A., 2009. Prirodnyie kompleksyi imeretinskoy nizmennosti: Biologicheskoe raznoobrazie, sozologicheskaya znachimost, rekomendatsii po sohraneniyu [Natural complexes Imereti lowland: Biodiversity, sozological importance for the conservation recommendations]. Kopi-Print, Krasnodar (in Russian).

Enghoff, H., 2006. The millipedes of Turkey (Diplopoda). Steenstrupia 29(2), 175–198 (in Turkey).

Evsyukov, A.P., Golovatch, S.I., 2013. Millpedes (Diplopoda) from the Rostov-on Don Region, Southern Russia. Arthopoda Sel. 22(3), 207–215.

Farzalieva, G.S., 2008. Fauna i horologiya mnogonozhek (Myriapoda) Urala i Priuralya [Fauna and chorology of millipedes (Myriapoda) of Ural]. Moscow (in Russian).

Fedorchenko, D.O., Brygadyrenko, V.V., 2008. Osoblyvosti formuvannia bagatovydovych ugrupovan' pidstylkovych bezchrebetnych tvaryn ostrova Khortitsa (Zaporiz'ka oblast') [Peculiarities of litter invertebrates' multispecies complexes formation on the Khortitsa island (Zaporizhzhya province)]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 16(2), 178–185 (in Ukrainian).

Gilyarov, A.M., 1990. Populyatsionnaya ekologiya [Population ecology]. MGU, Moscow (in Russian).

Gilyarov, M.S., 1957. Kivsyaki i ih rol v pochvoobrazovanii [Millipede and their role in soil formation]. Pochvovedenie 10, 51–61 (in Russian).

Gilyarov, M.S., Striganova, B.R., 1978. Rol pochvennyih bespozvonochnyih v razlozhenii rastitelnyih ostatkov i krugovorote veschestv [The role of soil invertebrates in the decomposition of plant residues and circulation of substances]. VINITI, Moscow (in Russian).

Jastrzebski, P., 2012. *Brachyiulus jawlowskii* Lohmander, 1928, a millipede species new to the fauna of Poland (Myriapoda: Diplopoda). Fragm. Faun. 55(1), 1–3.

Kisenko, T.I., Zhukov, A.V., 1998. Biotopicheskoe raspredelenie i fauna dvuparnonogih mnogonozhek lesov stepnoy zonyi Ukrainyi [Habitat distribution and fauna millipedes forest steppe zone of Ukraine]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 4, 90–94 (in Ukrainian).

Kisenko, T.I., Zhukov, A.V., 2000. Pochvennaya mezofauna poymy r. Samara-Dneprovskaya [Soil mesofauna floodplain r. Samara-Dnepr]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 7, 62–68.

Kosyanenko, E.V., Chorniy, M.G., 2008 Istoriya ta stan vivchennya miriapodofauni Kanivskogo prirodnogo zapovidnika [History and state of study of miriapoda in the Kaniv Nature Reserve]. Nature Reserves in Ukraine 14(2), 25–29 (in Ukrainian).

Krivolutskiy, D.A., 1994. Pochvennaya fauna v ekologicheskom kontrole [Soil fauna in environmental control]. Nauka, Moscow (in Russian).

Kunah, O.N., 2007. Troficheskie gruppyi pochvennoy mezofaunyi tsentralnoy poymyi r. Samara [Trophic groups of soil macrofauna central floodplain r. Samara]. Pytannia Biоindykatsii ta Ekolohii 12(2), 45–53 (in Ukrainian).

Lokshina, I.E., 1969. Opredelitel dvuparnonogih mnogonozhek (Diplopoda) ravninnoy chasti Evropeyskoy territorii SSSR [Identification book of millipedes (Diplopoda) in the plain part of the USSR European territory]. Nauka, Moscow (in Russian).

Moroz, K.O., Brygadyrenko, V.V., Pakhomov, A.Y., 2011. Formirovanije fauny napochvennykh bespozvonochnykh peschanoj terrasy r. Orel' v uslovijakh pirogennoj sukcessii [Litter invertebrates fauna formation of the sandy terrace of Orel' river in condition of post-fire succession]. Proc. of the Azerbaijan Soc. of Zool. 3, 423–435 (in Russian).

Nefediev, P.S., Nefedieva, J.S., Dyachkov, Y.V., 2014. A review of the anthropochore fauna of Asian Russia, with new records from the Altai Province, Siberia (Diplopoda). In: Tuf, I.H., Tajovský, K. (eds.) Olomouc: Institute of Soil Biology, BC ASCR and Faculty of Science, Palacký University.

Negrobov, O.P., Negrobova, E.A., 2007. Ekologo-faunisticheskaya harakteristika mnogonozhek (Myriapoda, Diplopoda) Srednerusskoy lesostepi [Ecological-faunistic characteristic of centipedes (Myriapoda, Diplopoda) of Central Russian part of forest-steppe zone]. Poligraftsentr VGU, Voronezh (in Russian).

Pokarzhevskiy, A.D., 1985. Geohimicheskaya ekologiya nazemnyih zhivotnyih [Geochemical ecology of terrestrial animals]. Nauka, Moscow (in Russian).

Prisnyiy, A.V., 2001. A review of the millipede fauna of the Middle-Russian Upland, Russia (Diplopoda). Arthropoda Sel. 10(4), 297–305.

Svyrydchenko, A.O., Brygadyrenko, V.V., 2014. Trophic preferences of *Rossiulus kessieri* (Diplopoda, Julidae) for the litter of various tree species. Folia Oecol. 41(2), 202–212.

Volkova, Y.S., 2013. Fauna dvuparnonogih mnogonozhek Ulyanovskoy oblasti (Diplopoda) [Fauna of Diplopoda in Ulyanovsk Region]. Priroda Simbirskogo Povolzhya 14, 252 (in Russian).

Volkova, Y.S., 2015. K poznaniyu faunyi mnogonozhek (Myriapoda) Penzenskoy oblasti [To the knowledge of the fauna of centipedes (Myriapoda) of Penza region]. Priroda Simbirskogo Povolzhya 16, 200 (in Russian).

Wytwer, J., Golovatch, S.I., Penev, L., 2009. Variation in Millipede (Diplopoda) assemblages in oak woodlands of the Eastern European Plain. Soil Org. 81, 791–813.

Zhukov, O.V., Pakhomov, O.Y., Kunakh, O.M., 2007. Biolohichne riznomanittia Ukrainy. Dnipropetrovska oblast. Doshchovi cherv'iaky (Lumbricidae) [Biodiversity Ukraine. Dnipropetrovsk region. Earthworms (Lumbricidae)]. Dnipropetrovsk Univ. Press, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Zuev, R.V., 2014. Preliminary data on the millipedes (Diplopoda) from the Stavropol Territory, Northern Caucasus, Russia. Arthopoda Sel. 23(4), 347–354.

Надійшла до редколегії 19.06.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 495–500.

doi:10.15421/011667

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

UDC 582.394

Synopsis of the genus *Anopteris* (Pteridophyta, Pteridaceae)

A.V. Vaganov[1], A.I. Shmakov[1], N. Friesen[2]

[1]*Altai State University, Barnaul, Russia*
[2]*University of Osnabrück, Osnabrück, Germany*

In the article a synopsis of the genus *Anopteris* (Prantl) Diels is given. The synopsis of *Anopteris* includes three species. For each species, the Latin name, basionym, nomenclatural citation, synonyms, information on locus classicus, type, habitat, and distribution are given. An original key for identification of the species of *Anopteris* is also prepared. The localities of occurrence of each species are precisely given.

Keywords: *Anopteris*; synopsis; key; identification

Конспект рода *Anopteris* (Pteridophyta, Pteridaceae)

А.В. Ваганов[1], А.И. Шмаков[1], Н. Фризен[2]

[1]*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*
[2]*Оснабрюкский университет, Оснабрюк, Германия*

Приведен конспект рода *Anopteris* (Prantl) Diels. Конспект включает три вида. Для каждого из них приводится латинское название, базионим, номенклатурная цитата, синонимы, откуда описан, информация о типе, данные о местообитании, распространение по странам с цитированием мест сбора и общее распространение. Для определения всех видов рода *Anopteris* составлен оригинальный ключ, указаны подробные места произрастания.

Ключевые слова: Anopteris; конспект; ключ; определение

Altai State University, South-Siberian Botanical Garden, Lenin Ave., 61, Barnaul, 656049, Russia
Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Россия
E-mail: vaganov_vav@mail.ru

University of Osnabrück, Botanical Garden, Albrechtstrasse, 29, Osnabrück, D-49076, Germany
Оснабрюкский университет, ботанический сад, Альбрехтштрассе, 29, Оснабрюк, D-49076, Германия

Introduction

Representatives of *Anopteris* occur exclusively on the islands of Central America where they grow predominantly in rock crevices and on calcareous slopes at the elevation of 800 m a. s. l. or below.

Position of *Anopteris* (Prantl) Diels in the present-day pteridological systems is not finally determined and the genus is being treated a member of the heterogenous Pteridaceae E.D.M. Kirchn. (Smith et al., 2006; Schuettpelz et al., 2007; Christenhusz et al., 2011). Our studies of general morphology, anatomy, and spore characters (Kuznetzov et al., 2013, 2014; Vaganov et al., 2014) demonstrate that *Anopteris* is closest to some representatives of Cryptogrammoideae S. Linds. of Pteridaceae. As a result of taxonomic revision (Vaganov et al., 2010), *Anopteris* has been found to include three species: *A. hexagona* (L.) C. Chr., *A. strictum* (Kunze) A. Vaganov et Shmakov, *A. intermedia* (Morton) A. Vaganov et Shmakov.

Materials and methods

A synopsis is based on the revision of herbarium material of B, P, PE, and LE as well as relevant literature.

Resilts

Anopteris (Prantl) Diels, 1902, in Engler et Prantl, Nat. Pflanzenfam. 1(4): 288; Proctor, 1985, Ferns Jamaica: 264. – Cryptogramme sect. Anopteris Prantl, 1882, in Engler, Bot. Jahrb. 3: 414.

Plants 15–60 cm high. Sterile apex of fertile segment usually well-developed, rather big, distantly lobed or serrate at margin. All stipes opposite. Ultimate segments of sterile frond entire, margin serrate; frond 2–5-pinnate. n = 58, 2n = 116.

Typus: "*Anopteris hexagona* (L.) C. Chr., based on *Adiantum hexagonum* L. of the West Indies" (Proctor, 1985).

Three species on the islands of Central America at the elevation of 150 to 800 m a. s. l.

Key for species of *Anopteris*

1. Frond lax, spreading, 3–5-pinnatisect. Ultimate segments of sterile fronds on winged stipes, scarious, narrow, pinnately divided to the middle or deeper. Rachis with scales laxly arranged throughout or in the proximal half …… 2. *A. stricta*

– Fronds erect, laminas leathery, 2–4-pinnatisect. Ultimate segments of sterile fronds on wingless stipes, coriaceous, undivided, broadly ovate to ovate-lanceolate, margin dentate to crenate. Scales developed at the base of rachis only 2

2. Rachis 1–1.5 times as long as the lamina. Laminas of sterile fonds 2–3-pinnatisect. Ultimate segments of fertile fonds 4–10 times longer than wide. Sterile apex of fertile segment well-developed, big ..... 1. *A. hexagona*

– Rachis 1.5–2 times as long as the lamina. Laminas of sterile fonds 3–4-pinnatisect. Ultimate segments of fertile fonds 2–6 times longer than wide. Sterile apex of fertile segment poorly developed, dentate at margin (often in case of incomplete frond dimorphism), or absent (usually in case of complete frond dimorphism) ……... 3. *A. intermedia*

1. *A. hexagona* (L.) C. Chr., 1905, Ind. Fil.: 59; Proctor, 1985, Ferns Jamaica: 264. – *Pteris heterophylla* L. 1759, Syst. Nat. ed. 10, 2: 1322. – *Allosorus heterophyllus* (L.) Bernh. 1806, Neues Journ. Bot. (Schrad.) 1 (2): 36. – *Cryptogramma heterophylla* (L.) Prantl, 1882, in Engl. Bot. Jahrb. 3: 414. – *Onychium heterophyllum* (L.) Kuhn ex Krug, 1897, in Engl. Bot. Jahrb. 24: 98. – *Anopteris heterophylla* (L.) Diels, 1902, in Engler and Prantl, Nat. Pflanzenfam. 1 (4): 289. – *Pteris hexagona* (L.) Proctor, 1953, in Bull. Inst. Jamaica, Sci. Ser. 5: 53. – *Anopteris hexagona* var. *simplicior* Morton, 1962, Amer. Fern Journ. 52, 4: 148; Proctor, 1985, Ferns of Jamaica: 266. – *Anopteris hexagona* var. *hexagona* Proctor, 1985, Ferns of Jamaica : 266. – *Adiantum hexagonum* L. 1753, Sp. Pl. 2: 1097.

Described from Haiti isl.

Typus: "Petiver, Pter. Amer. t. 10, fig. 2, redrawn (one frond only) from Plumier, Tr. Foug. t. 37, in turn based on a plant from near Anses a Pitre, district of Leogane, Haiti" (Proctor, 1985, Fig. 1).

Calcareous slopes, rock crevices.

Distrib.: Jamaica isl.: Hort Kew, 1857; West Indies №392; Jamaica, Ugly River, W. Harris, №7425, 8.10.'98; H. Kew "Lph", 1865; Menderille, Jamaica, №84; Jamaica, E herba horti Botan. Jamaica, a. 1890, mis Duss.; Jamaica, …, …, №4925, … Angnstin 1858, Antill, 4.0, H. Bersh, 54; Kew, Ankauf von Renate Lange, 4.10.1960, 1887, №79; Jamaica, №77; Jamaique, Deep woods, Hollymount, 3.7.16, №436; Mone. Jamaique, april 1920, …; Jamaica, Bath fountain, Mar 5 1900, №284, altitude 400ft; Jamaica, №717, Herb. Brandford; Jamaica, Hartford and adjoining propertles, near Priestman's River, altitude 75–300 meters, wel rocks in rarine, №2547, W.R. Maxon, June 9 1904; On wel "ohrded" rocks, №763, W.R. Maxon, April 8, 1903; Jamaica, Consul Ebbeke, Prof. Binthenan comm., 1885; Jamaique, Aug 6 Lewis, 2 1860; dela Jamaique, acritura das wartz, 1830; Fern Gully, Island of Jamaica, West Indies, March 19 1897, J.R. Churchill; Jamaica, West Indies, March 1858, №392; Jamaica, Spur of Crow Mounntains opposite Mill Bank, Portland, in deep forest, altitude 450–625 meters, №9370, W.R. Maxon, June 18, 1926; Jamaica, West Indies, №392; Jamaica, Dec 1890, A.S. Hitchcock s.n.; Jamaica, March 19, 1897, J.R. Churchill s.n.; Jamaica, 600 f, Mar 5, 1900, Willard N. Clute 284; Jamaica, 1886, JP s.n.; Jamaica, March 1895, B.D. Gilbert s.n.; Jamaica, Jan 1, 1929, C.R. Orcutt 7697; Jamaica, July 31, 1932, T.S. Johnson s.n.; Jamaica, July 1891, Anonymous s.n.; Jamaica, Anonymous s.n.; Jamaica Portland, 1500 f, 27 July 1963, M.R. Crosby, H.A. Hespenheide a. W.R. Anderson 970; Jamaica Portland, 2500 f, January 8–10, 1951, George R. Proctor 5212; Jamaica Portland, 450–625 m, June 18, 1926, William R. Maxon 9370; Jamaica Portland, April 16, 1950, George R. Proctor 4277; Jamaica Trelawny, March 6, 1950, George R. Proctor 4117; Jamaica Hanover, 1500–1700 f, 11 April 1955, George R. Proctor 10023; Jamaica Trelawny, December 30, 1949, George R. Proctor 3827; Mt. Ridgway Road. Windsor, Parish of Trelawny; altitude 100 to 150 meters. №1557. Gerrit S. Miller, Coll. April 9, 1931; Lemestone rocks, in thin shade. Fern Gully, St. Ann; altitude 200–300 meters. №10375. William R. Maxon, Coll.; Haiti isl.: Haiti, Vicinity of Mi..ion, Fonds Varettes, altitude about 1000 meters, Dump shaded …, №3777, Leonard, 27.4.1922; Haiti, Vicinity of Mi..ion, Fonds Varettes, altitude about 1000 meters, Rid "iliclad", Leonard,

№4013, 27.4.1922; Haiti, Damp rocks, №3761, Leonard, 27.4.1922; Dominican Republic Pedernales, 3900 f, 18°09'N 071°38'W, September 18, 1981, T. Zanoni, M. Mejia 16719; Haiti, 1900 m, 18°20'N 072°16'W, Nov 21, 1982, T. Zanoni, M. Mejia a. J. Pimentel 24546; Vicinity of Mission, Fonds Varettes; altitude about 1000 meters and above. №4011. E.C. Leonard, Collector. April 17–May 4, 1920; Cuba: Cuba, Santjago de la Vegas, 5.1905. …F. Baker; Cuba Guantanamo, 330 m, 17 Jun 1997, F.S. Axelrod, J. Ackerman, M. Diaz a. B. Zabala 10336; Bermuda isl.: Bermuda, Mr. Moseley, Challenger Expedition, Recd. Aug. 1873) (Pl. fil. t 34, slow. h. it. 34, Habitat in "antillir", 4; Bermuda, March 1877, G. Browngoode 2001; Bermuda, 1880, Farlow s.n. – Gen. distr.: Central America, Bermuda isl.

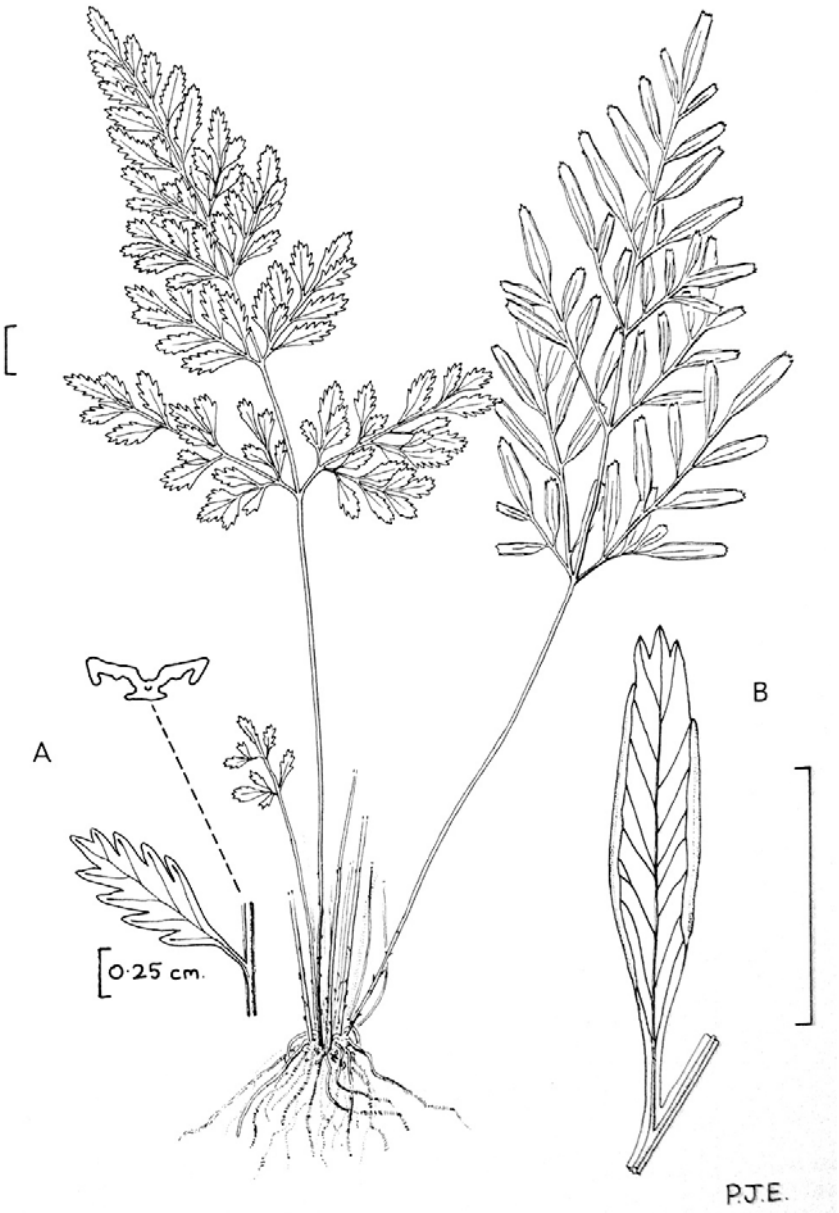


Fig. 1. Type of *Anopteris hexagona* (L.) C. Chr. (f. 68. From Proctor, 1985)

2. *A. stricta* (Kunze) A. Vaganov et Shmakov, 2010, Turczaninowia, T. 13 (1): 9; Kummerle, 1930, Amer. Fern Journ. 20 (4): 137. – *Onychium multifidum* Fee, 1857, Mem. Foug. 8: 74. – *Anopteris hexagona* subsp. *multifida* (Fee) Morton, 1957, Bull. Jard. Bot. Etat 27: 584. – *Onychium strictum* Kunze. 1848, in Schkuhr's Fil. Suppl. 2 ; 11.

Described from Cuba isl.

Isotypus: "Cuba, Prov. de Sant Yago, Mt. Liban., 6000', J. Linden, №1870, May 1844" (K, photo LE!, Fig. 2).

Rock crevices, slopes.

Distrib.: Haiti isl.: Haiti, in moutibas ad "Meru gouns pospe Pay. in praerup ….", 1891, "Picardu", №199; Haiti, pr Kze is del … Payaur, 100 m, …, 1891, №1894; Hispaniola, Civ. Haiti, Maruf de la Holle, western group, Camp Perrin northern slope of M. Vandervelde, in Jardins Crutard, limestone gerill, chady plare, ca 800 m, 2.12.1921, E.L. Ekman, №5231; Ind. Occ. Ins. Hispaniola, civ. Haiti, Dep. du Sud. Morne de la Hofa in declier sopt.-orient in sylvis montain, c. 800 m.s.m., in supibus, 2.6.1917, E.L. Ekman, №177; Hispaniola, Civ. Haiti, Manif de la Hotte, dr. Morne Rochelois, Miragoane, limestone irag at Kuatre-Cheming, 1000 m, 17.7.1927, E.L. Ekman, №8607; Haiti, "Rosine Guitte de … pr. Peyan, Hauteurs de Miragoane, Yan 1891, Pirarda, №199; Hispaniola, Civ. Haiti, Manif de la Selle, gr. Mote des Gommissaires, Grand-Gosier at Sourde - Rouille shaded limestone, 820 m, 8.9.1926, E.L. Ekman, №6836;

Puerto Rico isl.: Puerto Rico, Rio Abajo state forest, Along hwy, 621, near and of asphalt road, 18°19'N, 66°40'W, elev. 360–390 m, Eplpetric, 2 Aprill 1985, Thomas B., Croat 60885; Areribo, in sybvis, 28.2.1887, det. M. Kuhn, №6331; Sto. Domingo austr. prope Barahona, 1912, Padre Miguel Fuertes, №1395b; Sto. Domingo austr. prope Barahoma, 4.1912, Filipines 850 …, Padre Miguel Fuertes, №1519; "Juria de Lares in huruides rybr frein area Yuajataca adrupes", 16.2.1887, Kuhr, №6250; Prope Arecibr in sylva prunaeva ad rupes calcareas, 28.2.1887, Kuhn, №6331; Prope Uluadr in sylva prunaeva ad rupes calcareas, 23.3.1887, №6580; Sierra de Lares in humides sylvae prunaevae circa Guajataca ad rupes, rara, 16.2.1887, №6250; Areribo, in sylvis, 28.2.1887, M. Kuhn, 6331; Sierra de Lares, in sylva ad Guajataca, 16.2.1887, M. Kuhn, №6250; Flora porforiceutis, Sierra de Lares, in humides sylvac primacoac, 16.2.1887, Sinteuis; Utuadr, in sylva primaelva, 23.3.1887, M. Kuhn, №6580; Puerto Rico, 360–390 m, 18°19'N 066°40'W, 2 April 1985, Thomas B. Croat 60885; Puerto Rico, 150–200 m, 23 Jun 1993, F. Axelrod a. L. Sanchez 6508; Puerto Rico, 300 m, 18°20'N 066°41'W, 18 Oct 1995, F.S. Axelrod 9269; Municipio Utuado, Rio Abajo State Forest, ca. 1.6 km WSW of Campamento Crozier, ca. 1–1.5 mi. S along trail from Rt. 621. Lemistone sink holes in rich mixed forest. Coll. Z.R. Wang, A.M. Evans, G.R. Proctor and R. Rivero. №91069. Apr 5, 1991. Cuba: Cuba, "Lans del Juqucy", 700 m, 0,7 m alt. "su … hibus", №4931, Mart 1889; Cuba, C. Wright, 1865, no.814; Cuba, Loma del Juqucy, 700 m, 0,3 m alt. Juter saxa", Marz 1889, №4917; Cuba, Yateres Oricute, Joscphina 575 m, Maxon, 4.07; Cuba Oriental, prope vllam Monte Verde dietam, Jan.-Jul. 1859; C. Wright, №858; Cuba, Linden, 1843–4, №1840; S' Yago de Cuba, 1844, Linden, №1870; Cuba, Loma del jaqucy 600 m, 0.3 alt. "leraboribus mortus", Mart 1889, №4931; Cuba, C. 98, Kze, №814, C. Wright, 1865; Cuba, L.M. Underwood and F.S. Earle, March 1903, №954; Cuba, L.M. Underwood and F.S. Earle, March 1903, №1053; Cuba, Yateras Oriente Josephina 575 m., 4.1907, Maxon; La Perla, 600 m, Jullie 1919, №2471; Slopes and summit of El Yunque, near Baracoa, Altitude 1000 to 2000 feet, C.L. Pollard, W. Palmer, January 30–31, 1902, №116; Josephina, north of Jaguey, Yateras, Oriente, altitude about 575 meters, Cuba, Yateras Oriente Josephina 575 m, 4.1907, Maxon, №4110. – Gen. distr.: Central America.

Fig. 2. Isotype of *Anopteris stricta* (Kunze) A. Vaganov et Shmakov (K)

Fig. 3. Holotype of *Anopteris intermedia* (Morton) A. Vaganov et Shmakov (US)

3. *A. intermedia* (Morton) A. Vaganov et. Shmakov, 2010, Turczaninowia, T. 13 (1): 10. – *Anopteris hexagona* subsp. *intermedia* Morton, 1957, Bull. Jard. Bot. Etat 27: 583.

Holotypus: «Haiti, Bodarie to Thiete, Hispaniola Island, 800–1000 m., 22 Nov 1944, L.R. Holdridge» (US, Fig. 3).

Rock crevices, slopes.

Distrib.: Haiti isl.: Heiti, "Tlanrs du Mirne trnshant 1700 m, Borts du chemin", 8 Aout, "Dira..."№745; Haiti, Telice, Morne tranchaut, schattige Schlucht, 1600 m, 50–70 .. hoch, №1961; Haiti, Picarda, In dechisibus montis Morne Tranchaut ad oriam, alt. 1600–1700 m, 8.8.1891, №745; Prov. Barahona ad Las Filipinas 830 m alt., Padre Miguel Fuertes, 1912, №1519. – Gen. distr.: Central America.

References

Christenhusz, M.J.M., Zhang, X.-C., Schneider, H., 2011. A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. Phytotaxa 19, 7–54.

Diels, L., 1902. Polypodiaceae. In: Engler, A., Plantl, K. (eds). Die naturlichen Pflanzenfamilien 1, 4. W. Engelmann, Leipzig.

Kummerle, J.B., 1930. Has the Genus *Onychium* any representative in South America. Am. Fern J. 20(4), 129–138.

Kuznetsov, A.A., Vaganov, A.V., Gureyeva, I.I., Shmakov, A.I., 2013. Morfologija spor paporotnikov semejstva Cryptogrammaceae i blizkih k nemu rodov [Spore morphology of

the Cryptogrammaceae ferns and allied genera]. Barnaul University Press, Barnaul (in Russian).
Kuznetzov, A.A., Vaganov, A.V., Skapcov, M.V., Erst, A.S., 2014. A comparative study of spore morphology of some Pteridoideae subfamily genera. Biosciences Biotechnology Research Asia 11, 17–25.
Morton, C.V., 1962. Taxonomic notes on ferns, 3. Am. Fern J. 52(4), 148–150.
Morton, C.V., 1957. The fern genus *Anopteris*. Du Jardin Botanique National de Belgique 27, 579–584.
Prantl, K., 1882. Die Farngattungen Cryptogramme und Pellaea. Separal-Abdruck aus Botanischen Jahrbuchern 3. Band. 5. Leipzig. P. 403–430.
Proctor, G.R., 1985. Subfamily Pteridoideae. In: Ferns of Jamaica. A guide to the Pteridophytes. British Museum (Natural History). P. 264–283.
Schuettpelz, E., Schneider, H., Huiet, L., Windham, M.D., Pryer, K.M., 2007. A molecular phylogeny of the fern family Pteridaceae: Assessing overall relationships and the affinities of previously unsampled genera. Mol. Phylogenet. Evol. 44, 1172–1185.
Smith, A.R., Kathleen, M.P., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H., Wolf, P.G., 2006. A classification for extant ferns. Taxon 55(3), 705–731.
Vaganov, A.V., Shalimov, A.P., Shaulo, D.N., 2014. Morfologija spor nekotoryh predstavitelej podsemejstva Pteridoideae semejstva Pteridaceae [Spore morphology of some representatives of Pteridaceae subfam. Pteridoideae]. Plant Life of Asian Russia 14, 29–36 (in Russian).
Vaganov, A.V., Kuznetsov, A.A., Shmakov, A.I., 2010. Taksonomicheskaja revizija roda Anopteris (Prantl) Diels (Cryptogrammaceae) [Taxonomic revision of the genus *Anopteris* (Prantl) Diels (Cryptogrammaceae)]. Turczaninowia 13(1), 5–13 (in Russian).

Надійшла до редколегії 25.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 501–511.

doi:10.15421/011668

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 504.06+504.73.03:574.47+592:630.22

Антропогенні зміни екологічних умов фітоценозів долин середніх річок України (на прикладі притоки Дніпра – р. Тясмин)

В.В. Лавров[1], О.І. Блінкова[2, 3], Н.В. Мірошник[2], Т.О. Грабовська[1]

[1]*Білоцерківський національний аграрний університет, Біла Церква, Україна*
[2]*Інститут еволюційної екології НАН України, Київ, Україна*
[3]*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна*

Охарактеризовано наслідки тривалого впливу комплексу негативних чинників природокористування на екологічні системи басейнів і долин річок. Ця проблема має надгалузевий, а іноді й міжнародний рівень і значну кількість джерел екологічних загроз, особливо в урбанізованих і промислових регіонах. Річка Тясмин впадає в надто трансформовану Ірдино-Тясминську низину, що за часів останнього зледеніння була середньою частиною правого рукава стародавнього Дніпра. Зарегулювання та забруднення стоку Тясмину, створення Кременчуцького водосховища, пасовищне та рекреаційне навантаження призвели до загрози деградації річки. Особливості зміни екотопів долини річки показано через систематичну, біоморфологічну, екоморфічну структури трав'яного покриву, співвідношення екологічних груп та зміну типу екологічної стратегії видів, фіторізноманіття. Виявлено 89 видів судинних рослин. Найбільше представлені родини Asteraceae, Poaceae та Lamiaceae. Біоморфологічний спектр фіторізноманіття долини характеризується високою часткою адвентивних і рудеральних видів, порушено співвідношення ценоморф. Виявлено збіднення флористичного складу, формування монодомінантних угруповань у середній частині долини. Узагальнена міра фіторізноманіття максимальна у найвіддаленішій від гирла чистині долини, нижча – у пригирловому низов'ї, найнижча – у зоні пасовищної та рекреаційної дигресії. За спектром життєвих форм переважають багаторічні гемікриптофіти та терофіти. За структурами надземних пагонів і розміщенням листків домінують безрозеткові трав'яні рослини, підземних пагонів – рослини, які не мають спеціалізованих видозмін. Майже скрізь превалюють гігромезофіти та мезофіти. З віддаленням від гирла річки зменшується частка гідрофітів, субгідрофітів та збільшується субмезофітів. Зміни ацидоморф і нітроморф не виявлено. Домінують семієвтрофи, види перехідних груп екологічних стратегій (CR, CS, CRS), геміевритопи та гемістенотопи. Витісняються патієнти. Рослинний покрив середньої та нижньої течії р. Тясмин деградує на рівні II–IV стадій антропогенної трансформації.

Ключові слова: рослинність; екоморфа; біоморфа; фіторізноманіття; фітоіндикація; трансформація

Anthropogenic changes in environmental conditions of phytocoenoses on the middle-sized Ukrainian river valleys (based on the example of the River Tyasmyn – a tributary of the Dnieper)

V.V. Lavrov[1], O.I. Blinkova[2, 3], N.V. Miroshnyk[2], T.O. Grabovska[1]

[1]*Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine*
[2]*Institute for Evolutionary Ecology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine*
[3]*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

The problem of anthropogenic degradation of rivers is usually marked by its multi-sectoral and often international character as well by the large number of sources of environmental threat. Therefore, its solution requires a systematic approach based on transparent and coordi-

Білоцерківський національний аграрний університет, Соборна площа, 8/1, Біла Церква, 09100, Україна
Bila Tserkva National Agrarian University, 8/1, Cathedral Square, Bila Tserkva, 09100, Ukraine
Інститут еволюційної екології НАН України, вул. Акад. Лебедєва, 37, Київ, 03143, Україна
Institute for Evolutionary Ecology, NAS of Ukraine, Lebedev Str., 37, Kyiv, 03143, Ukraine
Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Heroyiv Oborony Str., 15, Kyiv, 03041, Ukraine
Tel:+38-063-741-32-47. E-mail: elena.blinkova@gmail.com

nated interagency and international cooperation. The River Dnieper in Ukraine has undergone a remarkable transformation as a result of the construction of a cascade of reservoirs. Anthropogenic damage to the plants and soil that cover its basin have caused damage to the functioning of ecological regimes of the Dnieper's tributaries. Small and middle-sized rivers are dying. In this article, attention is paid to a typical middle-sized (164 km) river of the Dnieper Basin, the Tyasmyn. Its middle and lower parts are located in the overtransformed Irdyn-Tyasmyn valley. During the last glaciation it formed the central part of the right arm of the ancient Dnieper. Regulation of the Tyasmyn runoff, pollution, the creation of the Kremenchug reservoir on the Dnieper, grazing and recreational load have led to the threat of the river degrading. Therefore, the aim of this article is to characterize the structure of the herbaceous vegetation in the central and lower parts of the Tyasmyn valley and assess the level of its dependence on anthropogenic changes in the conditions of the ecotypes. The methods used are: retrospective and system analysis, comparative ecology (ecological profile or transect), botanic methods, phytoindication, the mapping method and mathematical statistics. The features of changes in environmental conditions of ecotypes of the river valley have been shown through systematic, biomorphological, ecomorphic structure of the herbaceous cover, the ratio of ecological groups and changes in types of ecological strategy of species, phytodiversity. We found 89 species of vascular plants. The most diverse families were Asteraceae, Poaceae and Lamiaceae. The biomorphological range of phytodiversity of the Tyasmyn valley is characterized by a high proportion of adventive and ruderal species, dominance of vegetative mobile species and disturbed distribution of all spectrum types for coenotic morphs. Depletion of the floristic composition and formation of monodominant groups in the middle of the valley were found. The overall measure of phytodiversity reached its maximum in the areas furthest from the mouth of the valley, lower towards the valley mouth and lowest in the area of pasture and recreational digression. Perennial hemicryptophytes and therophytes dominate the spectrum of life forms. Herbaceous plants without rosettes prevailed in the structure of above ground shoots and placement of leaves, while plants without special adaptations prevail in the structure of underground shoots. In the hydromorph structure with increasing distance from the mouth of the river there is a tendency for the share of hydrophytes, subhydrophytes to fall and, conversely, that of submesophytes to increase. Hygromesophytes and mesophytes prevail almost everywhere. Changes in the acidomorphic and nitromorphic structure of plants were not found. Semieutrophes, hemieurytopic, hemistenotopic plants and types of transitional groups of ecological strategies, including CR-, CS-, and CRS-strategies prevail. Vegetation of middle and lower flow of the river Tyasmyn degrades at stages II–IV of anthropogenic transformation.

Keywords: vegetation; ecomorph; biomorph; phytodiversity; phytoindication; transformation

Вступ

Антропогенний вплив на природні екосистеми, зокрема, річкові, останніми десятиліттями у багатьох країнах набуває все більшого масштабу, інтенсивнішого характеру, часто стає визначальним чинником їх існування (Dubyna et al., 2009; Bomanowska and Kiedrzyński, 2011; Moroz et al., 2011; Woziwoda and Michalska-Hejduk, 2011; Strohbach, 2013; Rahmonov, 2014). В Україні значні за масштабами та глибиною зміни екосистем долин річок викликали програми 1960-х рр. з осушувальної меліорації земель, створення водосховищ та інших штучних водойм, торфорозробки тощо. Певне занедбання цих меліоративних систем і водойм останніми десятиліттями лише збільшило кількість негараздів. Надто поширена трансформація водозборів зазвичай спричинює порушення гідрологічного та інших режимів функціонування річок, значні перебудови структури гідрологічних та суміжних екосистем їх заплав, поступове їх перетворення на керовані людиною екосистеми. Забруднення, руйнування ґрунтового та рослинного покриву, фрагментація місць існування видів спричинюють порушення природних потоків речовини, енергії та інформації, спрощення організації, зниження продуктивності та стійкості зазначених екосистем (Lavrov, 1994; Fedorchenko and Brygadyrenko, 2008; Bomanowska and Kiedrzyński, 2011; Trabą and Wolanski, 2011; Krawczyk, 2012; Strohbach, 2013; Blinkova, 2014; Kiedrzyński et al., 2014). Актуальні в цьому контексті дослідження трав'яного покриву річкових долин, який одним із перших реагує на зміни екологічних умов і здатний доволі інформативно відображати їх зміст (Didukh, 1994; Woziwoda and Michalska-Hejduk, 2011; Yang et al., 2012, 2014; Czarnecka and Franczak, 2015). Розподіл за екологічними групами видів трав'яного ярусу річкових екосистем визначається природними ґрунтовими та геоморфологічними чинниками, а також антропогенними, вирішальний із них – вид землекористування та зміна рівня ґрунтових вод у результаті регулювання річкового стоку (Johnson et al., 2012; Krawczyk, 2012; Strohbach, 2013). За антропогенного впливу на річкові екосистеми у минулому показано стан рослинності долин річок за ступенем гемеробії, спектром життєвих форм, екологічною стратегією, екологічною толерантністю видів тощо (Trabą and Wolanski, 2011; Kiedrzyński et al., 2014; Rahmonov, 2014; Stępień, 2016).

Попри численні дослідження антропогенних змін екологічних умов долин річок України та програми заходів із регулювання цього негативного впливу, досі проблема залишається не розв'язаною. У Черкаській області показовим об'єктом негативних наслідків діяльності людини є долина р. Тясмин між м. Черкаси та м. Чигирин (Buksha, 1989; Red'ko and Shlapak, 1991; Lavrov, 1994; Yakubenko and Grygoryuk, 2009). Екологічні умови річкової долини та, відповідно, трав'яна рослинність зазнали в минулому значної трансформації через осушення земель, торфорозробку, тривале випасання худоби, знелісення та ерозію придолинних схилів, створення у 1961–1965 рр. Кременчуцького водосховища; у наш час – через рекреацію, порушення русла та скиди забрудненої води. Відомості про лісову та степову рослинність цього району, а також лучні та болотні фітоценози долини р. Тясмин наведено у працях багатьох науковців (Janovskij, 1915; Zerov, 1924; Kleopov, 1928, 1929, 1935; Sytenko, 1974; Buksha, 1989; Shlapak and Logvynenko, 1999). Охарактеризовано історію залісення борових терас річки та антропогенну деградацію лісів і ландшафтів цього району (Lavrov, 1991, 1994; Red'ko and Shlapak, 1991; Chemerys, 2007; Miroshnyk, 2010). Проведено дослідження сучасного стану заплавних торф'янистих луків р. Тясмин в екологічних умовах Черкаської області (Yakubenko and Grygoryuk, 2009). Проте досі не здійснено системного узагальнення наявних даних щодо антропогенних змін долини річки та її рослинності. Мета цієї статті – охарактеризувати структуру трав'яної рослинності середньої та нижньої частин долини р. Тясмин, встановити її залежність від антропогенних змін умов екотопів.

Матеріал і методи досліджень

Басейн р. Тясмин, правої притоки Дніпра, розташований у південній частині Лісостепової зони України та характеризується помірно-континентальним кліматом. Територія дослідження належить до Черкасько-Чигиринського та Єлизаветградсько-Онуфріївського геоботанічних районів, Середньо-Придніпровської та Лівобережно-Придніпровської підпровінції Східноєвропейської провінції (Barbarich, 1977). За нормами України, це середня річка: довжина водної артерії становить 164 км, площа басейну – 4 730 км^2, значна частина якої припадає на заплаву. Рельєф розчленований інтенсивною ерозією льодовикових і сучасних поверхневих вод. Після м. Сміла річка впадає в сучасну Ірдино-Тясминську низину, яка за часів останнього зледеніння була правим рукавом давнього Дніпра, про що свідчить зрізаний ярами високий берег, який тягнеться нині уже суходолом від м. Канів до м. Чигирин, та Мошногірський кряж (рис. 1).

Між двома руслами Дніпра на 130 км розташовувався острів Артанія, шириною 30 км (Janovskij, 1915; Red'ko and Shlapak, 1991). Нині в Дніпровсько-Тясминській алювіальній рівнині розміщується долина середньої та нижньої течії Тясмину, в якій виділяється заплава шириною до 1,0–1,5 км, перша та друга надзаплавні тераси (Barbarich, 1977; Shlapak and Logvynenko, 1999). У заплаві сформувалися лучні, лучно-болотні та болотні ґрунти, лише подекуди трапляються легко засолені лучні та лучно-болотні ґрунти. Нижче м. Сміла заплава осушена. Складні геоморфологічні, кліматичні та ґрунтові умови середньої та нижньої частин басейну р. Тясмин відбилися на формуванні рослинного покриву. Лісові насадження тут займають близько 40% площі долини, лучні угіддя – 6%, болота – до 12%. Схили корінного берега долини та перша надзаплавна тераса вкриті переважно сосновими, дубово-сосновими, дубовими та грабово-дубовими лісами. У заплаві невеликі площі займають також вільшаники та чагарникові зарості *Salix triandra* L. та *S. cinerea* L. (Sytenko, 1974; Shlapak and Logvynenko, 1999). Річка Тясмин заповнюється повеневими водами на 3–4 тижні, які місцями через низькі береги тривалий час застоюються та живлять низинні щучникові, мятличникові та осокові угруповання (Yakubenko and Grygoryuk, 2009).

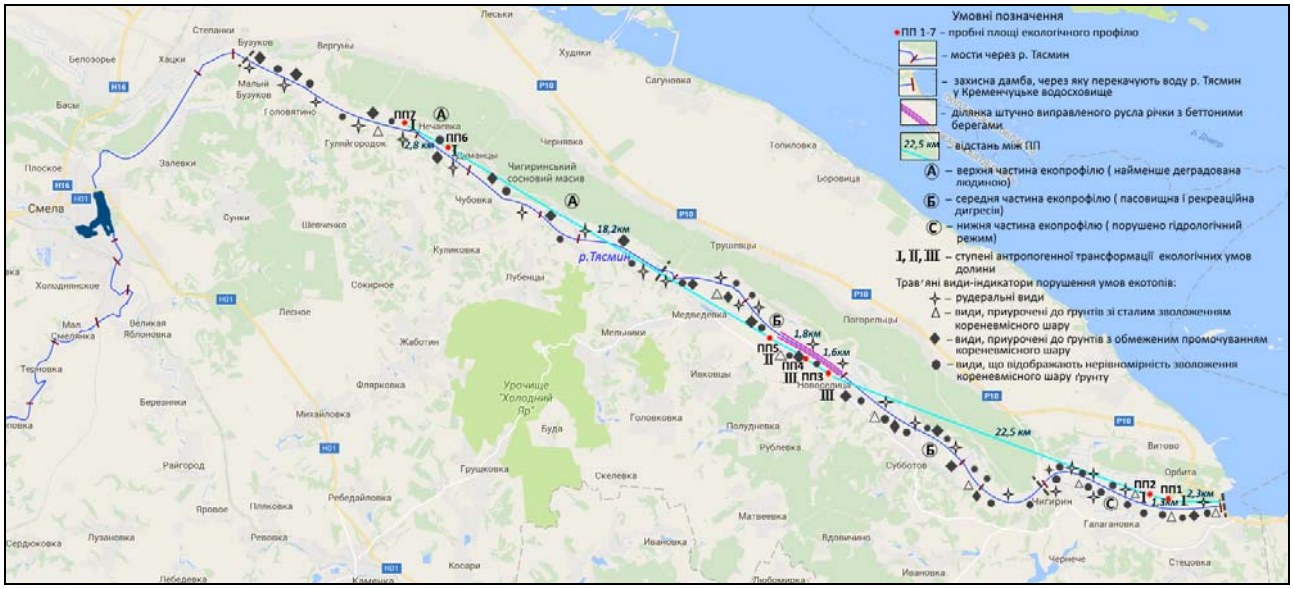


Рис. 1. Схема екологічного профілю в Ірдино-Тясминській долині та ступінь антропогенної трансформації екотопів: I – слабкий, II – середній, III – сильний

Для дослідження обрано ту частину долини р. Тясмин, яка розташована в найбільш антропогенно деградованій Ірдино-Тясминській низині, що в минулому була правим рукавом давнього Дніпра – від с. Бузуков (південніше м. Черкаси) до гирла річки (с. Орбіта на схід від м. Чигирин) (рис. 1). Ретроспективний аналіз літератури, картографічні дані та власні польові обстеження показали, що на екосистеми середньої та нижньої течії річки, у тому числі на трав'яну рослинність її долини істотно вплинули в минулому осушення ґрунтів, розорювання прибережних територій, випасання худоби та скошування трави, рекреація. Проте найбільшу зміну екологічних умов, насамперед гідрологічного режиму річкової долини, спричинило створення у 1961–1965 рр. Кременчуцького водосховища.

У гирлі р. Тясмин споруджено захисну дамбу з насосною станцією, потужністю 85 м^3/с, що перекачує його воду у водосховище, в якому рівень води на 5–6 м вищий. Амплітуда коливання рівня ґрунтових вод у прибережній зоні водосховища зросла до 5 м, тому заплава р. Тясмин частково періодично затоплюється його водами (Buksha, 1989). Стік Тясмину зарегульований ставками, що мають шлюзи-регулятори. Вода з річки використовується на потреби технічного водопостачання (Смілянське водосховище), зрошування (найбільше в нижній течії, поблизу м. Чигирин і с. Суботів) та рибництва. На берегах облаштовані місця відпочинку. Частину меандруючого русла річки (понад 3 км) поблизу с. Новоселиця випрямили, вирівши штучне русло та покривши береги бетонними плитами. Загалом тривале та недостатньо врегульоване використання природних ресурсів басейну річки, її забруднення та фізичне порушення спричинили її прискорену деградацію, особливо після 2010 року. Ймовірно, що зазначені чинники пору-

шили гідрологічний та інші екологічні режими долини річки, що мало відбитися на структурі, стані та розвитку її трав'яної рослинності.

За принципами порівняльної екології та фітоіндикації у першій та другій декадах липня 2012 р. закладено екологічний профіль (екопрофіль) довжиною 48,2 км за картографічно та візуально визначеним градієнтом антропогенної дигресії (рис. 1). Екопрофіль складається із семи пробних площ (ПП), закладених на різній відстані від захисної дамби, що на березі водосховища, тобто від гирла річки до її входу в Ірдино-Тясминську низину: у нижній з підтопленнями частині долини річки (ПП1, ПП2; ділянка С); найбільш рекреаційно, пасовищно та інженерно (випрямлене русло) трансформованій середній частині (ПП3–ПП5; ділянка В); та верхній, менше зміненій частині досліджуваної території (ПП6, ПП7; ділянка А). Усі ПП розташовані на місці раніше осушених та вилучених з активного використання луків, що стали пасовищами: ПП1 (49.063285; 32.757336) та ПП2 (49.068598; 32.749316) – на лівому березі південніше с. Орбіта, відповідно 2,3 і 3,6 км від гирла Тясмину (захисної дамби), поруч із берегозахисними лісосмугами з *Populus nigra* L. та *Acer saccharum* Marsh, відстань до річки 12,5 м; ПП3 (49.139106; 32.498994; 26,1 км від дамби), ПП4 (49.153053; 32.456952; 27,7 км) та ПП5 (49.163298; 32.432232; 29,5 км) – на правому березі між с. Медведівка та с. Новоселиця, відстань до річки 17,5 м; ПП6 (49.260888; 32.175679; 47,7 км) та ПП7 (49.274593; 32.122121; 50,5 км від дамби) розташовані поблизу с. Нечаївка, відстань до річки 7,5 м.

Польові дослідження на екопрофілі проводили за допомогою загальноприйнятих в екології та ботаніці методів (Bel'gard, 1950; Vorob'ev, 1967; Neshataev, 1987; Didukh, 1994; Mirkin et al., 2001). Види рослин визначали за (Dobrochaeva et al., 1999). Латинські назви таксонів рослинності наведені за (Mosyakin and Fedoronchuk, 1999). Назви родин вказані за системою А. Тахтаджяна (Takhtajan, 2009). Біоморфологічна структура наведена за І.Г. Серебряковим (Serebrjakov, 1962). Екоморфічний аналіз здійснювали за (Bel'gard, 1950; Tarasov, 2005) з доповненнями за «Екофлора України» (Didukh, 2000, 2002, 2004, 2007). Типи екологічних стратегій описували за схемою Раменського–Грайма (Ramenskii, 1971; Grime, 1977; Didukh, 2000, 2002, 2004, 2007). Зміну екологічних умов виявляли за екологічною структурою трав'яного ярусу, використовуючи відповідні шкали (Didukh, 1994). Життєві форми рослин наведено за Раункієром (Raunkiaer, 1934; Mirkin et al., 2001). Проективне покриття видів оцінювали за шкалою Б.М. Міркіна (Mirkin et al., 2001).

Ступінь антропогенної трансформації екотопів на досліджених ПП характеризували як I – слабкий, II – середній, III – сильний. Індекс адвентизації встановлювали як частку у відсотках заносних видів від загальної чисельності видів на певній тестовій ділянці (Burda, 2006). Поширення трав'яних видів-індикаторів порушення умов екотопів на рисунку 1 відмітили умовно за принципом – один символ відображає 10% їх частку у складі фітоценозу території. Математичну обробку результатів досліджень здійснювали за показниками оцінювання фіторізноманіття, дотримуючись відповідних рекомендацій (Magurran, 2004):

1) індекс різноманіття Шеннона:

$$H = -\sum p_i \log_2 \rho_i \ ,$$

де p_i – частка кожного виду;

2) індекс домінування Бергера – Паркера:

$$d = \frac{N_{\max}}{N},$$

де N_{max} – кількість особин домінантного виду, N – загальна кількість особин;

3) індекс вирівняності Макінтоша:

$$U = \sqrt{\sum n_1^2} \ ,$$

$$E = \frac{N - U}{N - \frac{N}{\sqrt{S}}},$$

де U – індекс різноманіття Макінтоша, n_i – чисельність кожного виду, N – загальна кількість особин, S – загальна кількість видів.

Для просторового орієнтування, картографічного аналізу, розрахунку відстаней між об'єктами використано карти та систему позиціонування Google Earth та програму «Хкарта» (Російська Федерація).

Результати та їх обговорення

Умови розвитку рослинності досліджуваного району давно цікавлять науковців. Ще Л. Яновський (Janovskij, 1915), описуючи результати експедиції із тодішнього Петроградського лісового інституту (Росія), присвяченої «корабельним» деревостанам Черкаського бору, зазначав, що правий берег давнього русла р. Дніпро (від Канева до гирла р. Тясмин), у тому числі берег р. Тясмин, сильно порізані ярами. Позитивний вплив на екологічні умови річкової долини, вірогідно, мало залуження понад 80 км дефльованої прибережної смуги та залісення у 1930–1940-х рр. культурами *P. sylvestris* рухомих пісків борових терас лівого берега Тясмину (Чигиринської піщаної гряди), здійснене за науково-методичними рекомендаціями фахівців УкрНДІЛГА М.М. Дрюченко та Т.Т. Говорової (Dryuchenko and Hovorova, 1962). Ці насадження з'єднали існуючі на той час природні масиви сосни в районах с. Чернявка та м. Чигирин. Створений таким чином Чигиринський сосновий масив, який називають також Чигиринський або Притясминський бір, певною мірою поліпшив екологічну ситуацію цього району (Lavrov, 1991, 1994; Shlapak and Logvynenko, 1999; Chemerys, 2007). Однак із розвитком промисловості у м. Черкаси після 1960-х рр. ці ліси почали деградувати та втрачати екологічну, у тому числі ґрунтозахисну та водорегулювальну роль (Lavrov, 1994; Chemerys, 2007; Miroshnyk and Tertychna, 2016). Природна рослинність долини р. Тясмин також зазнала великих змін за впливу у 1960–1970-х рр. господарської діяльності людини. Осушено ґрунти для добування торфу в заплаві середньої та нижньої течії річки та болота Ірдинь, з'єднаного з Тясмином рікою Ірдинь. Унаслідок цього лучні та болотні фітоценози долини Тясмину перетворили на сільськогосподарські угіддя. Вирубування лісів та випасання худоби на схилах спричинили активний поверхневий змив ґрунтів у долину річки (Sytenko,

1974). Гідрологічний режим екосистеми долини Тясмина порушило створення Кременчуцького водосховища, що зумовило перекачування до нього річкової води. Крім того, у період його будівництва на землях Свидівського та Дахнівського лісництв ДП «Черкаське ЛГ» створено мережу водовідвідних каналів шириною 20 м, загальною протяжністю 32 км (Lavrov, 1994).

Наразі видовий склад трав'яної рослинності на дослідженому екопрофілі долини р. Тясмин представлений 89 видами судинних рослин, які належать до 81 роду 33 родин. У розподілі видів між класами на Liliopsida припадає 9%, на Magnoliopsida – 91%. Спектр 10 провідних родин трав'яних рослин формують: Asteraceae – 23 види, або 25,8% загальної кількості видів (на першому місці, як і в більшості голарктичних флор (Tolmachev, 1974; Zaverukha, 1985)); Poaceae, Lamiaceae – 6 видів, або 6,7%; Fabaceae та Ranunculaceae – 4 види, або 4,5%; Caryophyllaceae, Polygonaceae, Scorphulariaceae – по 3 види, або 3,4%; 11 родин містять по 2 види, або 2,2%, зокрема Brassicaceae, яка в регіональних флорах України має більшу представленість, 14 родин мають по одному виду (1,1%), серед них, як рідкісні – Iridaceae, так і типові – зокрема, Rosaceae, яка завжди численна в лісових і лучних фітоценозах. Частка перших за чисельністю 8 родин становить 58,4% (52 види) від загальної кількості видів. Родина Asteraceae (25,8%) посідає перше місце у спектрі. Така висока позиція родини характерна майже для всіх природних флор Земної кулі, у тому числі для синантропної флори України (Protopopova, 1991). На екопрофілі види цієї родини домінують на порушених місцезростаннях нижньої (ПП1, ПП2) та середньої (ПП3–ПП5) досліджуваних частин долини річки. Друге та третє місця поділяють родини Poaceae, Lamiaceae, Fabaceae та Ranunculaceae – 22,5%. В аналізі систематичної структури флори Черкасько-Чигиринського геоботанічного району інших авторів десять провідних родин мають дещо іншу участь у фітоценозі: Asteraceae (11,5%), Poaceae (8,2%), Brassicaceae (5,4%), Caryophyllaceae (5,4%), Fabaceae (5,2%), Cyperaceae (4,7%), Lamiaceae (4,5%), Scrophulariaceae (4,5%), Rosaceae (4,4%), Ranunculaceae (3,6%) (Gajova, 2015). До десятки виявлених нами провідних родин, характерних для бореальної області (Shol', 2004), не увійшла родина Apiaceae, натомість досить високе (четверте) місце посідає родина Ranunculaceae, що характерно для помірних і холодних областей Земної кулі та свідчить про тяжіння флори до північних областей (Gajova, 2015). Досліджувані нами фітоценози відрізняються низьким рангом родини Rosaceae, яка навіть не увійшла до спектра провідних родин, тоді як у флорі бореальної області та України (Shelyag-Sosonko et al., 2002) ця родина входить до п'яти перших провідних родин, що вказує на порушеність екологічних умов і рослинного покриву долини річки.

З іншого боку, як відомо, біоморфа – результат взаємодії складного комплексу зовнішніх екологічних чинників та сформованих еволюційно-генетичних, фізіологічних, біохімічних адаптацій видів (Tsaryk, 1994). Біоморфологічний спектр трав'яних рослин свідчить про особливості пристосувань рослинного покриву дослідженої території до антропогенних змін (табл. 1). За тривалістю життєвого циклу на екопрофілі переважають багаторічні трави. Однорічників найбільше у нижній частині долини (17,3–20,0% на ПП1 і ПП2; 19,0% на ПП5), найменше – на ділянках верхньої (9,4% на ПП7) та середньої частини (10,5% на ПП4). Аналіз структури надземних пагонів, як характеристики, що визначає екологічні умови місцезростань, показав, що загалом домінують безрозеткові види (65,6–80,8%), участь видів із розетковими пагонами істотно менша – 7,7–25,0% (*Lactuca serriola* L., *Taraxacum officinale* Wigg., *Cichorium intybus* L., *Plantago major* L., *P. lanceolata* L., *Alisma plantago-aquatica* L., *Butomus umbellatus* L., *Barbarea vulgaris* R. Br., *Echium vulgare* L. тощо). Види з повзучими пагонами виявилися найменш поширеними на екопрофілі (9,5–15,8%; *Hieracium pilosella* L., *Trifolium repens* L., *Vicia sepium* L., *Humulus lupulus* L., *Calystegia sepium* L., *Convolvulus arvensis* L., *Ranunculus repens* L., *Potentilla anserina* L., *Lysimachia vulgaris* L. тощо). За структурою підземних пагонів переважають кореневищні види. Натомість, домінування довгокореневищних видів (*Cichorium intybus* L., *T. officinale* Webb., *Sonchus arvensis* L., *Cirsium arvense* L., *Veronica longifolia* L., *Vicia sepium* L., *Lycopus europaeus* L., *Urtica dioica* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Phragmites australis* Cav. тощо) та наявність коренепаросткових видів (*Convolvulus arvensis* L., *Barbarea vulgaris* R. Br., *Asclepias syriaca* L. тощо) зафіксовано лише у нижній та середній частинах долини річки, що пояснюється особливостями пристосування видів до наслідків осушувальної меліорації.

Окремої уваги заслуговує також темп вегетативного розмноження (тип вегетативної рухливості рослин) як інтегральний показник ступеня стійкості виду у фітоценозі, передумови його спроможності до захвату та утримання життєвого простору (Ramenskii, 1971). На екопрофілі переважають вегетативно рухливі види 50,0–68,4%, частка вегетативно нерухливих видів (зокрема, *Xanthium strumarium* L., *Stenactis annua* (L.) Cass., *Artemisia absinthium* L., *Chenopodium album* L., *Trifolium pratense* L., *Lotus corniculatus* L., *Daucus carota* L., *Malva sylvestris* L., *Lemna minor* L. тощо) максимальна на ПП5. Такий розподіл на екопрофілі біоморф за здатністю до вегетативного розмноження свідчить про адаптацію видів до сформованих екологічних умов за антропогенного впливу.

Аналіз за клімаморфами показав, що на екопрофілі переважають гемікриптофіти та терофіти. Отримані дані збігаються з даними інших авторів щодо переважання гемікриптофітів для Черкасько-Чигиринського геоботанічного району (Gajova, 2015). Мінімальний внесок гідрофітів виявився у середній частині долини р. Тясмин (ПП3–ПП5). Представленість геофітів, навпаки, зростає з наближенням до верхньої частини долини річки (ПП6; ПП7). Частка гелофітів (*Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv, *Caltha palustris* L., *Lycopus europaeus* L., *Sium latifolium* L. тощо) коливається в межах 1,9–5,3%. Виявлені відмінності розподілу за клімаморфами у межах ПП свідчать про посилення процесів ксерофітизації в середній частині долини р. Тясмин. Розподіл за геліоморфами показав, що домінують геліофіти, максимальна частка яких зафіксована на ПП2 (96,7%). Частка сціогеліофітів коливається у межах 28,1–42,1%.

Аналіз за ценоморфами показав, що на екопрофілі домінують рудеранти (30,6–55,0%), максимальна частка яких зафіксована у середній частині долини (ПП3–ПП5),

де найбільше рекреаційне та пасовищне навантаження, натомість участь сильвантів і пратантів тут найменша. Найбільший (до 13,9%) внесок палюдантів (зокрема, *Lycopus europaeus* L., *Caltha palustris* L., *Iris pseudacorus* L. тощо) зафіксовано у низов'ї річки. Участь галофітів виявилася майже однаковою у верхній та нижній частинах долини (5,2–5,6%). Варто зауважити, що істотний розвиток адвентивних видів на екопрофілі (20 видів, 22,5%) свідчить про значну вторинну антропогенну трансформацію екотопів, яка істотно посилилася порівняно з даними 1974 р. (Sytenko, 1974). Найбільше видів адвентивної фракції об'єднує родина Asteraceae – 7 (7,9% від загальної кількості). Серед адвентів домінують північноамериканські інвазійні види – *Xanthium strumarium* L., *Cannabis ruderalis* Janisch., *Conyza canadensis* (L.) Cronquist, *Alisma plantago-aquatica* L., *Ambrosia artemisiifolia* L., *Stenactis annua* (L.) Cass., *Oenothera biennis* L., *Ceratocephala testiculata* Crantz (Roth), *Asclepias syriaca* L., *Zizania latifolia* (Griseb.) Stapf тощо. Проте показник адвентизації досліджуваної частини долини р. Тясмин не перевищує узагальнені дані щодо ценозів заплави лісостепового Дніпра (29–33%) (Protopopova, 1973), а на деяких ділянках середньої (ПП4) і нижньої (ПП2) течії річки він істотно менший і становить близько 16% (табл. 1). Серед аборигенних антропофітів найчастіше трапляються *Lactuca serriola* L., *Tanacetum vulgare* L., *Achillea millefolium* L., *Arctium lappa* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Rumex confertus* Willd., *Convolvulus arvensis* L., *Calystegia sepium* L., *Agrostemma githago* L., *Artemisia vulgaris* L., *Trifolium repens* L., *P. major* L. та інші. Отже, сучасний аналіз біоморфологічного спектра фіторізноманіття долини р. Тясмин характеризується збідненим видовим складом вихідного гігрофільного комплексу, високою участю рудерантів, зокрема, адвентивних видів, порушеним розподілом за ценоморфами.

Таблиця 1

Біо- та екоморфологічний спектр трав'яної рослинності середньої і нижньої частин долини р. Тясмин

Ознаки життєвих форм	Розподіл на екопрофілі						
	ПП1	ПП2	ПП3	ПП4	ПП5	ПП6	ПП7
	Ступінь антропогенної трансформації екотопів*						
	I	I	III	III	II	I	I
	Частка видів, %						
Тривалість життєвого циклу							
Однорічні	17,3	20,0	18,8	10,5	19,0	11,5	9,4
Дворічні	11,5	6,7	15,6	10,5	14,3	15,4	15,6
Багаторічні	71,2	73,3	65,6	79,0	66,7	73,1	75,0
Структура надземних пагонів							
Повзучі	13,5	10,0	9,4	15,8	9,5	11,5	9,4
Розеткові	17,3	13,3	21,9	10,5	14,3	7,7	25,0
Безрозеткові	69,2	76,7	68,7	73,7	76,2	80,8	65,6
Структура підземних пагонів							
Довгокореневищні	42,3	60,0	49,0	68,5	42,9	50,0	50,0
Короткокореневищні	21,2	13,3	9,1	10,5	9,5	11,5	21,9
Коренепаросткові	0	0	21,6	10,5	4,7	3,9	6,2
Без утворів	36,5	26,7	20,3	10,5	42,9	34,6	21,9
Темп вегетативного розмноження (тип вегетативної рухливості)							
Вегетативно рухливі	50,0	60,0	53,1	68,4	45,0	50,0	51,5
Вегетативно малорухливі	18,5	13,3	15,6	15,8	10,0	15,4	21,2
Вегетативно не рухливі	31,5	26,7	31,3	15,8	45,0	34,6	27,3
Клімаморфи							
Терофіти	27,8	20,0	28,1	25,8	28,2	20,8	27,3
Хамефіти	3,7	0	0	0	9,5	0	0
Гемікриптофіти	33,3	23,3	25,0	26,8	19,5	26,9	33,3
Гідрофіти	11,1	33,3	18,8	15,8	23,8	21,5	12,1
Гелофіти	1,9	3,4	3,1	5,3	0	3,8	3,0
Геофіти	22,2	20,0	25,0	26,3	19,0	27,0	24,3
Геліоморфи							
Геліофіти	62,3	67,4	71,9	57,9	73,7	65,4	62,5
Сціогеліофіти	37,7	32,6	28,1	42,1	26,3	34,6	37,5
Ценоморфи							
Галофіти	5,2	5,6	2,9	5,0	13,0	3,4	5,3
Акванти	8,6	15,0	4,1	5,0	7,4	0	5,3
Палюданти	1,7	13,9	2,9	5,0	0	0	5,3
Сильванти	15,5	8,2	2,9	15,0	8,7	20,7	15,8
Пратанти	25,9	23,9	20,0	15,0	17,4	24,1	23,5
Степанти	1,7	2,8	18,6	0	4,3	3,4	5,3
Рудеранти	41,4	30,6	48,6	55,0	49,2	48,4	39,5
у т.ч. адвентивні	20,7	13,9	22,9	15,0	17,4	17,2	21,1
Індекс адвентизації, %	23,1	16,7	25,0	15,8	19,0	19,2	25,0

Примітка: * – I – слабкий, II – середній, III – сильний ступінь антропогенної трансформації екотопів.

Змінність зволоження у заплавах річок – екологічний чинник, який істотно впливає на тривалість періоду вегетації рослин, аерацію ґрунтів, збагачення їх поживними речовинами. Антропогенне порушення гідрологічних умов долини р. Тясмин позначилося і на екоморфічній структурі трав'яного ярусу (табл. 2). З віддаленням від гирла річки серед деяких гідроморф (Hd) простежується тенденція до зменшення частки видів зі сталим зволоженням кореневмісного шару ґрунту, особливо субгідрофітів – з 19,2–20,0% (ПП1–ПП3) до 5,3–6,3% (ПП4–ПП7). Гідрофіти (*Lemna trisulca* L., *Nuphar lutea* (L.) Smith., *Z. latifolia* (Griseb.) Stapf. тощо) трапляються лише на ПП2 (6,7%) та ПП3 (3,1%). Зростає частка видів з обмеженим промочуванням кореневмісного шару, субмезофітів (*Atriplex patula* L., *E. repens* (L.) Nevski, *Carex brizoides* L., *Lycopus europaeus* L. тощо) – з 5,9–6,7% (ПП1, ПП2) до 34,6–37,5% (ПП5–ПП7). Загалом, провідна роль у цій частині долини річки належить гігромезофітам і мезофітам, серед яких превалюють гемістенотопи (61,2%) та геміевритопи (38,8%).

Таблиця 2

Розподіл видів трав'яних рослин (%) за екологічними групами

Екологічні групи	Пробні площі						
	1	2	3	4	5	6	7
Гідроморфи, Hd							
Гідрофіти	0	6,7	3,1	0	0	0	0
Субгідрофіти	19,2	20,0	19,5	5,3	15,0	0	6,3
Пергідрофіти	3,8	13,3	3,1	5,3	5,0	3,9	9,4
Гігрофіти	9,6	13,3	3,1	5,3	5,0	7,7	9,4
Гігромезофіти	28,8	23,3	18,8	36,8	25,0	26,9	12,4
Мезофіти	32,7	16,7	25,0	31,6	15,0	26,9	25,0
Субмезофіти	5,9	6,7	27,4	15,7	35,0	34,6	37,5
Змінність зволоження, fH							
Гіпергідроконстрастофоби	0	3,3	0	0	0	0	0
Гідроконтрастофоби	3,8	3,3	3,1	5,3	5,0	3,9	6,3
Гемігідроконтрастофоби	23,0	36,7	34,5	42,1	25,0	38,5	34,4
Гемігідроконтрастофіли	57,7	36,7	46,9	52,6	55,0	42,2	40,6
Гідроконтрастофіли	9,6	10,0	9,3	0	5,0	15,4	15,6
Гіпергідроконтрастофіли	5,9	10,0	6,2	0	10,0	0	3,1
Ацидоморфи, Rc							
Ацидофіли	7,8	5,5	3,1	4,7	0	3,5	0
Субацидофіли	46,1	52,5	37,5	42,9	51,5	48,3	43,8
Нейтрофіли	46,1	42,0	59,4	52,4	49,5	48,2	56,2
Узагальнений сольовий режим, Tr							
Мезотрофи	3,8	6,6	6,2	5,3	0	11,5	7,0
Семіевтрофи	42,3	50,1	37,6	52,6	38,1	50,1	35,9
Евтрофи	48,2	40,0	50,0	39,8	52,4	34,6	53,6
Субглікотрофи	3,8	3,3	3,1	2,3	9,5	3,8	3,5
Глікотрофи	1,9	0	3,1	0	0	0	0
Нітроморфи, Nt							
Субанітрофіли	3,8	3,3	0	5,5	5,2	3,0	0
Гемінітрофіли	38,4	24,1	34,3	27,8	44,2	42,4	56,3
Нітрофіли	46,2	44,8	56,3	50,0	42,1	27,3	31,2
Еунітрофіли	11,6	27,8	9,4	16,7	8,5	27,3	12,5
Аероморфи, Ae							
Субаерофіли	35,2	10,3	27,7	26,3	43,4	50,0	46,9
Геміаерофоби	20,4	13,9	20,7	31,8	35,0	19,3	28,1
Субаерофоби	27,8	31,0	31,0	26,3	4,3	23,1	12,5
Аерофоби	9,3	24,1	10,3	10,3	13,0	3,8	9,4
Мегаерофоби	7,3	20,7	10,3	5,3	4,3	3,8	3,1

Із віддаленням від гирла річки збільшується частка гідроконтрастофілів: з 9,3–10,5% до 15,6% на ПП7. Нерівномірність зволоження кореневмісного шару ґрунту найбільше виражена у нижній частині долини, де частка гемігідроконтрастофілів коливається від 36,7% (ПП2) до 57,7% (ПП1). Менший діапазон зміни їх участі у фітоценозі у середній частині екопрофілю та майже відсутні відмінності в найвіддаленіших від гирла ділянках ПП6 і ПП7. Проте тут найбільше варіює участь гідроконтрастофобів, що, можливо, пояснюється стійкішим та рівномірнішим зволоженням кореневмісного шару ґрунту у цій частині долини р. Тясмин. Лише на ПП2 виявлені гіпергідроконстрастофоби (3,3%), які, зазвичай, зростають на ґрунтах із максимальним капілярним зволоженням кореневмісного шару. Серед усіх екогруп на найтрансформованіших ділянках середини екопрофілю за широтою екологічної амплітуди переважають геміевритопи (34,5%; наприклад, *P. lanceolata* L., *Rumex confertus* Willd. тощо) та евритопи (47,2%; наприклад, *Urtica dioica* L., *Galium verum* L. тощо). Загалом аналіз екологічних амплітуд розподілу за гідроморфами та екогрупами за відношенням до змінності зволоження свідчить, що причина зміни екологічних умов заплавної тераси р. Тясмин – антропогенні чинники.

Кислотність і сольовий режим ґрунту залежать від його структури, водних властивостей, зокрема, від особливостей промивного режиму. На екопрофілі виявлено, що на всіх ПП однаковою мірою домінують субацидофіли (37,5–51,5%) та нейтрофіли (42,0–59,4%). За екологічною толерантністю превалюють гемістенотопні та геміевритопні види – серед усіх досліджених груп трофотопів за кислотним режимом. Тенденцій щодо зміни ацидоморфічного складу не виявлено. Аналіз узагальненого сольового режиму, мінералізованості ґрунту (Tr) на екопрофілі свідчить про домінування семіевтрофів (35,9–52,6%; *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Helianthus annuus* L., *Lycopus europaeus* L., *Typha latifolia* L. тощо) та евтрофів (34,6–53,6%; *Echium vulgare* L., *Lactuca serriola* Torner., *Potentilla anserina* L., *Tanacetum vulgare* L. тощо). Їх поширення зумовлене погіршенням промивного режиму ґрунту, що збільшує насиченість його солями. За екологічною валентністю щодо загального сольового режиму на екопрофілі домінують геміевритопні види (78,9%).

Важлива характеристика едафічного режиму – вміст у ґрунті доступних форм азоту. У цілому за нітратним режимом (Nt) усі ґрунти ПП належать до відносно забезпечених мінеральним азотом (0,3–0,4%). На екопрофілі превалюють гемінітрофіли та нітрофіли. Мінімальну частку складають субанітрофіли (3,0–5,5%). За екологічною валентністю домінують геміевритопи (46,2%) та гемістенотопи (34,1%), стенотопів у всіх групах нітроморф не зафіксовано. Отже, спрямованої динаміки нітратного режиму в долині річки не виявлено.

Чинники, що впливають на фізико-хімічні процеси у ґрунті та обмежують поширення багатьох видів рослин, – склад і розвиток мікрофлори, аерація ґрунту. Аналіз показав, що найпоширеніші на екопрофілі субаерофіли (рослини керованих екотопів із незначним або помірним промочуванням кореневмісного шару ґрунту), частка яких несуттєво збільшується по мірі віддалення від нижньої частини долини до 43,4–50,0% на ПП5–ПП7. Частка мегааерофобів (рослин прибережних місцезростань із мінімальною аерацією) та аерофобів (рослин, що ростуть на оглеєних ґрунтах із максимальним капілярним зволоженням кореневмісного шару) максимальна на ПП2 (відповідно 20,7% і 24,1%) та ПП3 (10,3%, 10,3%).

Приуроченість рослин до певного екотопу відображає тип їх екологічної стратегії в екосистемі (Tsaryk, 1994). Стратегія виду змінюється упродовж усього онтогенезу особини (Grime, 1977; Mirkin et al., 2001). На екопрофілі домінують види перехідних груп екологічних стратегій (рис. 2), зокрема CR-стратегії (максимальна частка яких зафіксована на найбільш трансформованих ПП3–ПП5, *Tragopogon pratensis* L., *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., *Sonchus arvensis* L., *Artemisia absinthium* L., *Saponaria officinalis* L., *Chenopodium album* L., *Malva sylvestris* L., *Carex brizoides* Juslen., *Lycopus europaeus* L., *Convolvulus arvensis* L., *Persicaria amphibia* L., *Rumex confertus* Willd. тощо) та CS-стратегії (15,8–21,1%, *Matricaria recutita* L., *Trifolium pratense* L., *Lotus corniculatus* L., *Humulus lupulus* L., *Geum urbanum* L., *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv., *Typha angustifolia* L. тощо). Серед первинних типів найбільше виявлено віолентів (12,9–15,8%; *Cirsium arvense* L., *Urtica dioica* L., *Phragmites australis* Cav., *T. latifolia* L., *Zizania latifolia* (Griseb.) Stapf. тощо) на ПП3–ПП5, що, можливо, спричинено посиленою міжвидовою конкуренцією за ресурси на цих ділянках. Частка патієнтів зменшується з 13,3% до 3,9% (наприклад, *Bidens tripartita* L., *Veronica longifolia* L., *Sium latifolium* L., *Lamium leavigatum* L., *Origanum vulgare* L., *Lemna trisulca* L. тощо) та до повної відсутності видів з цим типом стратегії на ПП3–ПП5. Експлеренти (*Carduus crispus* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronquist, *Lactuca serriola* L., *Cichorium intybus* L., *Stenactis annua* (L.) Cass., *Atriplex patula* L., *Oenothera biennis* L., *Cannabis ruderalis* Janisch, *Calystegia sepium* L., *Ceratocephala testiculata* Crantz (Roth), *Echinochloa crus-galli* L. тощо) однаковою мірою присутні на всіх ПП екопрофілю (10,5–19,2%). На більш деградованих ділянках виявлено тенденцію до збільшення частки видів зі змішаним типом стратегії (CRS) (*Achillea millefolium* L., *Trifolium repens* L., *Daucus carota* L., *Plantago major* L., *Caltha palustris* L., *Potentilla anserina* L., *Lythrum salicaria* L. тощо) з 6,7% до 15,8%. У працях інших авторів також зазначено, що саме на останніх стадіях антропогенної трансформації превалюють види з перехідними та змішаним типами стратегій (Prevosto et al., 2011; Huseinova et al., 2013).

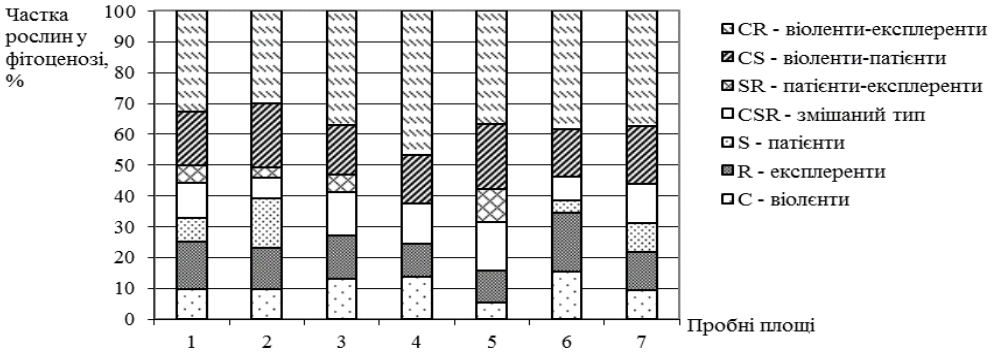


Рис. 2. Розподіл видів трав'яного ярусу на екопрофілі за типами екологічних стратегій

Антропогенні зміни екологічних умов долини річки добре відображають індекси різноманіття трав'яної рослинності (рис. 3). За індексом Бергера – Паркера, максимальне (0,35–0,44) різноманіття угруповання та найбільша участь у біоценозі адвентивних і рудеральних видів сформувалися на найбільш деградованих через випасання худоби та рекреації ділянках ПП3–ПП5. Екологічні умови на цих ділянках сприятливі лише для декількох основних видів-домінантів, зокрема, адвентивних і рудеральних, решта видів перебувають у пригніченому стані. Натомість

дані щодо спектра складності фіторізноманіття на екопрофілі як рівномірності розподілу особин за видами (вирівняність за Макінтошем) – протилежні домінуванню. За значенням індексу Шеннона як узагальненої міри фіторізноманіття виявлено, що вона максимальна (2,59) у найвіддаленішій від гирла частині долини (ПП7), дещо нижча (2,27) у пригирловому низов'ї (ПП1, ПП2), найнижча (1,70) – у зоні пасовищної та рекреаційної дигресії (ПП5).

Ретроспективний аналіз свідчить про тривалий та інтенсивний комплексний вплив діяльності людини, що спричинив деградацію досліджуваної території. Значною мірою це відбилося на структурі, стані та розвитку рослинного покриву, зокрема, трав'яної рослинності. У долині середньої та нижньої течій річки уже в 1930-х рр. майже не було заплавних луків (Kleopov, 1935). Фрагментарно траплялися лише ділянки лучних степів, які зазнавали інтенсивного випасання та перебували на різних стадіях антропогенної дигресії. Якщо в 1928 р. червонокнижний вид *Stipa capillata* L. домінував у травостої (Kleopov, 1928), у 1974 р. він поодиноко траплявся (Sytenko, 1974), то в 2012 р. ми його в нижній і середній течіях річки не виявили. Також у травостої заплавних луків ми не зафіксували вказаних у праці В.В. Ситенко (Sytenko, 1974) *Veronica incana* L. та характерних видів родів *Lolium* L., *Agrostis* L. Натомість, типового представника лучного різнотрав'я *Lysimachia nummularia* L. замінив рудерант *Lysimachia vulgaris* L. З усіх видів роду *Trifolium* L., які мали значне проективне покриття та частоту трапляння (*T. fragiferum* L., *T. hybridum* L.) (Sytenko, 1974), нами виявлено лише *T. pratense* L. та *T. repens* L. Якщо до осушення наприкінці 1950-х рр. долина р. Тясмин сягала 2–3 км, то зараз, через зменшення господарського використання земель і занедбання меліоративних систем, вона звузилася до 1,0–1,5 км, відбувається вторинне заболочення центральної та притерасної частин заплави (Yakubenko and Grygoryuk, 2009). Порівняно з даними (Shelyag-Sosonko et al., 2002; Shol', 2004; Gajova, 2015) змінилася систематична структура флори Черкасько-Чигиринського геоботанічного району.

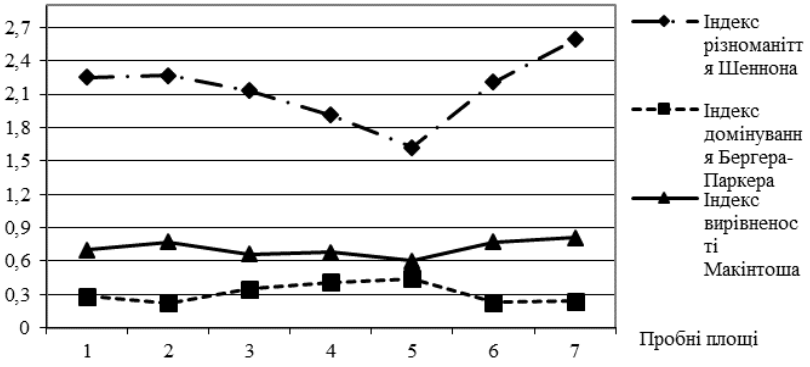


Рис. 3. Значення індексів фіторізноманіття на екопрофілі

Наші дослідження показали, що, порівняно з даними 1974 р. (Sytenko, 1974), відбулося істотне порушення основних екологічних режимів в екосистемі долини середньої та нижньої течії р. Тясмин. Вони проявилися у перебудові структури трав'янистих фітоценозів, трансформації ценотичних відносин, співвідношень еко-, біоморф. Зміни едафотопу та аеротопу ґрунтів долини річки зумовлюють зміну видового складу трав'яного покриву. Всього у трав'яному ярусі виявлено 89 видів судинних рослин. Найбільш різноманітно представлені родини Asteraceae – 25,8% від загальної кількості видів, Poaceae, Lamiaceae – 6,7%. Біоморфологічний спектр фіторізноманіття долини р. Тясмин характеризується збідненим видовим складом вихідного гігрофільного комплексу, високою участю рудерантів, зокрема, адвентивних видів, порушеним розподілом за ценоморфами. Адвентивні види поширені на всій досліджуваній території, але найбільше їх у середній її частині, де інтенсивно випасають худобу та відпочиває населення. Адвентизація не перевищує узагальнені дані (Protopopova, 1973) щодо ценозів заплави лісостепового Дніпра (29–33%). У спектрі життєвих форм переважають багаторічні гемікриптофіти і терофіти, що збігається з даними (Gajova, 2015). За структурами надземних пагонів і розміщенням листків переважають безрозеткові трав'яні рослини, підземних пагонів – рослини, які не мають спеціалізованих видозмін. Частка кореневищних видів вища на більш антропогенно трансформованих ділянках.

Нерівномірність зволоження кореневмісного шару ґрунту найбільше виражена у нижній частині долини. Тут найбільше (до 58%) поширені види, адаптовані до таких умов. Їх менше у середній частині долини та майже відсутні відмінності у найвіддаленіших від гирла ділянках. Антропогенний вплив не порушив кислотності ґрунтів, проте погіршив їх промивний режим, що збільшує насиченість їх солями. Поширені види різних перехідних груп екологічних стратегій. На більш деградованих ділянках зростає частка видів зі змішаним типом стратегії. У зоні пасовищної та рекреаційної дигресії середньої частини долини зникають види, не здатні адаптуватися до змінених умов. Відбувається збіднення флористичного складу до формування монодомінантних угруповань, що мають максимальне (0,35–0,44) різноманіття адвентивних і рудеральних видів-домінантів. Проте максимальне фіторізноманіття (2,59) збереглося у найвіддаленішій від гирла частині долини, дещо нижче (2,27) воно у пригирловому низов'ї та найнижче (1,70) – у зоні пасовищної та рекреаційної дигресії.

Висновки

Права притока Дніпра, річка Тясмин, особливо в середній та нижній течії, в Ірдино-Тясминській низині, починаючи з 1930-х рр. зазнала широкого спектра пря-

мого та опосередкованого порушення її екологічних умов діяльністю людини: осушення земель, торфорозробки, недостатньо регульовані сінокосіння, випасання худоби, знелісення придолинних схилів. Антропогенний вплив особливо зріс після 1960-х рр. внаслідок створення на Дніпрі Кременчуцького водосховища та відгородження від нього Тясмину дамбою, промислового пошкодження водорегулювальних лісів на придолинних терасах, розорювання схилів, спрямування частини русла, зростання забруднених скидів, використання води для технічного водопостачання та зрошування, рекреації.

Загалом зазначені чинники спричинили порушення екологічних умов розвитку середньої та нижньої частин долини річки, що після 2010 р. прискорює її деградацію. Про це свідчить порушення структури трав'яного покриву, за всіма аспектами екологічних умов, крім сольового та кислотного режимів та забезпеченості азотом. Повсюдно поширились рудеральні, особливо вегетативно рухливі види, експленренти, витісняються патієнти. Просторовий розподіл стадій трансформації трав'яної рослинності р. Тясмин такий: II стадія дигресії – у пригирловій частині долини (на схід від м. Чигирин) і середній (в районі с. Медведівка); III–IV стадія – у низов'ї (між с. Новоселиця та м. Чигирин).

Бібліографічні посилання

Barbarich, A.I. (ed.), 1977. Geobotanichne rajonuvannya Ukrayins'koyi RSR [Geobotanical zoning of Ukrainian SSR]. Naukova dumka, Kyiv (in Ukrainian).

Bel'gard, A.L., 1950. Lesnaya rastytel'nost' yugo-vostoka USSR [Forest vegetation of south-east part of USSR]. KSU, Kyiv (in Russian).

Blinkova, O.I., 2014. Synfitoindykaciya rekreagennyx zmin ekologichnyh umov zapovidnogo urochyshha "Borzhava" (Zakarpats'ka nyzovynna oblast') [Synphytoindication of recreational ecological changes in conditions of plant formation in protected areas "Borzhava", Zakarpatska lowland]. Odesa National University Herald. Biology. 35, 21–33 (in Ukrainian).

Bomanowska, A., Kiedrzyński, M., 2011. Changing land use in recent decades and its impact on plant cover in agricultural and forest landscapes in Poland. Folia Biologica et Oecologica 7, 5–26.

Buksha, I.F., 1989. Beregovye lesonasazhdenija Kremenchugskogo vodohranilishha i puti povyshenija ih zashhitnoj effektivnosti [Coastal afforestation of Kremenchug reservoir and ways to improve their protective efficacy]. Kharkov (in Russian).

Burda, R.I., 2006. Tendenciyi zmin riznomanitnosti fitobioty v sil's'kogospodars'kuh landshaftakh rivnynnoyi Ukrayiny [Trends changes of photobiotic diversity in agricultural landscapes of plants of Ukraine]. Scientific Bulletin of National Agricultural University 93, 1–15 (in Ukrainian).

Chemerys, I.A., 2007. Formuvannya ekologichnogo stanu lisovykh biogeocenoziv v zoni vplyvu khimichnykh pidpryyemstv mista Cherkasy [Formation of ecological condition of forest ecosystems in the area of chemical companies in the city Cherkassy]. Dnipropetrovsk University Press, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Czarnecka, B., Franczak, M., 2015. Temporal changes of meadow and peatbog vegetation in the landscape of a small-scale river valley in Central Roztocze. Acta Agrobot. 68(2), 135–142.

Didukh, Y.P. (ed.), 2000. Ekoflora Ukrainy. Tom 1 [Ekoflora of Ukraine. Volume 1]. Fitosociocentr, Kyiv (in Ukrainian).

Didukh, Y.P. (ed.), 2002. Ekoflora Ukrainy. Tom 2 [Ekoflora of Ukraine. Volume 2]. Fitosociocentr, Kyiv (in Ukrainian).

Didukh, Y.P. (ed.), 2004. Ekoflora Ukrainy. Tom 3 [Ekoflora of Ukraine. Volume 3]. Fitosociocentr, Kyiv (in Ukrainian).

Didukh, Y.P. (ed.), 2007. Ekoflora Ukrainy. Tom 5 [Ekoflora of Ukraine. Volume 5]. Fitosociocentr, Kyiv (in Ukrainian).

Didukh, Y.P., 1994. Fitoindykaciya ekologichnykh faktoriv [Phytoindication of ecological factors]. Naukova Dumka, Kyiv (in Ukrainian).

Dobrochaeva, D.N., Kotov, M.E., Prokudin, U.N., 1999. Opredelitel' vysshih rastenij Ukrainy [The determinant of vascular plants of Ukraine]. Fitosociocentr, Kyiv (in Russian).

Dryuchenko, M.M., Hovorova, T.T., 1962. Kul'tury sosny Cherkas'koho boru [Pine plantations of forest Cherkasy]. Naukovi Pratsi UkrNDILHA 23, 84–88 (in Ukrainian).

Dubyna, D.V., Ustymenko, P.M., Fel'baba-Klushyna, L.M., 2009. Roslynnyj pokryv dolyny Tysy ta yiyi prytok v umovah antropopressiyi: Dynamika ta synantropizaciya [Plant cover of the Tysa valley and its tributaries under human impact conditions: Dynamics and synanthropization]. Biological Systems 1(1), 53–59 (in Ukrainian).

Fedorchenko, D.O., Brygadyrenko, V.V., 2008. Osoblyvosti formuvannia bagatovydovych ugrupovan' pidstylkovych bezchrebetnych tvaryn ostrova Khortitsa (Zaporiz'ka oblast') [Peculiarities of litter invertebrates' multispecies complexes formation on the Khortitsa island (Zaporizhzhya province)]. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 16(2), 178–185 (in Ukrainian).

Gajova, Y.Y., 2015. Analiz systematychnoyi struktury flory vyshhyh sudynnyh roslyn Cherkas'ko-Chygyryns'kogo geobotanichnogo rajonu [Analysis of the systematic structure of flora vascular plants Cherkasy-Chygyryn geobotanic region]. Scientific Bulletin of Ukrainian National Forestry University 25(1), 115–122 (in Ukrainian).

Grime, J.P., 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. Am. Nat. 111, 1169–1194.

Huseinova, R., Kilinc, M., Kutbay, H., Kilic, D., Bilgin, A., 2013. The comparison of Grime's strategies of plant taxa in Hacı Osman Forest and Bafra Fish Lakes in the central Black Sea region of Turkey. Turk. J. Bot. 37, 725–734.

Janovskij, L., 1915. Tipologicheskij ocherk Cherkasskogo bora [Typological essay of Cherkasy forest]. Lesnoj Zhurnal 6–7, 979–1007 (in Russian).

Johnson, C.W., Dixon, M.D., Scott, M.L., Rabbe, L., Larson, G., Volke, M., Werner, B., 2012. Forty years of vegetation change on the Missouri River Floodplain. BioScience, 62(2), 123–135.

Kiedrzyński, M., Kiedrzyńska, E., Witosławski. P., Urbaniak, M., Kurowski, J., 2014. Historical land use, actual vegetation, and the hemeroby levels in ecological evaluation of an urban river valley in perspective of its rehabilitation Plan. Pol. J. Environ. Stud. 23(1), 109–117.

Kleopov, Y.D., 1928. Reshtky stepovoyi roslynnosti v Cherkas'kiy okruzi [The remains of steppe vegetation in Cherkasy district]. Okhorona Pam'yatok Pryrody na Ukrayini, 38–49 (in Ukrainian).

Kleopov, Y.D., 1929. Dopovnennya do flory Cherkashchyny (137 vydiv) [Additions to the flora Cherkasy region (137 species)]. Visnik Kyyivs'koho Botanichnogo Sadu 9, 3–17 (in Ukrainian).

Kleopov, Y.D., 1935. Pro heomorfohenetychnyy rozvytok roslynnoho vkryttya USRR [About geomorphogenetic development of plant cover of USSR]. Zhurnal Instytutu Botaniky UAN 31, 13–73 (in Ukrainian).

Krawczyk, R., 2012. Influence of natural and anthhropogenic factors on the distribution of xerothermic plants in the lower san river valley (se Poland). Acta Agrobot. 65(1), 107–114.

Lavrov, V.V., 1991. Zagrjaznenie atmosfernogo vozduha, lesov i pochv pravoberezhja Dnepra fitotoksikantami na primere Cherkasskoj promyshlennoj aglomeracii [Air pollution, forests and soils on the right bank of the Dnieper phytotoxi-

cants on the example Cherkassy industrial agglomeration]. Bjulleten' of VNII Agrolesomelioracii 64, 3–6 (in Russian).
Lavrov, V.V., 1994. Povyshenie ustojchivosti lesnyh jekosistem v uslovijah Cherkasskoj promyshlennoj aglomeracii [Improving the sustainability of forest ecosystems in the conditions of industrial agglomeration Cherkasy]. Dnipropetrovsk (in Russian).
Magurran, A.E., 2004. Measuring biological diversity. Blackwell Publishing, Oxford.
Mirkin, B.M., Naumova, L.G., Solomeshh, A.I., 2001. Sovremennaja nauka o rastitel'nosti [The modern science of vegetation]. Logos, Moscow (in Russian).
Miroshnyk, N.V., Tertychna, O.V., 2016. Zalezhnist' systematychnoyi ta ekologichnoyi struktury trav'yanogo pokryvu lisovykh ekosystem vid antropogennogo vplyvu [Dependence of grass cover taxonomic and ecological structure on the anthropogenic in forest ecosystems]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University 6(1), 29–40 (in Ukrainian).
Moroz, K.O., Brygadyrenko, V.V., Pakhomov, A.Y., 2011. Formirovanije fauny napochvennykh bespozvonochnykh peschanoj terrasy r. Orel' v uslovijakh pirogennoj sukcessii [Litter invertebrates fauna formation of the sandy terrace of Orel' river in condition of post-fire succession]. Proc. of the Azerbaijan Soc. of Zool. 3, 423–435 (in Russian).
Mosyakin, S.L., Fedoronchuk, M.M., 1999. Vascular plants of Ukraine a nomenclatural checklist. M.G. Kholodny Institute Botany, Kyiv.
Neshataev, J.N., 1987. Metody analiza geobotanicheskih materialov [Methods of analysis of geo-botanical materials]. Leningr. Univ. Press, Leningrad (in Russian).
Prévosto, B., Kuiters, L., Bernhardt-Römermann, M., Dölle, M., Schmidt, W., Hoffmann, M., Van Uytvanck, J., Bohner, A., Kreier, D., Stadler, J., Klotz, S., 2011. Impacts of land abandonment on vegetation: Successional pathways in European habitats. Folia Geobot. 46, 303–325.
Protopopova, V.V., 1973. Adventyvni roslyny Lisostepu i Stepu Ukrayiny [Alien plants of forest-steppe and steppe of Ukraine]. Naukova Dumka, Kyiv (in Ukrainian).
Protopopova, V.V., 1991. Sinantropnaja flora Ukrainy i puti ejo razvitija [Synanthropic flora of Ukraine and ways of its development]. Naukova Dumka, Kyiv (in Russian).
Rahmonov, O., 2014. The consequences of vegetation degradation under the influence of anthropogenic activity in the territory of the Zarafshan Range (Western Tajikistan). Geography and Natural Resources 35(2), 193–197.
Ramenskii, L.G., 1971. Izbrannye raboty. Problemy i metody izuchenija rastitel'nogo pokrova [Selected works. Problems and methods of studying vegetation]. Nauka, Leningrad (in Russian).
Raunkiaer, C., 1934. The life forms of plants and statistical plant geography, being the collected papers of Raunkiaer. Clarendon Press, Oxford.
Red'ko, G.I., Shlapak, V.P., 1991. Cherkasskij bor: Istorija, lesonasazhdenija, ispol'zovanie [Cherkassy forest: History, plantation, use]. Lybid', Kyiv (in Russian).
Serebrjakov, I.G., 1962. Jekologicheskaja morfologija rastenij [Ecological plant morphology]. Vyssha Shkola, Moscow (in Russian).
Shelyag-Sosonko, Y.R., Dubyna, D.V., Minarchenko, V.N., Ustymenko, P.M., 2002. Do kadastru roslynnosti i roslynnykh resursiv: Pokaznyky ta poryadok pervynnogo obliku [Until the inventory of vegetation and plant resources, performance and order primary account]. Ukrainian Botanical Journal 59(3), 330–341 (in Ukrainian).
Shlapak, V.P., Logvynenko, I.I., 1999. Chygyryns'kyj bir [Chigirinsky Forest]. Prestyzh Inform, Lviv (in Ukrainian).
Shol', G.N., 2004. Flora Kryvogo Rogu: Suchasnyj stan ta nozologichni aspekty [Flora of Kryvyi Rih: Current state and nosological aspects]. Bulletin of Lviv University Biology Series 36, 63–69 (in Ukrainian).
Strohbach, B.J., 2013. Vegetation of the Okavango river valley in Kavango West, Namibia. Biodivers. Ecol. 5, 321–339.
Sytenko, B.B., 1974. Roslynnist' dolyny richki Tyasmynu [Vegetation of river valley Tyasmyn]. Ukrainian Botanical Journal 31(1), 89–95 (in Ukrainian).
Takhtajan, A., 2009. Flowering plants. 2nd edition. Springer, Komarov Botanical Institute, Saint Petersburg.
Tarasov, V.V., 2005. Flora Dnipropetrovs'koyi i Zaporiz'koi oblastej. Sudynni roslyny. Biologo-ekologichna kharakterystyka vydiv [Flora of Zaporozhye and Dnipropetrovsk regions. Vascular plants. Biology and the ecological characteristics of the species]. Dnipropetrovs'k (in Ukrainian).
Tolmachev, A.I., 1974. Vvedenie v geografiyu rasteniy [Introduction to plant geography]. Leningr. Univ. Press, Leningrad (in Russian).
Trabą, C., Wolanski, P., 2011. Zróżnicowanie florystyczne łąk związków Calthioni Allopecurion w Polsce – zagrożenia i ochrona [Floristic diversity of meadows representing the Calthion and Allopecurion alliances in Poland – threats and protection]. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie 11(1), 299–313.
Tsaryk, Y.V., 1994. Deyaki uyavlennya pro stratehiyu populyatsiy Roslyn [Some ideas of the strategies of populations of plants]. Ukrainian Botanical Journal 51(3), 5–10 (in Ukrainian).
Vorob'ev, D.V., 1967. Metodika lesotipologicheskih issledovanij [Methods of forest typological studies]. The Harvest, Kyiv (in Russian).
Woziwoda, B., Michalska-Hejduk, D., 2011. Impact of land use changes and dynamic vegetation changes on vascular flora diversity in Malkowbartochow (The Warta river valley). Folia Biologica et Oecologica 7, 125–138.
Yakubenko, B.Y., Grygoryuk, I.P., 2009. Torf'yanysti luky zaplavy richki Tyasmyn (na prykladi Cherkas'koyi oblasti) [The peaty meadows of the river Tyasmyn (on the example of Cherkassy region)]. Biological Systems 1(1), 59–62 (in Ukrainian).
Yang, X., Ren, L., Liu, Y., DongLai, J., Jiang, S., 2014. Hydrological response to land use and land cover changes in a subwatershed of West Liaohe River Basin, China. J. Arid Land 6(6), 678–689.
Yang, X., Ren, L., Singh, V.P., Liu, X., Yuan, F., Jiang, S., Yong, B., 2012. Impacts of land use and land cover changes on evapotranspiration and runoff at Shalamulun River watershed, China. Hydrology Research 43, 23–37.
Zaverukha, B.V., 1985. Flora Volyino-Podolii i ee genezis [Volyn-Podolia Flora and its genesis]. Naukova Dumka, Kyiv (in Russian).
Zerov, D.K., 1924. Do flori Cherkaskoy okrugi [Flora of Cherkassy region]. Visnik Kiivs'kogo Botanichnogo Sadu 1, 53–56 (in Ukrainian).

Надійшла до редколегії 26.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 512–518.

doi:10.15421/011669

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 579.64:663.18+636.085.7

Новый высокопродуктивный штамм *Propionibacterium acidipropionici* FL-48 с повышенной устойчивостью к пропионовой кислоте и масштабирование технологии его наработки в промышленных биореакторах

М.А. Карташов[1], Т.М. Воинова[1], А.В. Сергеева[1], Н.В. Стацюк[1],
С.В. Роговский[1], Я.О. Гребенева[1], Д.А. Дурникин[2]

[1]ООО «Фермлаб», Москва, Россия, [2]Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

Пропионовокислые бактерии, в том числе *Propionibacterium acidipropionici*, широко используются в химической промышленности для получения пропионовой кислоты, а также для консервирования пищи и заготовки зерна и зеленых кормов. Однако эффективность промышленного производства биомассы пропионовокислых бактерий ограничена их чувствительностью к высоким концентрациям в среде пропионовой кислоты. Таким образом, актуальной задачей является разработка новых биотехнологических процессов и штаммов, позволяющих преодолеть это ограничение и повысить рентабельность микробиологического производства. Методом двухступенчатого индуцированного мутагенеза с применением УФ-облучения и диэтилсульфата получен новый мутантный штамм *P. acidipropionici* ФЛ-48, обладающий повышенной резистентностью к 10 г/л пропионовой кислоты (количество жизнеспособных клеток через 24 ч культивирования достигало $1{,}05 \times 10^6$) и превосходящий родительский штамм *P. acidipropionici* ВКПМ В-5723 по скорости накопления биомассы и количеству продуцируемых пропионовой и уксусной кислот на 35%, 20% и 16%, соответственно. Стабильность характеристик нового штамма (скорость накопления биомассы и жизнеспособность на средах с повышенной концентрацией пропионовой кислоты) подтверждена трехкратным последовательным моноклональным рассевом на среду, содержащую 10 г/л пропионовой кислоты. Выполненная оптимизация технологии культивирования штамма позволила определить оптимальную дозу инокулюма для засева биореактора (10% от объема ферментационной среды) и поддерживаемый в течение первых 12 ч уровень pH среды, обеспечивающий максимальный прирост биомассы ($6{,}1 \pm 0{,}1$). Проведенное масштабирование ферментации до 100-литрового биореактора с соблюдением оптимальных условий культивирования показало сохранение высокой скорости роста штамма в условиях пониженного pH; уже к 20-му часу ферментации количество жизнеспособных клеток в культуральной жидкости превышало 1×10^{10} КОЕ/мл. Полученные результаты показали хорошую воспроизводимость. Новый штамм представляет интерес в качестве компонента биоконсервантов для силоса и сенажа, а также может быть использован в качестве эффективного продуцента пропионовой кислоты.

Ключевые слова: пропионовая кислота; биоконсерванты; накопление биомассы; индуцированный мутагенез; масштабирование

A new highly productive *Propionibacterium acidipropionici* FL-48 strain with increased resistance to propionic acid and the scaling up of its production for industrial bioreactors

M.A. Kartashov[1], T.M. Voinova[1], A.V. Sergeeva[1], N.V. Statsyuk[1],
S.V. Rogovsky[1], Y.O. Grebeneva[1], D.A. Durnikin[2]

[1]FermLab LLC, Moscow, Russia, [2]Altai State University, Barnaul, Russia

Propionic acid bacteria, including *Propionibacterium acidipropionici*, are widely used in the chemical industry to produce propionic acid and also for food and feed preservation. However, the efficiency of the industrial production of these bacteria is limited by their sensitivity to

ООО «Фермлаб», Неманский пр., 18, Москва, 123592, Россия
Fermlab LLC, Nemansky Ave., 18, Moscow, 123592, Russia
Tel.: +7-903-502-48-57. Email: fermlab@mail.ru
Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Россия
Altai State University, Lenin Ave., 61, Barnaul, 656049, Russia
Tel. +7-913-225-38-38. Email: durnikin@list.ru

high concentrations of propionic acid excreted into the cultivation medium. Therefore, the development of new biotechnological processes and strains able to overcome this limitation and to improve the profitability of the microbiological production remains a relevant problem. A new *P. acidipropionici* FL-48 strain characterized by an increased resistance to 10 g/L of propionic acid (the number of viable cells after 24-h cultivation reached 1.05×10^6) was developed by a two-step induced mutagenesis using UV and diethyl sulphate from the *P. acidipropionici* VKPM B-5723 strain. The mutant strain exceeded the parental strain in the biomass accumulation rate and the amount of produced propionic and acetic acids by 35%, 20%, and 16%, respectively. The stability of such important characteristics as the biomass accumulation rate and the viability on media containing heightened concentrations of propionic acid was confirmed by three sequential monoclonal subculturings on a medium supplemented with 10 g/L of propionic acid. The optimization of the cultivation technology made it possible to determine the optimum seed inoculum dose (10% of the fermentation medium volume) and the best pH level for the active growth stage (6.1 ± 0.1). The scaling up of the fermentation to a 100-L bioreactor under observance of optimum cultivation conditions demonstrated a high biomass growth rate with a sufficient reproducability; after 20 h of fermentation, the number of viable cells in the culture broth exceeded 1×10^{10} CFU/mL. The new strain could be interesting as the component of silage and haylage biopreservatives and also could be used as an efficient producer of propionic acid.

Keywords: propionic acid; biopreservatives; biomass accumulation; induced mutagenesis; scaling up

Введение

Эффективное развитие животноводства невозможно без использования высококачественного силоса и сенажа. Силосование (ферментация) – биологический процесс, результат которого зависит от многих факторов, оказывающих существенное влияние на показатели питательности и безопасности корма. Во многих регионах рискованного земледелия силос является основным сочным кормом для крупного рогатого скота в зимний период; его удельный вес по питательности в рационах может превышать 50% (Levakhin et al., 2012).

Технология заготовки силоса как способа сохранения сочных кормов известна уже более тысячи лет назад. Качество и скорость его созревания зависят от того, какая микрофлора преобладает на поверхности зеленой массы. Одним из существенных недостатков заготовки такого вида корма являются значительные потери питательных веществ исходного сырья в процессе силосования, вызванные присутствием гнилостных бактерий, плесневых и дрожжевых грибков, а также других нежелательных микроорганизмов и достигающие порой 25–30% (Levakhin et al., 2012). Полностью избежать этих потерь невозможно, но их можно значительно сократить за счет применения различных консервантов химического и биологического происхождения (Dolezal et al., 2008; Jones and Morse, 2013; Kim et al., 2015).

Применение химических препаратов имеет ряд существенных недостатков: полученный силос не является экологически чистым, может содержать токсичные и дурно пахнущие компоненты, а сами применяемые химические препараты химически агрессивны и небезопасны для работающего персонала (Balpanov et al., 2014). Альтернативой химическому методу могут служить биоконсерванты, способные не только сохранять в силосе питательные вещества, но и ускорять в нем процессы ферментации. В качестве таких агентов, как правило, применяются молочнокислые бактерии (МКБ). При биологическом консервировании силоса МКБ перерабатывают водорастворимые углеводы растений в молочную кислоту, причем потери энергии в ходе этого процесса составляют всего 3–5%, что повышает питательную ценность силоса. При этом выделяющиеся метаболиты МКБ подавляют деятельность гнилостных и маслянокислых бактерий и плесневых грибов (Whiter and Kung, 2001; Kung and Ranjit, 2001). Однако МКБ оказываются не в состоянии подавить развитие дрожжевых и плесневых грибков в аэробных условиях (после вскрытия силосных ям), что снижает аэробную стабильность силоса после начала его использования (Aragyn, 2012). Решить эту проблему можно путем добавления в состав биоконсервантов пропионовокислых бактерий (ПКБ), таких как *Propionibacterium acidipropionici*, способных преобразовывать молочную кислоту и глюкозу в уксусную и пропионовую кислоты и обладающих более выраженным противомикробным эффектом, чем молочная кислота, в аэробных условиях (Tomes, 1991; Benfeldt and Morgenstern, 2015).

Добавление пропионовокислых бактерий в консерванты для силосования приводит к улучшению аэробной стабильности силоса и значительно снижает темпы порчи силоса нежелательными микроорганизмами в условиях прямого контакта с воздухом (Dawson et al., 1998; Filya et al., 2004, 2006). Кроме того, ПКБ обладают мощными иммуномодулирующими и антимутагенными свойствами и способны снижать генотоксичный эффект ряда химических соединений и УФ-облучения, а вырабатываемая ими пропионовая кислота (ПК) находит широкое применение в различных областях народного хозяйства (Liu et al., 2012).

Биосинтез ПК относится к процессам, ингибируемым накапливаемым продуктом (Nanba et al., 1983), а промышленное производство биомассы пропионовокислых бактерий, в частности, *P. acidipropionici*, методами глубинного культивирования характеризуется не очень высокой концентрацией клеток бактерий в культуральной жидкости (Vorobyeva, 1998). В то же время высокий спрос на штаммы ПКБ, используемые для консервирования пищи и при заготовке зерна и кормов, стимулирует поиск новых улучшенных штаммов и развитие новых ферментационных процессов с целью увеличения выхода биомассы и создания рентабельного производства (Hsu and Yang, 1991; Quesada-Chanto et al., 1994; Coral et al., 2008). Таким образом, разработка нового улучшенного штамма *P. acidipropionici* со сниженной чувствительностью к ПК и эффективной технологии его культивирования представляется важной и актуальной задачей.

Цель данной работы – разработка нового промышленного штамма *P. acidipropionici*, отличающегося повышенным накоплением биомассы в присутствии высоких концентраций ПК, а также оптимизация и масштабирование условий его культивирования в биореакторах.

Материал и методы исследований

Объект исследования и среды культивирования. В качестве объекта исследования использован штамм *P. acidipropionici* ВКПМ В-5723, полученный из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Москва, Россия) и характеризуемый относительно невысокой устойчивостью к повышенным концентрациям ПК (при рассеве на агаризованную бифидум-среду, содержащую 5 и 10 г/л ПК, выживаемость исходного штамма составляла 5,1% и 0,03%, соответственно).

Для выращивания и поддержания штамма использовали бифидум-среду M1395 (HiMedia, Индия).

При проведении мутагенеза использовали агаризованную бифидум-среду, а также посевную и ферментационную среды следующего состава (г/л): дрожжевой экстракт – 10, бульон соевого триптона – 5, KH_2PO – 1,5, K_2HPO_4 – 2,5 (pH 7,0). Кроме того, в ферментационную среду дополнительно вносили глицерин (20 г/л) и $CoCl_2$ (0,01 г/л). Культивирование в ферментерах проводили с использованием посевной и ферментационной сред следующего состава (г/л): меласса – 10, лактоза – 0,5, кукурузный экстракт – 20 мл/л, $(NH_4)_2SO_4$ – 0,5, KH_2PO_4 – 0,2, лапрол – 0,2; pH до стерилизации – 7,3 ± 0,1.

Мутагенез. На первой ступени мутагенеза использовали УФ-облучение с длиной волны 254 нм (лампа Mineralight, мощностью 30 Вт). Для этого 1 мл клеточной суспензии в 0,9% растворе хлорида натрия (1×10^{10} КОЕ/мл) вносили в 9 мл 0,1 М калий-фосфатного буфера (pH 6,0), тщательно перемешивали и помещали в стерильные чашки Петри. Чашки помещали под УФ-излучатель (на расстоянии 30 см от него) и экспонировали в течение 2–3 минут. Степень выживаемости колоний определяли по соотношению колоний, выросших на облученных и контрольных чашках. Выросшие изолированные колонии пересевали на агаризованную бифидум-среду, культивировали в течение 48 ч в стационарных условиях, после чего готовили клеточную суспензию в 0,9% растворе хлорида натрия (1×10^{10} КОЕ/мл).

На второй ступени проводили мутагенез с использованием диэтилсульфата (DES). Для этого 0,2 мл DES добавляли в пробирку с 16 мл стерильного 0,01 М фосфатного буфера (pH 7,0). Затем в эту же пробирку вносили 4 мл суспензии клеток, выросших на бифидум-среде после первой ступени мутагенеза, и инкубировали 30 минут. Затем клетки дважды отмывали в фосфатном буфере и переносили в посевную среду, дополнительно содержащую ПК в концентрации 5 г/л. После инкубирования посевной культуры в течение 24 ч посевную среду переносили в ферментационную среду. Далее культуру инкубировали при 30 ºС в течение 48 ч, после чего определяли основные физиологические и биохимические параметры культуры.

Условия культивирования. Для оценки полученных мутантных штаммов посевной материал выращивали с использованием посевной среды в течение 24 ч на ротационной качалке при 220–240 об./мин и температуре 30 ± 1 °С, после чего засевали 100 мл ферментационной среды (объем посевного материала составлял 10% от объема ферментационной среды) и выращивали в колбах Эрленмейера, объемом 750 мл в течение 24 ч при 30 ± 1 °С и 200 об./мин.

Эксперименты по оптимизации условий культивирования осуществляли на лабораторной установке Biotron (Biotron Inc., Южная Корея), состоящей из четырех одинаковых биореакторов, вместимостью 3 л. Параметры культивирования (обороты мешалки, поддержание pH, подача компонентов питания и др.) программировали и контролировали при помощи компьютера. Режим культивирования устанавливали следующий: температура – 30 ± 1 °С без аэрации (воздух подавали только до создания избыточного давления в аппарате до P = 1,5 бар), режим работы мешалки – 400 об./мин.

Масштабирование ферментации осуществляли в биореакторе емкостью 100 л (ООО «Профсплав», Россия). Наработку биомассы пропионовокислых бактерий осуществляли при температуре 30 ± 1 °С без аэрации (воздух подавали только до создания избыточного давления в аппарате до P = 1,5 бар), режим работы мешалки – 200 об./мин. Инокулюм для засева биореактора нарабатывали на установке Biotron (24 ч, 30 ± 1 °С, pH – 6,1 ± 0,1). Общий объем полученного инокулюма составил 7 литров, общий объем ферментационной среды в биореакторе – 70 литров.

Аналитические методы. Количество жизнеспособных клеток определяли методом разведений по Пастеру с последующим высевом на агаризованную бифидум-среду (Netrusov and Egorova, 2005). Для контроля физиологического состояния культуры готовили фиксированный мазок (Netrusov and Egorova, 2005) и исследовали его на фазовом контрасте с использованием микроскопа Olimpus BX41 с объективом ×100 и масляной иммерсией. Сухой вес бактериальных клеток в суспензии определяли после высушивания пробы в сушильном шкафу при 105 °С до постоянного веса. Определение содержания органических кислот в культуральной жидкости осуществляли в соответствии с известными методиками (Sheveleva and Ramenskaya, 2010). Активную кислотность (pH) питательных сред и культуральной жидкости определяли потенциометрическим способом при помощи pH-метра (культивирование в колбах/флаконах) или стерилизуемого pH-датчика (культивирование в ферментере).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли путем расчета относительной дисперсии воспроизводимости и доверительного интервала среднего значения с использованием программы Statistica 6.0 (Borovikov, 2003).

Результаты и их обсуждение

Мутагенез. При переходе на крупномасштабное культивирование *P. acidipropionici* вопрос об устойчивости промышленных штаммов к органическим кислотам становится весьма актуальным (Zhu, 2010). Способом решения данной проблемы был выбран двухступенчатый индуцированный мутагенез, сочетающий воздействие физического и химического мутагенных факторов. Этот метод достаточно широко применяется для получения штаммов микроорганизмов, обладающих новыми свойствами (Zhang et al., 2013; Korniłłowicz-Kowalska and Rybczyńska, 2014; Zhang et al., 2016). В литературе (Ganicheva, 1992) упоминается пример успешного про-

ведения такого мутагенеза у *P. acidipropionici* с использованием N-нитрозо-N-метилбиурета (НМБ) и УФ-облучения с целью получения мутантных штаммов, синтезирующих увеличенное количество витамина B_{12}. В соответствии с результатами этого исследования, такая комбинация мутагенных факторов позволила существенно повысить эффект мутагенеза и увеличить число полученных высокопродуктивных мутантов.

Согласно результатам нашего исследования, использование дополнительного мутагенного фактора привело к пятикратному повышению частоты возникновения мутаций по сравнению с одноступенчатым мутагенезом, достигнув уровня $1 \cdot 10^{-3}$. Высев отобранных на второй ступени перспективных клонов на среду с добавлением ПК в концентрации 5 и 10 г/л обеспечил возможность селективного отбора резистентных к ПК штаммов. В результате была отобрана группа из шести мутантных штаммов, морфологически отличающихся от колоний исходного штамма и характеризующихся сохранением достаточно высокого количества жизнеспособных клеток при культивировании на среде, содержащей ПК. Полученная группа штаммов проанализирована по параметру скорости роста клеток, то есть способности штамма накапливать за короткое время максимальную биомассу. Для определения быстрорастущих вариантов штаммы культивировали на средах для мутагенеза при 30 °С в течение 24 ч, после чего определяли сухой вес клеточной биомассы (табл. 1).

Таблица 1

Накопление биомассы исходным и мутантными штаммами *Propionibacterium acidipropionici* (x ± SE, n = 8)

Индекс штамма	Сухой вес биомассы, г/л
ВКПМ В-5723 (контроль)	0,47 ± 0,011
ФЛ-2	0,33 ± 0,012
ФЛ-7	0,71 ± 0,014
ФЛ-48	1,48 ± 0,022
ФЛ-123	1,35 ± 0,010
ФЛ-178	0,84 ± 0,014
ФЛ-179	1,19 ± 0,038

По результатам опыта максимальное накопление биомассы отмечено для штамма *P. acidipropionici* ФЛ-48. Результаты оценки жизнеспособности данного штамма при культивировании на агаризованной бифидум-среде с добавлением ПК приведены в таблице 2.

Таблица 2

Оценка жизнеспособности штамма *Propionibacterium acidipropionici* ФЛ-48 при культивировании на среде с добавлением пропионовой кислоты (x ± SE, n = 12)

Концентрация пропионовой кислоты в агаризованной бифидум-среде, г/л	Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/мл
0 (контроль)	$(4{,}02 \pm 0{,}96) \times 10^9$
5	$(2{,}03 \pm 0{,}63) \times 10^8$
10	$(1{,}05 \pm 0{,}93) \times 10^6$

Характеристики штамма *P. acidipropionici* ФЛ-48. На агаризованной бифидум-среде новый штамм образовывал округлые колонии размером до 1,3 мм, с неровными краями, маслянистые, влажные, светло-кремового и кремового цвета. Результаты сравнения морфологических характеристик исходного и мутантного штаммов, выращенных на агаризованной среде, приведены в таблице 3. Сравнение биохимических характеристик показало, что штамм ФЛ-48 сохранил способность сбраживать сахарозу, мальтозу, лактат и восстанавливать нитраты.

Таблица 3

Морфологические характеристики штаммов *Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5723 и ФЛ-48

Показатель	ВКПМ В-5723	ФЛ-48
Локализация колоний	в толще питательной среды	как в толще питательной среды, так и на ее поверхности
Форма колоний	округлые	округлые с неровными краями
Цвет колоний	белый	светло-кремовый и кремовый
Размер колоний, мм*	0,8–1,2	1,1–1,4
Рост в аэробных условиях	слабый	хороший

Примечание: * – через 24 ч культивирования.

Для подтверждения успешности мутации и стабильности нового штамма штамм ФЛ-48 трижды провели через моноклональный рассев с высевом на питательную среду, содержащую 10 г/л ПК. Каждый раз для последующего рассева отбирали по 10–20 колоний с поверхности агара, с параметрами, характерными для мутанта ФЛ-48. Результаты эксперимента подтвердили стабильность штамма по скорости накопления биомассы и жизнеспособности на средах с повышенной концентрацией ПК.

Сравнение биотехнологических свойств штаммов *P. acidipropionici* ВКПМ В-5723 и ФЛ-48. Сравнительную оценку биотехнологических свойств мутантного штамма ФЛ-48 и исходного штамма ВКПМ В-5723 проводили в лабораторных условиях на установке Biotron. В качестве анализируемых параметров использовали ключевые параметры отбора – накопление биомассы бактерий и способность к синтезу пропионата. При определении параметров культивирования исходили из имеющихся в литературе данных о том, что оптимальные для биосинтеза пропионата значения температуры и кислотности среды (pH) составляют 30 ºС и 6,5, соответственно (Wang, 2015). Оптимальное значение pH для роста пропионовокислых бактерий находится в интервале 6,0–7,0 (Hsu, 1991). Кривые накопления клеток бактерий в культуральной жидкости при ферментации в контролируемых условиях (30 ºС, pH 6,0) показаны на рисунке 1. Уже к 20 ч культивирования содержание жизнеспособных клеток в культуральной жидкости штамма ФЛ-48 достигло $9{,}2 \times 10^9$ КОЕ/мл, в то время как аналогичное значение для родительского штамма составило $6{,}8 \times 10^9$ КОЕ/мл. Таким образом, при культивировании в контролируемых условиях мутантный штамм отличается более высокой скоростью роста по сравнению с родительским штаммом, который достигает такого же количества жизнеспособных клеток в среде, только к 28–30 часам роста (данные не приведены).

Другим важным показателем, характеризующим штаммы пропионовокислых бактерий, является их способность продуцировать пропионовую и уксусную ки-

слоту. На рисунке 2 показаны уровни накопления упомянутых органических кислот по истечении 24 ч культивирования родительского и мутантного штаммов. Согласно полученным данным, уровень продукции пропионовой и уксусной кислот мутантным штаммом ФЛ-48 превосходит таковой родительского штамма на 20% и 16%, соответственно.

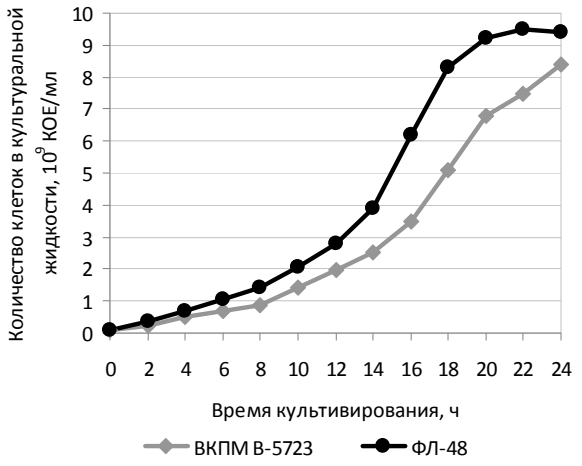


Рис. 1. Динамика роста штаммов *Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5723 и ФЛ-48 в лабораторном ферментере объемом 3 л в контролируемых условиях (30 ºС, pH 6,0)

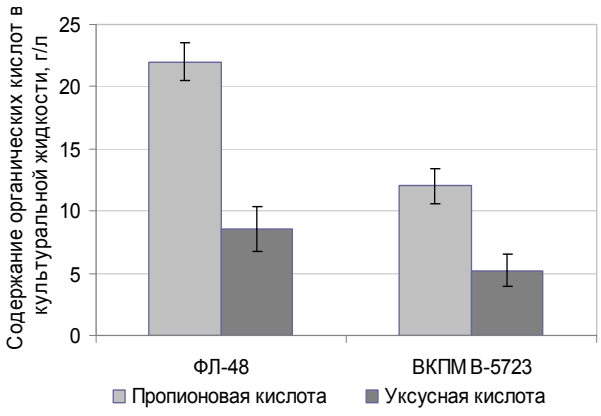


Рис. 2. Синтез пропионовой и уксусной кислот штаммами *Propionibacterium acidipropionici* ВКПМ В-5723 и ФЛ-48 (pH среды – 6,0)

Таким образом, по своим биотехнологическим свойствам мутантный штамм ФЛ-48 существенно превосходит исходный штамм ВКПМ В-5723.

Оптимизация методики культивирования штамма *P. acidipropionici* ФЛ-48. Проблема улучшения промышленных штаммов пропионовокислых бактерий и совершенствования методов их промышленного культивирования широко изучается во всем мире (Liu et al., 2012). Большинство публикаций, связанных с оптимизацией и масштабированием процесса ферментации *P. acidipropionici*, посвящено технологиям направленного биосинтеза пропионовой кислоты (Coral et al., 2008; Zhu et al., 2010; Stowers et al., 2014). Однако в нашем случае в качестве наиболее важного биотехнологического параметра определено максимальное накопление биомассы клеток, причем в максимально короткий промежуток времени.

Важным параметром, влияющим на длительность ферментации и конечную плотность клеток, является доза посевного материала. Результаты исследования влияния дозы инокулята на уровень накопления биомассы в культуральной жидкости представлены на рисунке 3 и являются усреднением четырех проведенных ферментаций.

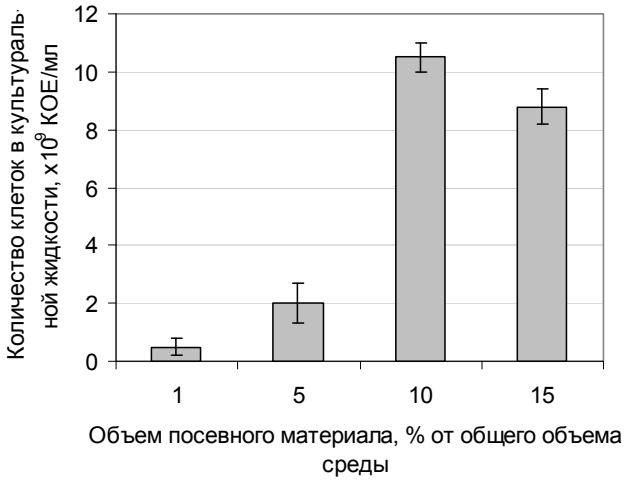


Рис. 3. Влияние дозы инокулята на накопление биомассы штамма *Propionibacterium acidipropionici* ФЛ-48 в культуральной жидкости

По мере увеличения дозы инокулята в посевном аппарате с 1% до 10% количество жизнеспособных пропионовокислых бактерий в культуральной жидкости резко возрастает, достигая значения $1{,}05 \times 10^{10}$ КОЕ/мл. Дальнейшее повышение дозы инокулята уже не обеспечивает прироста. Это связано с тем, что клетки, попав в богатую питательными веществами среду, начинают размножаться с максимальной для данной культуры скоростью. Чем выше начальная концентрация клеток, тем меньше времени им требуется для активации необходимых ферментных систем (Wang et al., 2015). Таким образом, оптимальная посевная доза штамма ФЛ-48, обеспечивающая максимальное наращивание биомассы мутантного штамма, составила 10%.

Образующиеся в процессе культивирования ПБК органические кислоты снижают pH культуральной среды и тем самым угнетают рост клеточной массы бактерий (Vorobyeva, 1998; Liu et al., 2012). Следовательно, необходимо уточнить оптимальное значение pH среды для культивирования полученного мутантного штамма ФЛ-48 в контролируемых условиях. Ферментационную среду с исходным значением pH 6,9 ± 0,1 засевали инокулятом в объеме 10%. В момент начала ферментации включали автоматическую систему контроля pH. Поддержание pH ферментационной среды осуществляли путем подачи в биореактор 20% раствора NaOH. Протестировано четыре варианта опыта. В первых трех вариантах pH среды на протяжении первых 12 ч культивирования (фаза активного роста) поддерживали на уровне 5,6 ± 0,1, 6,1 ± 0,1 и 6,6 ± 0,1, соответственно. В четвертом варианте опыта pH среды не регулировали. Каждые 4 ч из биореактора отбирали пробы, в которых определяли количество жизнеспособных клеток (рис. 4). К концу периода контролируемой поддержки уровня pH наибольшее количество жизнеспо-

собных клеток (3,4 × 10^9 КОЕ/мл) выявлено для варианта, в котором pH поддерживали на уровне 6,1 ± 0,1.

Масштабирование процесса ферментации штамма ФЛ-48. Конечной целью данного исследования являлась разработка методики производства полученного мутантного штамма в промышленных масштабах, поскольку упомянутый штамм предполагалось включить в состав разрабатываемого комплексного биоконсерванта для силосования кормов, представляющего собой смесь лиофилизированных оригинальных мутантных штаммов видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum* и *P. acidipropionici* в комбинации с защитной средой и наполнителем (общее содержание молочнокислых и пропионовокислых бактерий в сухом препарате – не менее 1 × 10^{11} КОЕ/г).

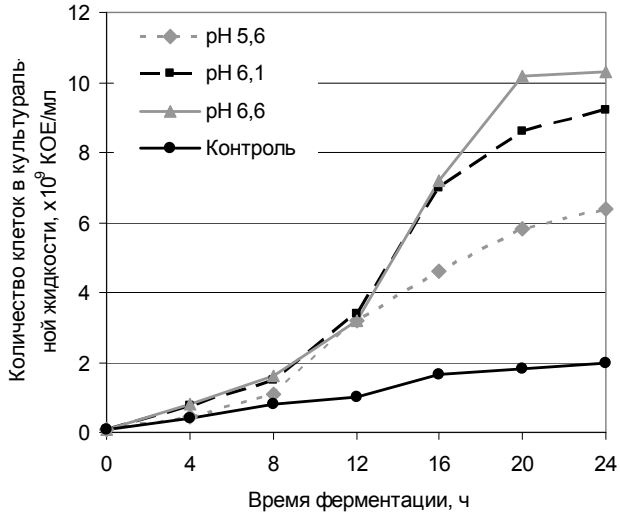


Рис. 4. Накопление жизнеспособных клеток штамма *Propionibacterium acidipropionici* ФЛ-48 при различном pH среды

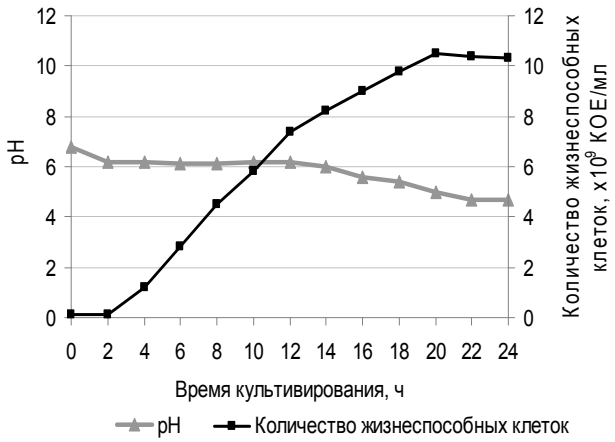


Рис. 5. Динамика накопления жизнеспособных клеток штамма *Propionibacterium acidipropionici* ФЛ-48 при культивировании в биореакторе, объемом 100 л

Для масштабирования производства мутантного штамма ФЛ-48 ферментацию проводили в 100-литровом биореакторе. После засева посевным инокулюмом (в объеме 10% от объема ферментационной среды) штамм культивировали в контролируемых условиях, включая поддержку pH на уровне 6,1 ± 0,1 в течение первых 12 ч. Начиная с 12 ч культивирования, из биореактора отбирали пробы, в которых определяли сохранность жизнеспособных клеток штамма. Усредненные результаты пяти ферментаций показаны на рисунке 5. Максимальное количество жизнеспособных клеток в питательной среде (1,05 × 10^{10} КОЕ/мл) достигнуто к 20–22 ч ферментации. Указанное количество обеспечивает возможность получения лиофилизированной массы клеток, достаточной для производства вышеупомянутого комбинированного биоконсерванта.

Наработанная в ходе исследования биомасса пропионовокислых бактерий использована для приготовления опытной партии вышеупомянутого биологического консерванта. Проведенные производственные испытания биоконсерванта, включавшие подбор оптимальной дозировки для заготовки силоса и оценку эффективности скармливания этого силоса лактирующим коровам, показали положительный эффект от его применения (Baryshnikov et al., 2016).

Выводы

В результате исследования получен новый мутантный штамм *P. acidipropionici*, обладающий хорошей резистентностью к 10 г/л пропионовой кислоты. Отмеченное улучшение биотехнологических свойств (увеличение скорости роста и количества продуцируемых органических кислот) по сравнению с родительским штаммом ВКПМ В-5723, очевидно, является следствием увеличенной резистентности бактериальной клетки к повреждающему воздействию накапливающихся в питательной среде в процессе культивирования органических кислот. Проведено масштабирование ферментации от 3-литрового до 100-литрового биореактора с сохранением высокой скорости прироста биомассы в условиях пониженного pH (6,1). Уже к 20–22 ч ферментации количество жизнеспособных клеток в культуральной жидкости превышало 1 × 10^{10} КОЕ/мл. Воспроизводимость полученных результатов оказалась на хорошем уровне. Полученный штамм представляет интерес в качестве компонента биоконсервантов для силоса и сенажа, а также может быть использован в качестве эффективного продуцента пропионовой кислоты.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Исследование и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (Соглашение о предоставлении субсидии № 14.579.21.0107 от 15.10.2015 г., RFMEF157915X0107).

Библиографические ссылки

Aragyn, Y.K., 2012. The use of probiotic strains as silage inoculants. In: Rigobelo, E.C. (ed.). Probiotic in animals. Intech, Rijeka, Croatia.

Balpanov, D.S., Ten, O.A., Esepbay, G.E., Barbasova, S.K., 2014. Tehnologiya polucheniya zakvaski dlya silosovaniya grubostebel'chatykh kormov s ispolzovaniem molochnokis-

lykh i propionovokislykh kul'tur [Technology of a starter production for the preparation of crude feed using lactic acid and propionic acid bacteria]. Biotehnologiya. Teoriya i Praktika 1, 79–84 (in Russian).

Baryshnikov, P.I., Khaustov, V.N., Burtseva, S.V., Nekrasov, R.V., Chabaev, M.G., Zelenchenkova, A.A., Durnikin, D.A., 2016. Povyshenie kachestva kormov i molochnoi produktivnosti korov pri ispol'zovanii novogo biologicheskogo konservanta v liofilizirovannoi forme [Improvement of the silage quality and milk productivity of cattle by the use of a new lyophilized biological preservative]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University 6(2), 277–286 (in Russian).

Benfeldt, C., Morgenstern, H.U., 2015. Strains of *Propionibacterium*. US Patent Application no. 2015/0150298.

Borovikov, V.P., 2003. Statistica. Iskusstvo analiza dannyh na komp'utere [Statistica. The art of a computer data analysis]. 2nd edition. Piter, Saint Petersburg (in Russian).

Coral, J., Karp, S.G., Porto de Souza Vandenberghe, L., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C.R., 2008. Batch fermentation model of propionic acid production by *Propionibacterium acidipropionici* in different carbon sources. Appl. Biochem. Biotechnol. 151, 333–341.

Dawson, E., Rust, R.S., Yokoyama, M.T., 1998. Improved fermentation and aerobic stability of ensiled, high moisture corn with the use of *Propionibacterium acidipropionici*. J. Dairy Sci. 81, 1015–1021.

Dolezal, L., Zeman, J., Skladanka, J., 2008. Effect of supplementation of chemical preservative on fermentation process of lupine silage. Slovak J. Anim. Sci. 41(1), 30–38.

Filya, I., Sucu, E., Karabulut, A., 2004. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. J. Appl. Microbiol. 97(4), 818–826.

Filya, I., Sucu, E., Karabulut, A., 2006. The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 33(5), 353–358.

Ganicheva, T.V., 1992. Mutagenez propionovokislyh bakterii – produtsentov vitamina B_{12} [Mutagenesis of propionic acid bacteria producing vitamin B_{12}]. Moscow (in Russian).

Hsu, S.-T., Yang, S.-T., 1991. Propionic acid fermentation of lactose by *Propionibacterium acidipropionici*: Effects of pH. Biotechnol. Bioeng. 38(6), 571–578.

Kim, D.H, Amanullah, S.M., Lee, H.J., Joo, Y.H., Kim, S.C., 2015. Effect of microbial and chemical combo additives on nutritive value and fermentation characteristic of whole crop barley silage. Asian-Austral. J. Anim. Sci. 28(9), 1274–1280.

Korniłłowicz-Kowalska, T., Rybczyńska, K., 2014. Anthraquinone dyes decolorization capacity of anamorphic *Bjerkandera adusta* CCBAS 930 strain and its HRP-like negative mutants. World J. Microbiol. Biotechnol. 30(6), 1725–1736.

Kung, L. Jr., Ranjit, N.K., 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. J. Dairy Sci. 84(5), 1149–1155.

Levakhin, V.I., Poberukhin, M.M., Sirazetdinov, R.F., Babicheva, I.A., 2012. Vliyanie silosa, zagotovlennogo s biokonservantami, na perevarimost' pitatel'nyh veshchestv ratsionov i obmen energii v organizme zhivotnykh [Effect of silage prepared with the use of biopreservatives on the digestability of nutrients and energy exchange in the animal organism]. Izvestiya Orenburgskogo GAU 33(1), 244–246 (in Russian).

Liu, L., Zhu, Y., Li, J., Wang, M., Lee, P., Du, G., Chen, J., 2012. Microbial production of propionic acid from *Propionibacteria*: current state, challenges and perspectives. Crit. Rev. Biotechnol. 32(4), 374–381.

Nanba, B.A., Nucada, R., Nagai, S., 1983. Inhibition byacetic and propionic acids of the growth of *Propionibacterium shermanii*. J. Ferm. Technol. 61, 551–556.

Netrusov, A.I., Egorova, M.A., 2005. Praktikum po mikrobiologii [Practical training in microbiology]. Akademiya, Moscow (in Russian).

Quesada-Chanto, A., Afschar, A.S., Wagner, F., 1994. Optimization of a *Propionibacterium acidipropionici* continuous culture utilizing sucrose. Appl. Microbiol. Biotechnol. 42, 16–21.

Sheveleva, M.A., Ramenskaya, G.V., 2010. Gazokhromatograficheskiy analiz korotkotsepochechnyh zhirnyh kislot v standartizatsii lekarstvennyh preparatov na osnove bakterial'nyh substantsiy [Gas chromatography analysis of short-chain fatty acids for standardization of drugs based on bacterial substrates]. Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal 44(6), 50–52 (in Russian).

Stowers, C.C., Cox, B.M., Rodriguez, B.A., 2014. Development of an industrializable fermentation process for propionic acid production. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 41(5), 837–852.

Tomes, N.J., 1991. Bacterial treatment to preserve silage. US Patent no. 4981705.

Vorobyeva, L.I., 1998. Propionovokislye bakterii [Propionic acid bacteria]. Izd. Moskovskogo Universiteta, Moscow (in Russian).

Wang, Z., Jin, Y., Yang, S.T., 2015. High cell density propionic acid fermentation with an acid tolerant strain of *Propionibacterium acidipropionici*. Biotechnol. Bioeng. 112(3), 502–511.

Whiter, A.G., Kung, L. Jr., 2001. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of alfalfa silage. J. Dairy Sci. 84(10), 2195–2202.

Zhang, C., Shen, H., Zhang, X., Yu, X., Wang, H., Xiao, S., Wang, J., Zhao, Z.K., 2016. Combined mutagenesis of *Rhodosporidium toruloides* for improved production of carotenoids and lipids. Biotechnol. Lett. 38(10), 1733–1738.

Zhang, X., Zhang, R., Yang, T., Zhang, J., Xu, M., Li, H., Xu, Z., Rao, Z., 2013. Mutation breeding of acetoin high producing *Bacillus subtilis* blocked in 2,3-butanediol dehydrogenase. World J. Microbiol. Biotechnol. 29(10), 1783–1789.

Zhu, Y., Li, J., Tan, M., Liu, L., Jiang, L., Sun, J., Lee, P., Du, G., Chen, J., 2010. Optimization and scale-up of propionic acid production by propionic acid-tolerant *Propionibacterium acidipropionici* with glycerol as the carbon source. Biores. Technol. 101(22), 8902–8906.

Надійшла до редколегії 22.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 519–525.

doi:10.15421/011670

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 595.132:616-089+636.3:619

Влияние водного настоя лекарственных растений на личинок *Strongyloides papillosus* (Nematoda, Strongyloididae)

А.А. Бойко[1], В.В. Бригадиренко[2]

[1]*Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, Днепропетровск, Украина*
[2]*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепропетровск, Украина*

Одна из самых распространенных нематод овец – *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856). Заболевание, вызываемое этим паразитом, наносит экономический ущерб животноводческим хозяйствам. Поэтому необходим контроль за численностью этой и других видов нематод рода *Strongyloides*. Яйцо и три личиночные стадии *S. papillosus* находятся в окружающей среде, личинки четвертого и пятого возрастов, а также половозрелые особи – в организме хозяина. Контролировать *S. papillosus* нужно на всех стадиях развития, включая свободноживущие стадии. Опыты по оценке выживаемости личинок стронгилоидесов проводили с использованием водных настоев 8 видов лекарственных растений. В лабораторном эксперименте исследовано воздействие на выживание инвазионных и неинвазионных типов личинок *S. papillosus* на протяжении 24 часов водных настоев различной концентрации *Artemisia absinthium* Linnaeus, 1753, *Artemisia annua* Linnaeus, 1753, *Echinacea purpurea* (Linnaeus, 1753) Moench, 1794, *Matricaria chamomilla* Linnaeus, 1753, *Tanacetum vulgare* Linnaeus, 1753, *Salvia sclarea* Linnaeus, 1753, *Levisticum officinale* W.D.J. Koch, 1824 и *Petroselinum crispum* (Miller, 1768) Nyman ex A.W. Hill, 1925. Использовано пять концентраций водных настоев каждого из лекарственных растений. Гибель 50% инвазионных личинок *S. papillosus* отмечена при концентрации водного настоя соцветий *S. sclarea*, равной 464 ± 192 мг/л. Наибольшее воздействие на неинвазионных личинок оказал водный настой соцветий *S. sclarea*, *M. chamomilla* и семян *P. crispum*: при его концентрациях 327 ± 186, 384 ± 155 и 935 ± 218 мг/л, соответственно, погибло 50% неинвазионных личинок. По результатам исследований предлагаем дальнейшее исследование нематоцидной активности соединений, содержащихся в надземной части шалфея мускатного (*S. sclarea*), ромашки лекарственной (*M. chamomilla*) и семян петрушки кучерявой (*P. crispum*), а также экспериментальное применение этих видов растений в составе кормов для крупного и мелкого рогатого скота и свиней в экспериментальных фермерских хозяйствах.

Ключевые слова: гельминты овец; лекарственные растения; нематоциды; профилактика гельминтозов; Rhabditida

Influence of water infusion of medicinal plants on larvae of *Strongyloides papillosus* (Nematoda, Strongyloididae)

A.A. Boyko[1], V.V. Brygadyrenko[2]

[1]*Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine*
[2]*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine*

One of the most common nematodes of ruminants is *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856). Disease caused by these parasites brings economic losses to livestock operations. Therefore it is necessary to control their numbers. The eggs and three larval stages of *S. papillosus* live in the environment, while the fourth, fifth and mature individuals live in host organisms. Control of these parasites is necessary at all stages of development, including the free-living stage. An experiment on changes in the number strongiloids under the influence of environmental factors was carried out using aqueous extracts of medicinal plants. In the laboratory experiment we researched the effect on the survival of invasive and noninvasive types of *S. papillosus* larvae of 24 hours exposure at different doses to *Artemisia absinthium* Linnaeus,

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, ул. Ворошилова, 25, Днепропетровск, 49027, Украина
Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Voroshilov Str., 25, Dnipropetrovsk, 49027, Ukraine
Tel.: +38-097-296-42-10. E-mail: boikoalexandra1982@gmail.com

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, пр. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-050-93-90-788. E-mail: brigad@ua.fm

1753, *Artemisia annua* Linnaeus, 1753, *Echinacea purpurea* (Linnaeus, 1753) Moench, 1794, *Matricaria chamomilla* Linnaeus, 1753, *Tanacetum vulgare* Linnaeus, 1753, *Salvia sclarea* Linnaeus, 1753, *Levisticum officinale* W.D.J. Koch, 1824, *Petroselinum crispum* (Miller, 1768) Nyman ex A.W. Hill, 1925. The death of 50% of *S. papillosus* invasive larvae was registered at 464 ± 192 mg/l concentration of aqueous extract of *S. sclarea* inflorescences. The greatest effect up-on the non-invasive larvae was caused by aqueous extracts of inflorescences of S. sclarea, *M. chamomilla* and seeds of *P. crispum*: at concentrations of 327 ± 186, 384 ± 155 and 935 ± 218 mg/l, respectively, 50% of non-invasive larvae died. According to the results of the research, we suggest further study of the nematocidal activity of combinations, contained in the aboveground parts, of clary sage (*S. sclarea*), camomile (*M. chamomilla*) and seeds of parsley (*P. crispum*), and also experimental usage of these species in the fodder compound for cattle, sheep, goats and pigs on experimental farms.

Keywords: helminths of sheep; medicinal plants; nematacides; prophylaxis of helminthiasis; Rhabditida

Введение

Гельминтозы приносят значительный экономический ущерб животноводству (Faye et al., 2003; Veneziano et al., 2004; Charlier et al., 2007; Cringoli, 2008; Ponomar et al., 2014; Boyko et al., 2009, 2016a, 2016b). На сегодняшний день растет спрос на органическую продукцию, не загрязненную антибиотиками, антигельминтными средствами, гормонами и другими препаратами, без которых практически невозможным стало современное животноводство. Во многих странах мира, в том числе в Украине, увеличивается количество органических хозяйств. Одним из условий их формирования по требованиям Международной федерации органического сельского хозяйства (IFOAM) является запрет на использование традиционных химически синтезированных ветеринарных препаратов, включая антигельминтики. Запрет данных препаратов предотвращает их накопление в организме сельскохозяйственных животных и человека, а также загрязнение ими окружающей среды.

При органическом животноводстве трудно контролировать интенсивность заражения животных паразитами (Bennema et al., 2009, 2010; Fox et al., 2012; Charlier et al., 2016). Таким хозяйствам предлагается использовать растения или же препараты на растительной основе, в том числе разнообразные спиртовые и водные экстракты лекарственных растений. Это может быть белый клевер, эспарцет, сулла, лядвенец, цикорий, вереск, дуб, орешник, ежевика, черный тмин, черный орех, полынь горькая, евразийская полынь, крестоцветные, эвкалипт, фенхель, папоротник, дымянка аптечная, чеснок, гамбийская махагонь, лебеда, индийская сирень, камала, папайя, тыква, пиретрум, священный базилик, пижма, дикая морковь, имбирь и другие (Burke et al., 2009; Lu et al., 2010; Rahmann and Seip, 2006).

Многие из названных видов растений в условиях Украины отсутствуют, поэтому цель данной статьи – оценить потенциальные антигельминтные свойства восьми более известных лекарственных растений по отношению к наиболее распространенной нематоде овец – *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856).

Материал и методы исследований

В эксперименте использовали фекалии от пяти овец породы Dorper. Овцы были завезены на территорию Украины (Днепропетровская обл.) из Германии. Условия их содержания удовлетворительные. Овцы летом выпасаются, часть времени проводят на выгульной площадке. В холодное время года находятся в загоне на улице. Доступ к кормам и воде у животных свободный. Фекалии овец исследовали на наличие яиц нематод, цестод, трематод, личинок легочных нематод овец в Днепропетровском государственном аграрно-экономическом университете. Анализ фекалий проводили методом Мак-Мастера и Бермана (Baermann test) (Zajac et al., 2011).

Культуры *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) выращивали из свежих (1–5-часовых) фекалий овец, отобранных в феврале 2016 года на территории Днепропетровской области (Украина). Экспозиция культивирования личинок *S. papillosus* составила 48 часов. Личинок получали методом Бермана. Для этого 15 г фекалий с прокультивированными личинками заливали 20 мл дистиллированной теплой (36 °C) водой. Выход личинок из фекалий овец наблюдали через 30 минут.

После этого дистиллированную воду с личинками (по 4 мл) заливали в пробирки и центрифугировали в течение 5 минут при 1 500 об./минуту. Надосадочную жидкость (3 мл) убирали пипеткой, а 1 мл осадка с личинками равномерно размешивали и по 0,1 мл помещали в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. В эксперименте использовали пять концентраций водного настоя каждого из восьми видов растений (*Artemisia absinthium* Linnaeus, 1753, *A. annua* Linnaeus, 1753, *Echinacea purpurea* (Linnaeus, 1753) Moench, 1794, *Matricaria chamomilla* Linnaeus, 1753, *Tanacetum vulgare* Linnaeus, 1753, *Salvia sclarea* Linnaeus, 1753, *Levisticum officinale* W.D.J. Koch, 1824, *Petroselinum crispum* (Miller, 1768) Nyman ex A.W. Hill, 1925): 1 : 32, 1 : 128, 1 : 512, 1 : 2 048, 1 : 8 192 (табл. 1).

Для получения концентрации 1 : 32 5 г сухого растения заливали 155 мл кипящей дистиллированной воды. Другие концентрации получали путем разбавления этого настоя (к 10 мл раствора каждой концентрации добавляли 30 мл дистиллированной воды). В пластиковые пробирки с личинками добавляли по 1 мл настоя различной концентрации (n = 8). Экспозиция личинок в водных настоях растений и без настоя (контроль) составила 24 часа. После этого в содержимом каждой пробирки (эппендорф) подсчитывали отдельно количество живых и мертвых инвазионных (филяриевидных) и неинвазионных (рабдитовидных) личинок.

На диаграммах для каждого варианта опыта показана медиана, первый и третий квартили, максимальное и минимальное значения (программа Statistica 8.0, Statsoft Inc., USA, 2007). При расчете LD_{50} показано среднее значение и среднеквадратическое отклонение (SD).

Результаты и их обсуждение

В результате эксперимента *A. absinthium* не проявила воздействия (рис. 1*б*) на жизнеспособность инвазионных личинок (L_3) *S. papillosus*. Личинки первой и второй стадии *S. papillosus* оказались менее устойчивы к воздейст-

вию *A. absinthium* (рис. 1*а*). При этом наблюдали уменьшение количества жизнеспособных личинок при увеличении концентрации водного настоя растения.

Использование настоя *A. annua* привело к гибели около 27% инвазионных личинок *S. papillosus* лишь при концентрации настоя 3% (рис. 1*г*). Последующее уменьшение концентрации настоя растения не вызывало снижения жизнеспособности личинок *S. papillosus* третьей стадии. Личинки первой и второй стадии (неинвазионные) примерно настолько же устойчивы к водному настою *A. annua*, как и по сравнению к настою *A. absinthium* (рис. 1*в*). Показатели смертности этих личинок при концентрации настоя 3% достигали 71%. При использовании настоя в концентрации 0,75% выживших личинок было около 44%.

Таблица 1

Описание растений, использованных в эксперименте

Семейство	Вид	Часть растения	Действующие вещества
Asteraceae Bercht. and J. Presl (1820)	*Artemisia absinthium* Linnaeus, 1753	трава (листья, тонкие стебли, соцветия, семена)	горькие гликозиды абсинтин и анабсинтин, флавоноиды, эфирное масло (терпеноиды туйона, пинена, кадинена, бизаболона, хамазуленогена, селинена и др.), фитонциды, алкалоиды, капиллин, витамины (аскорбиновая кислота и провитамин А), органические кислоты (яблочная, янтарная), дубильные вещества
	Artemisia annua Linnaeus, 1753	трава (листья, тонкие стебли, соцветия, семена)	артемизинин, эфирное масло (артемизиакетон, 1,8-цинеол, артемизиаспирт, камфора, а-пинен, b-кариофиллен), флавоноиды: 4-метиловый эфир кверцетина, флавоны, 2,2-дигидрокси-6-метоксихромен и 2,2,6-тригидроксихромен, хризопленетин, кастицин, эвкапин, артемитин
	Echinacea purpurea (Linnaeus, 1753) Moench, 1794	семена	эхинацин, эфирное масло, смолы, горечи, фитостерины, крахмал, сахар, эхинакозид с антибактериальным действием
	Matricaria chamomilla Linnaeus, 1753	соцветия	эфирное масло (ромашковый азулен – хамазулен), флавоноиды, кумарины, органические кислоты, аскорбиновая кислота, каротин, камеди, полисахариды, горечи, полиацетилены
	Tanacetum vulgare Linnaeus, 1753	соцветия	Эфирное масло (камфара, борнеол, пинен и туйол), горечи, дубильные вещества, флавоноиды (лютеолин и кверцетин), органические кислоты, аскорбиновая кислота, следы алкалоидов, терпены
Lamiaceae Martinov (1820)	*Salvia sclarea* Linnaeus, 1753	соцветия	эфирное масло (сложные эфиры – линалилацетат, линалоол, линалилформисат, α- и β-пинен, камфен, мирцен, лимонен, β-оцимен, n-цимол, аллооцимен, свободные органические кислоты – муравьиная, уксусная и др.; сесквитерпеновые, ди- и тритерпеновые углеводороды), ароматические смолы, органические кислоты (муравьиная, уксусная), сапонины, флавоноиды
Apiaceae Lindl., 1836	*Levisticum officinale* W.D.J. Koch, 1824	семена	эфирное масло (*D*-α-терпинеол, цинеол, уксусная, изовалериановая и бензойная кислоты)
	Petroselinum crispum (Miller, 1768) Nyman ex A.W. Hill, 1925	семена	эфирное масло (апиол, L-альфа-пинен, миристицин, апиоловая кислота, алилтетраметоксибензол, фенолы, кетоны), жирное масло (до 22%), флавоноиды и гликозиды

Водный настой семян *E. purpurea* на жизнеспособность инвазионных личинок *S. papillosus* воздействия не оказывал (рис. 2*б*). В отличие от личинок третьей стадии, неинвазионные личинки при различных концентрациях настоя гибли в 27–49% случаев (рис. 2*а*). Эти результаты достаточно сильно отличаются от полученных при использовании *M. chamomilla*. 28–47% инвазионных личинок оказались нежизнеспособными при использовании водных настоев в концентрации 3%, 0,75% и 0,188% (рис. 2*г*). Наибольшее влияние настой оказывал на личинок первой и второй стадии (рис. 2*в*): только 9–19% их выжило при концентрациях 3%, 0,75% и 0,188% (рис. 2*в*).

Использование водного настоя *T. vulgare* также существенно не повлияло на жизнеспособность инвазионных личинок *S. papillosus* (рис. 3*б*). Даже при самом концентрированном водном настое (3%) лишь около 9% таких личинок погибло. Количество мертвых личинок первой и второй стадий при использовании настоя *T. vulgare* в концентрации 3% составило 77% (рис. 3*а*). Настои более слабых концентраций (0,047–0,750%) убивали неинвазионных личинок в 46–59% случаев.

Настой *S. sclarea* оказал интенсивное воздействие на все исследуемые стадии личинок нематод *S. papillosus.* Концентрация водного настоя 1 : 32 приводила к гибели 100% инвазионных личинок (рис. 3*г*). Даже при разбавлении настоя до 0,047% среднее количество погибших инвазионных личинок достигало 53%, а неинвазионных – 83% (рис. 3*в*).

Настой *L. officinale* и *P. crispum* различной концентрации не оказал достоверного влияния на жизнеспособность инвазионных личинок (рис. 4). Неинвазионные личинки менее устойчивы к воздействию этих видов растений. Настой *L. officinale* уже при концентрации 0,188% приводил к гибели 58% неинвазионных личинок (рис. 4*а*), а настой *P. crispum* этой же концентрации убивал 61% личинок (рис. 4*в*).

Общие закономерности воздействия химических веществ на организмы модельных животных принято оценивать по показателю LD_{50} (табл. 2). Для сухих лекарственных растений, использованных в нашем эксперименте, этот показатель можно выразить в мг сухих частей растений на литр водного настоя.

По мнению Ferreira et al. (2011), наибольшее влияние на жизнеспособность *Schistosoma mansoni*, *Fasciola hepatica* и *Echinostoma caproni* во внешней среде имеют метанольные экстракты *Artemisia annua*, *Asimina triloba* и *Artemisia absinthium*. Результаты наших исследований также частично подтверждает ряд авторов: экстракты многих растений, в том числе травяная смесь *Artemisia sativum* и *A. absinthium*, *Azadirachta indica*, *Nicotiana tabacum*, существенно снижают уровень заражения животных гельминтами желудочно-кишечного тракта.

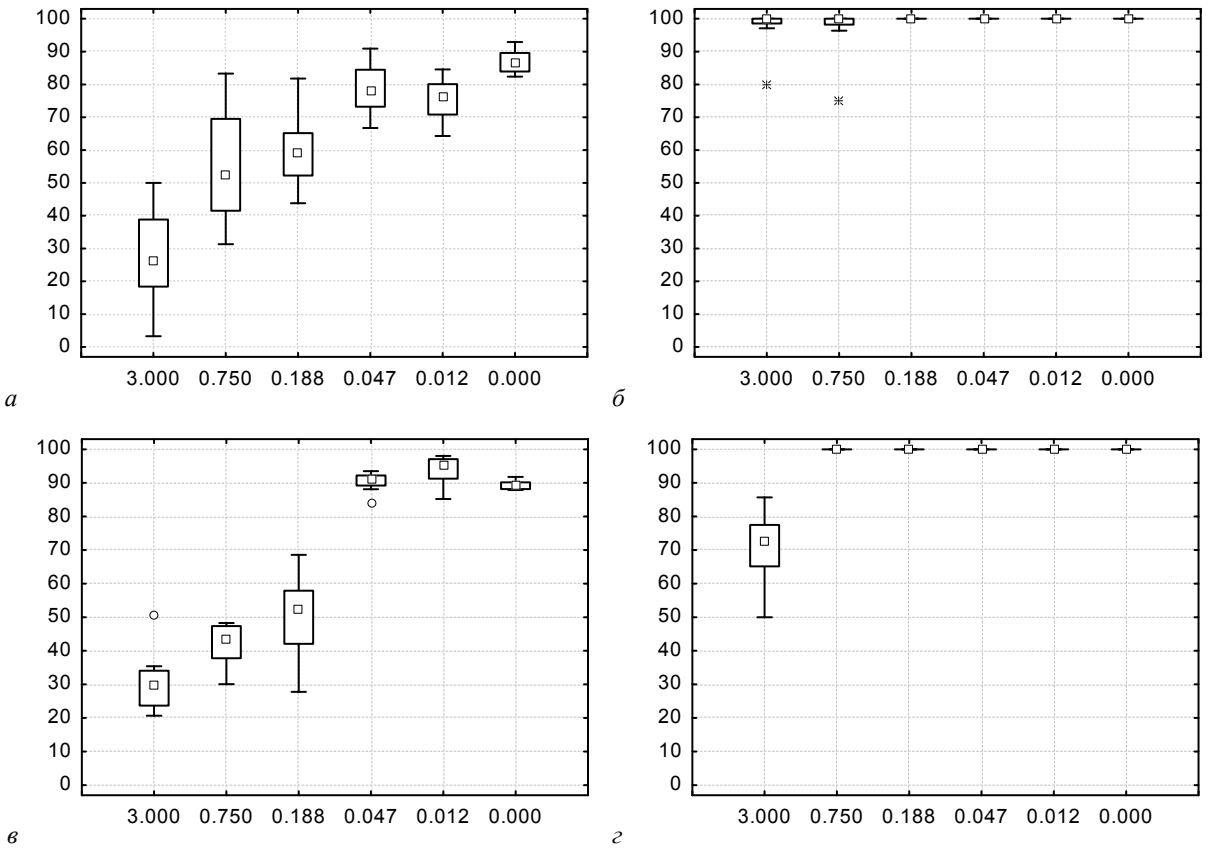


Рис. 1. Влияние водного настоя *Artemisia absinthium* (*а*, *б*) and *A. annua* (*в*, *г*) на выживание личинок *S. papillosus* в течение 24 часов: *а*, *в* – неинвазионные личинки, *б*, *г* – инвазионные личинки; по оси абсцисс – концентрация водного настоя растения (%), по оси ординат – доля живых личинок *S. papillosus* (%); n = 8

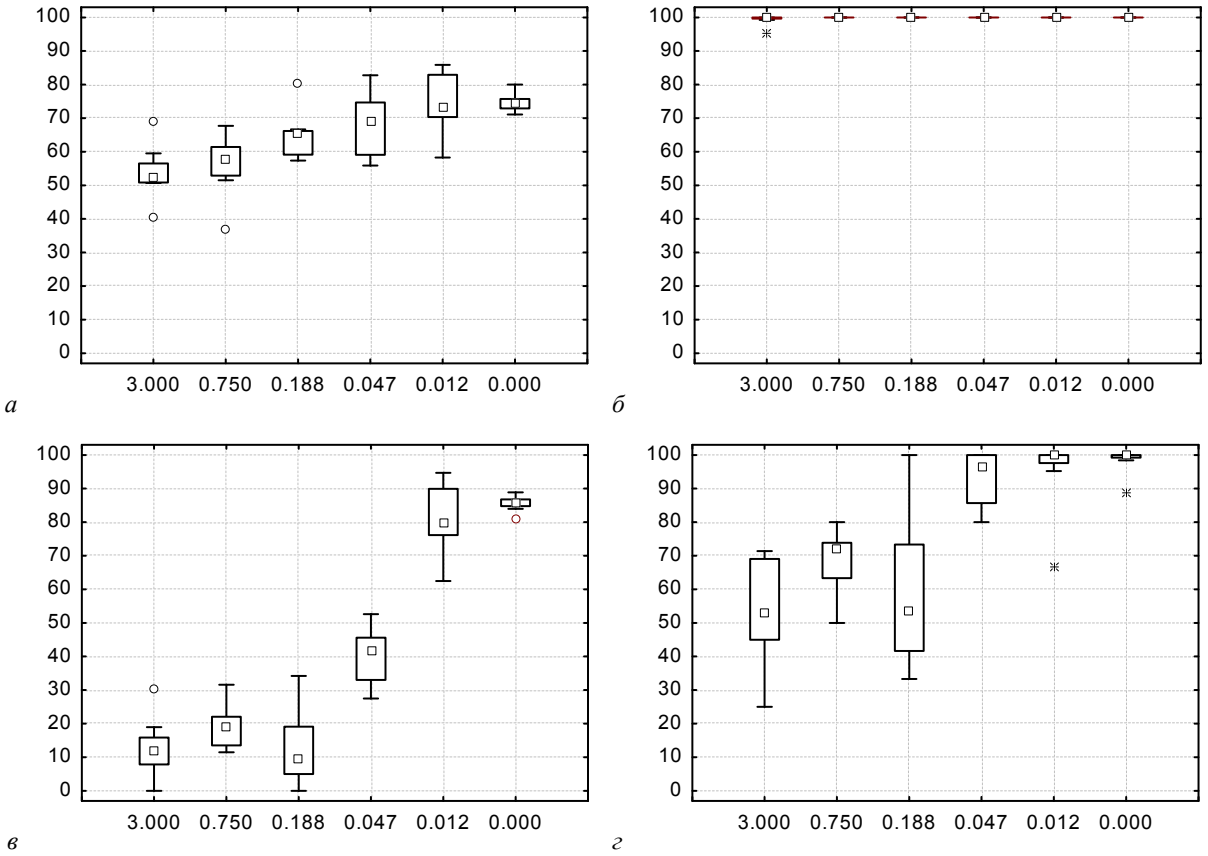


Рис. 2. Влияние водного настоя *Echinacea purpurea* (*а*, *б*) и *Matricaria chamomilla* (*в*, *г*) на выживание личинок *S. papillosus* в течение 24 часов: обозначения см. рис. 1

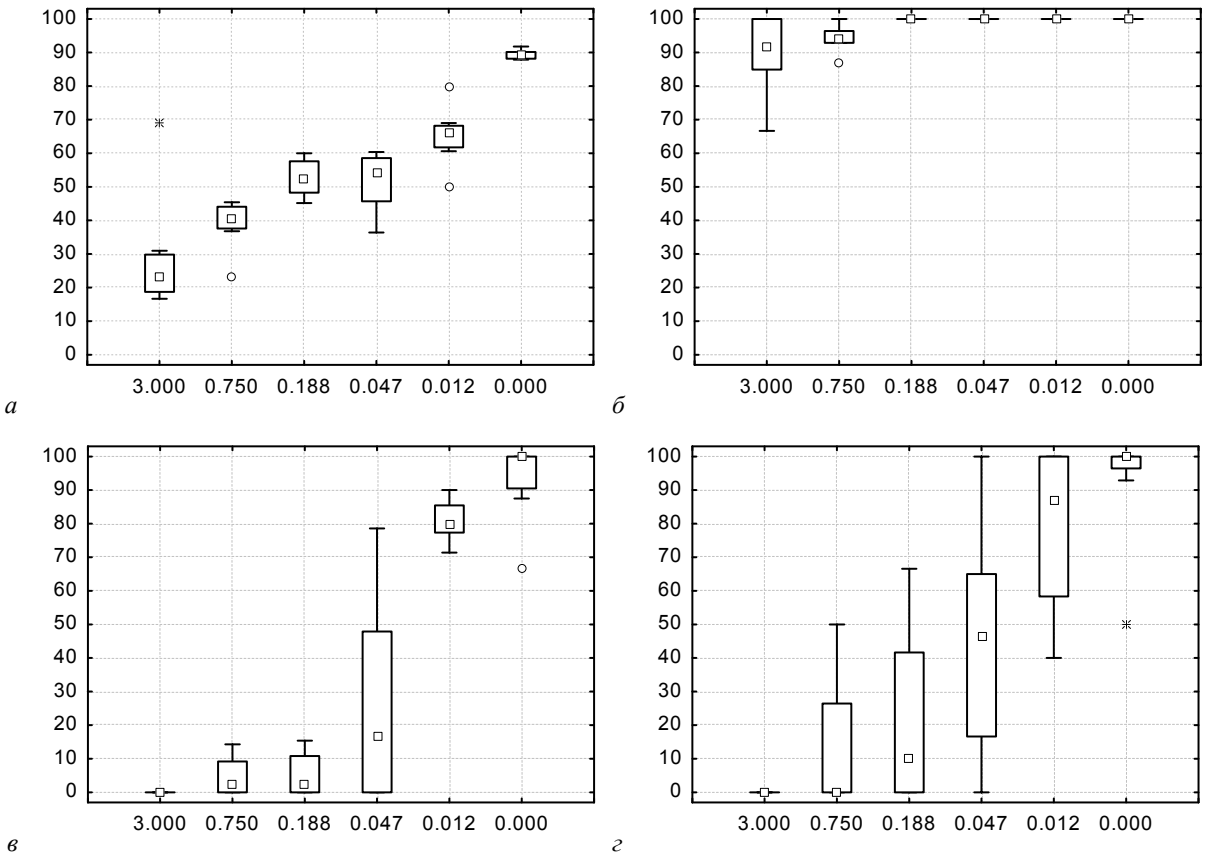


Рис. 3. Влияние водного настоя *Tanacetum vulgare* (*а*, *б*) и *Salvia sclarea* (*в*, *г*) на выживание личинок *S. papillosus* в течение 24 часов: обозначения см. рис. 1

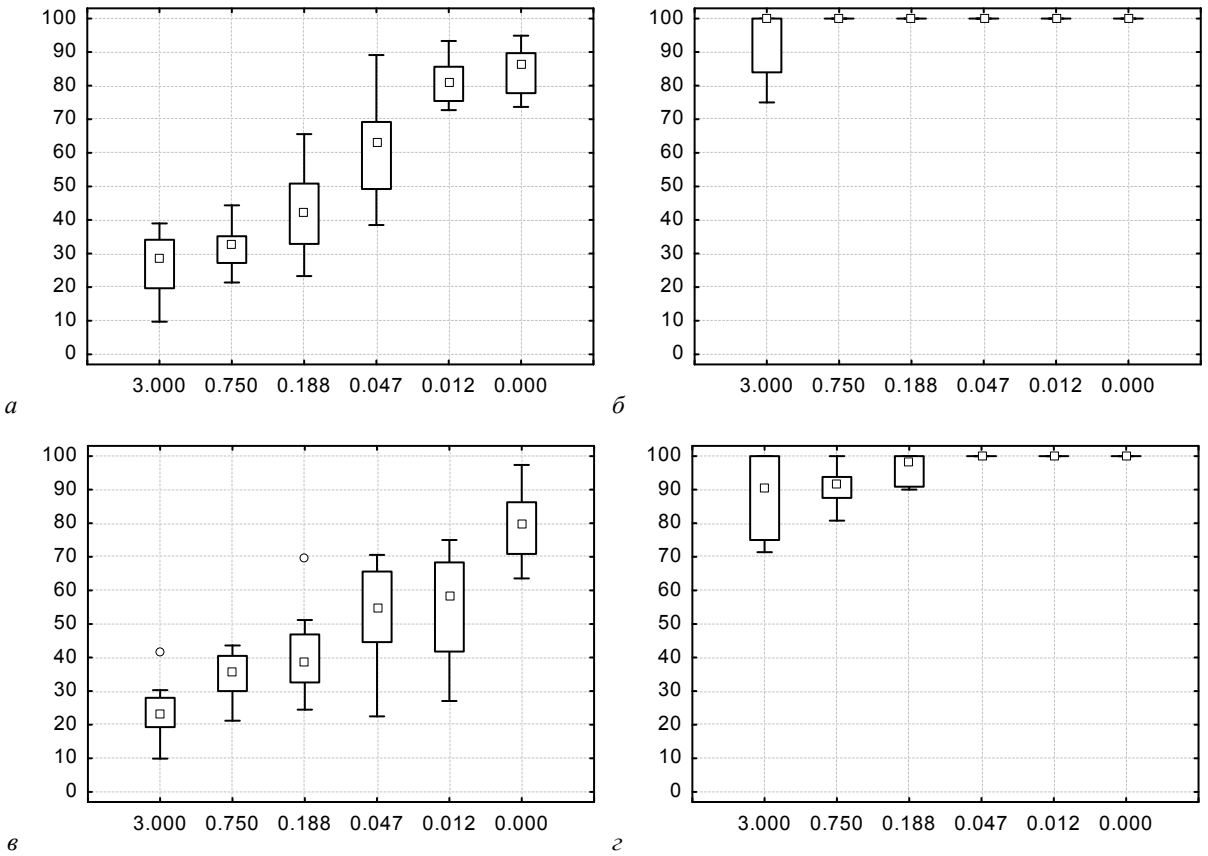


Рис. 4. Влияние водного настоя *Levisticum officinale* (*а*, *б*) и *Petroselinum crispum* (*в*, *г*) на выживание личинок *S. papillosus* в течение 24 часов: обозначения см. рис. 1

Таблица 2

LD_{50} (x ± SD, мг/л для сухих лекарственных растений) для личинок *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) в условиях лабораторного эксперимента (24 часа)

Название растения	LD_{50} для неинвазионных личинок, мг сухого растения/л воды	LD_{50} для инвазионных личинок, мг сухого растения/л воды
Artemisia absinthium Linnaeus, 1753	9 645 ± 1 267	–
A. annua Linnaeus, 1753	2 645 ± 853	–
Echinacea purpurea (Linnaeus, 1753) Moench, 1794	–	–
Matricaria chamomilla Linnaeus, 1753	384 ± 155	–
Tanacetum vulgare Linnaeus, 1753	3 216 ± 591	–
Salvia sclarea Linnaeus, 1753	327 ± 186	464 ± 192
Levisticum officinale W.D.J. Koch, 1824	1 230 ± 367	–
Petroselinum crispum (Miller, 1768) Nyman ex A.W. Hill, 1925	935 ± 218	–

Примечание: «–» – в эксперименте вплоть до концентрации водного настоя, равной 3%, не наблюдалось 50% гибели личинок.

Хотя эти авторы (Ketzis et al., 2006; Burke et al., 2009; Worku et al., 2009) предполагают, что данный вопрос не достаточно изучен и требует детального рассмотрения. Экстракты *Azadirachta indica*, *Artemisia absinthium*, *Nicotiana tabacum*, приготовленные на дистиллированной воде, не приводят к существенным изменениям количества яиц *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) и *Trichostrongylus spp.* в фекалиях дойных бурских коз (Worku et al., 2009). Вполне возможно, что положительный эффект отсутствует по причине неправильной дозировки (Burke et al., 2009). Ferreira et al. (2011) также считают, что водный экстракт *Artemisia annua* и метанольный экстракт *Fumaria officinalis* не обладают антигельминтной активностью.

Выводы

Исследованы воздействия водного настоя травы *Artemisia absinthium* Linnaeus, 1753 и *A. annua* Linnaeus, 1753, семян *Echinacea purpurea* (Linnaeus, 1753) Moench, 1794, соцветий *Matricaria chamomilla* Linnaeus, 1753, *Tanacetum vulgare* Linnaeus, 1753 и *Salvia sclarea* Linnaeus, 1753 и семян *Levisticum officinale* W.D.J. Koch, 1824 и *Petroselinum crispum* (Miller, 1768) Nyman ex A.W. Hill, 1925 на выживаемость инвазионных и неинвазионных личинок нематод *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856).

Гибель 50% инвазионных личинок *S. papillosus* отмечена при концентрации водного настоя соцветий *S. sclarea*, равной 464 ± 192 мг/л. Наибольшее воздействие на неинвазионных личинок оказал водный настой соцветий *Salvia sclarea*, *Matricaria chamomilla* и семян *Petroselinum crispum*: при его концентрациях 327 ± 186, 384 ± 155 и 935 ± 218 мг/л, соответственно, погибло 50% неинвазионных личинок.

По результатам исследований предлагаем дальнейшее изучение нематоцидной активности соединений, содержащихся в надземной части шалфея мускатного (*S. sclarea*), ромашки лекарственной (*M. chamomilla*) и семян петрушки кучерявой (*P. crispum*), а также экспериментальное применение этих видов растений в составе кормов для крупного и мелкого рогатого скота и свиней в экспериментальных фермерских хозяйствах.

Библиографические ссылки

Bennema, S., Vercruysse, J., Claerebout, E., Schnieder, T., Strube, C., Ducheyne, E., Hendrickx, G., Charlier, J., 2009. The use of bulk-tank milk ELISAs to assess the spatial distribution of *Fasciola hepatica*, *Ostertagia ostertagi* and *Dictyocaulus viviparus* in dairy cattle in Flanders (Belgium). Vet. Parasitol. 165, 51–57.

Bennema, S.C., Vercruyssea, J., Morgan, E., Stafford, K., Höglund, J., Demeler, J., von Samson-Himmelstjerna, G., Charlier, J., 2010. Epidemiology and risk factors for exposure to gastrointestinal nematodes in dairy herds in Northwestern Europe. Vet. Parasitol. 173, 247–254.

Boyko, A., Brygadyrenko, V., Shendryk, L., Loza, I., 2009. Estimation of the role of antropo-zoonosis invasion agents in the counteraction to bioterrorism. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. Springer Science, Dordrecht, Netherlands. P. 309–315.

Boyko, O.O., Duda, Y.V., Pakhomov, O.Y., Brygadyrenko, V.V., 2016a. Comparative analysis of different methods of staining the larvae *Haemonchus contortus*, *Mullerius sp.* (Nematoda, Strongylida) and *Strongyloides papillosus* (Nematoda, Rhabditida). Folia Oecologica, 43(2), in press.

Boyko, O.O., Zazharska, N.M., Brygadyrenko, V.V., 2016b. The influence of the extent of infestation by helminths upon changes in body weight of sheep in Ukraine. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 24(1), 3–7 (in Ukrainian).

Burke, J.M., Wells, A., Casey, P., Kaplan, R.M., 2009. Herbal dewormer fails to control gastrointestinal nematodes in goats. Vet. Parasitol. 160, 168–170.

Charlier, J., Duchateau, L., Claerebout, E., Williams, D., Vercruysse, J., 2007. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk samples and production parameters in dairy herds. Prev. Vet. Med. 78, 57–66.

Charlier, J., Ghebretinsae, A.H., Levecke, B., Ducheyne, E., Claerebout, E., Vercruysse, J., 2016. Climate-driven longitudinal trends in pasture-borne helminth infections of dairy cattle. Int. J. Parasitol. 46, in press.

Cringoli, G., Veneziano, V., Jackson, F., Vercruysse, J., Greer, A.W., Fedele, V., Mezzino, L., Rinaldi, L., 2008. Effects of strategic anthelmintic treatments on the milk production of dairy sheep naturally infected by gastrointestinal strongyles. Vet. Parasitol. 156, 340–345.

Faye, D., Leak, S., Nouala, S., Fall, A., Losson, B., Geerts, S., 2003. Effects of gastrointestinal helminth infections and plane of nutrition on the health and productivity of F1 (West African Dwarf × Sahelian) goat crosses in the Gambia. Small Ruminant Res. 50, 153–161.

Ferreira, J.F.S., Peaden, P., Keiser, J., 2011. *In vitro* trematocidal effects of crude alcoholic extracts of *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *Asimina triloba*, and *Fumaria officinalis*. Parasitol. Res. 109, 1585–1592.

Fox, N.J., Marion, G., Davidson, R.S., White, P.C.L., Hutchings, M.R., 2012. Livestock helminths in a changing climate: Approaches and restrictions to meaningful predictions. Animals 2(1), 93–107.

Ketzis, J.K., Vercruysse, J., Stromberg, B.E., Larsen, M., Athanasiadou, S., Houdijk, J.G.M., 2006. Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. Vet. Parasitol. 139, 321–335.

Lua, C.D., Gangyi, X., Kawasc, J.R., 2010. Organic goat production, processing and marketing: Opportunities, challenges and outlook. Small Ruminant Res. 89, 102–109.

Ponomar, S.I., Goncharenko, V.P., Kruchinenko, O.V., Shendrik, C.N., 2014. Ehffektivnost' kompleksnogo podkhoda pri postanovke diagnoza na strongiloidoz [Effectiveness of the integrated approach in the diagnosis of strongyloidiasis]. Scientific Messenger of Veterinary Medicine 13, 190–193 (in Ukrainian).

Rahmann, G., Seip, H., 2006. Alternative strategies to prevent and control endoparasite diseases in organic sheep and goat farming systems: A review of current scientific knowledge. In: Rahmann, G. (ed.), Ressortforschung für den Ökologischen Landbau. Sonderhefte der Landbauforschung Völkenrode 298, 49–90.

Veneziano, V., Rubino, R., Fedele, V., Rinaldi, L., Santaniello, M., Schioppi, M., Cascone, C., Pizzillo, M., Cringoli, G., 2004. The effects of five anthelmintic treatment regimes on milk production in goats naturally infected by gastrointestinal nematodes. S. Afr. J. Anim. Sci. 34, 238–240.

Worku, M., Franco, R., Miller, J.H., 2009. Evaluation of the activity of plant extracts in Boer goats. Am. J. Anim. Vet. Sci. 4(4), 72–79.

Zajac, A.M., Conboy, G.A. (eds), 2011. Veterinary clinical parasitology. 8th ed. John Wiley and Sons, UK.

Надійшла до редколегії 25.08.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 526–530.

doi:10.15421/011671

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 598.115.31:591.4

Изменчивость морфометрических признаков водяного ужа *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) Центрального и Южного Приднепровья

С.В. Ермоленко, А.Н. Гагут, В.Я. Гассо

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепропетровск, Украина

Для водяного ужа *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) охарактеризованы восемь морфометрических параметров: длина тела, длина хвоста, количество чешуй вокруг середины тела, количество брюшных, подхвостовых, верхнегубных, височных и заглазничных щитков. Материал собран в 2013–2016 гг. на территории, прилегающей к Приднепровской ТЭС (г. Днепропетровск). В качестве контрольных участков выбраны биотопы Национального природного парка «Великий Луг» (Запорожская область) и Майоровой балки (с. Майорка Днепропетровскрого района Днепропетровской области). Выявлены географические особенности изменчивости показателей длины хвоста и количества подхвостовых щитков. Зарегистрированы достоверные отличия между самками и самцами для длины тела и хвоста, количества подхвостовых щитков. Число щитков, расположенных на теле змей, довольно стабильно. Пределы изменчивости исследуемых признаков соответствуют литературным данным. Отмечены различия в характере изменчивости билатеральных структур. Стабильным является число височных щитков I ряда и верхнегубных щитков, более разнообразно сочетание заглазничных и височных щитков II ряда. Для исследуемых популяций водяных ужей характерен половой диморфизм. Выявлено увеличение билатеральной асимметрии для популяции водяного ужа из Приднепровска, что может свидетельствовать о дестабилизации процесса эмбриогенеза водяного ужа, обусловленной влиянием техногенной нагрузки.

Ключевые слова: антропогенное влияние; половой диморфизм; фолидоз; асимметрия

Variation in morphological characters of the dice snake *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) in the Central and Southern Dnieper River Area

S.V. Yermolenko, A.M. Hahut, V.Y. Gasso

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

The dice snake *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) is one of the common snake species in the Southern Palaearctic and North Africa. In the Central and Southern Dnieper River basin the dice snake is one of the most numerous and characteristic species. Relative isolation and the varying influence of environmental factors are known to be a motive force behind epigenetic divergence between populations. In populations of *N. tessellata* this divergence can be manifest in the form of morphometric and phenetic peculiarities. Research into these parameters of dice snake populations in terms of anthropogenic influence on habitats along a latitude gradient is essential. In the Central and Southern parts of the Dnieper River basin such studies are of great importance for the monitoring of populations and for further indicative purposes. The aim of our study is to characterize the morphometric features of *N. tessellata* in this area and to determine the variability of these parameters in the snake populations under varying intensities of anthropogenic influence. The snakes were collected in 2013–2016 from the territory adjacent to the Prydniprovska Thermal Power Plant, from the Maiorova gully (Maiorka village, Dnipropetrovsk region) and the National Nature Park "Velykyi Lug" (Zaporizhia region). The following morphometric parameters were recorded: snout-vent length (SVL), tail length (TL), the number of ventral scales (V), and the number of subcaudal scales (SBC), the number of scale rows at mid-body (MBS), the number of supralabial scales (SLS), the number of temporal scales (TS), and the number of postocular scales (POS). All the tested parameters generally correspond to the limits known for this species from the literature. Nevertheless , some geographic peculiarities in variability of the tail length and number of subcaudal scales were identified. According to data from the literature, the southern populations of the dice snake are distinguished by an increase in the number of subcaudal scales . The studied dice snake populations were characterized by some sexual dimorphism in the snout-vent length, tail length and the number of subcaudal scales. A higher percentage of bilateral

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, пр. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-095-173-62-18. E-mail: serejamahno@gmail.com

asymmetry in snakes from the population close to the Prydniprovska TPP was found. Such changes are usually considered to be an indicator of a certain destabilization of the embryogenesis.

Keywords: anthropogenic influence; sexual dimorphism; pholidosis; asymmetry

Введение

Водяной уж *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768) – один из самых распространенных видов змей на территории Южной Палеарктики и Северной Африки (Baha el Din, 2011; Mebert et al., 2011; Tuniyev et al., 2011; Werner and Shapira, 2011; Ibrahim, 2012). Северная граница ареала обитания этого вида проходит через территорию Украины и возможно имеет тенденцию к продвижению на север в связи с прогнозируемым повышением значения среднегодовой температуры (Kotenko et al., 2011; Nekrasova et al., 2013).

На территории Центрального и Южного Приднепровья водяной уж является фоновым видом. При соответствующих условиях ландшафта и наличия кормовой базы сохраняется стабильность популяции даже под влиянием антропогенной нагрузки (Göçmen et al., 2011; Gaebele et al., 2013; Weiperth et al., 2014). Однако относительная изоляция и различная степень влияния факторов среды могут приводить к расхождению эпигенетических систем популяций *N. tessellata*, которые будут проявляться в виде морфометрических и фенетических особенностей (Waddington, 1970). На данный момент эти особенности изучены локально, что препятствует созданию точных эколого-морфологических моделей (Mebert, 2011; Marosi et al., 2012). Актуальным и необходимым является исследование данных параметров популяций водяного ужа в условиях биотопов, подверженных антропогенному влиянию. В пределах Центрального Приднепровья такие исследования проводятся впервые. Полученные данные имеют большое мониторинговое значение и в последующем могут быть использованы для целей биоиндикации (Proskura, 2015).

Цель данного исследования – охарактеризовать морфометрические особенности *N. tessellata* и определить степень изменчивости данных показателей в популяциях ужей, обитающих в условиях техногенной нагрузки.

Материал и методы исследований

Особи *N. tessellata* собраны в период 2013–2016 гг. в трех биотопах, различных по антропогенной нагрузке. Материал собран на территории, прилегающей к Приднепровской ТЭС (48.400716°N, 35.113721°E). Теплоэлектростанции являются объектами повышенного экологического риска. В процессе своей эксплуатации они расходуют большое количество сырья и водных ресурсов, в результате чего продуцируется треть всех загрязняющих атмосферу веществ для степной зоны Украины. Также они являются источником теплового и химического загрязнения водоемов (Timonin, 2003; Kovalenko and Piven, 2010). В условиях усиления антропогенной нагрузки изучение внутривидовой изменчивости имеет определенное значение для биомониторинга состояния популяций и среды обитания (Kammel and Mebert, 2011; Belitskaya and Gordeev, 2012; Bobyliov et al., 2014; Proskura, 2015). В качестве контрольных участков выбраны биотопы Национального природного парка «Великий Луг» (47.447652°N, 35.133827°E) и Майоровой балки (48.262769°N, 35.169007°E) (рис. 1). Исследования проведены в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей».

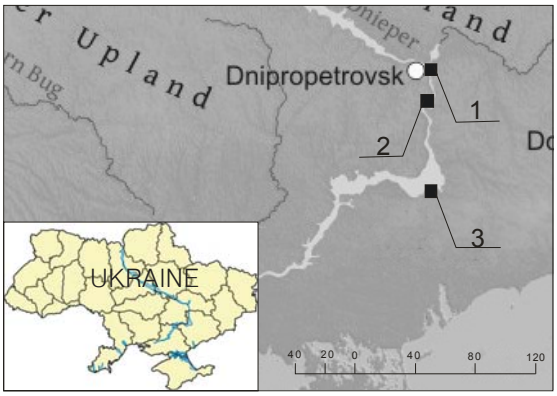


Рис. 1. Районы исследований: 1 – Приднепровск (г. Днепропетровск), 2 – Майорова балка (Днепропетровская область), 3 – Национальный природный парк «Великий Луг» (Запорожская область)

У змей регистрировали такие морфометрические показатели: SVL – длина тела от начала головы до заднего края анального щитка (мм), TL – длина хвоста (мм), SVL/TL – индекс отношения длины тела к длине хвоста, VS – количество брюшных щитков от первого вытянутого поперек щитка на горле до анального щитка, не считая последнего (шт.), SBC – количество подхвостовых щитков (шт.), MBS – количество чешуй вокруг середины тела (шт.), SLS – количество верхнегубных щитков (шт.), TS – количество височных щитков в первом и втором рядах, первый и второй ряд разделены знаком «+», значения левой и правой стороны разделены знаком «/» (шт.), POS – количество заглазничных щитков с левой и правой части головы, значения левой и правой стороны разделены знаком «/» (шт.). (Bannikov et al., 1977; Shliakhtin and Golikova, 1986; Shcherbak, 1989; Feriche et al., 1993; Bulakhov et al., 2007; Gasso, 2011).

Статистическая обработка данных осуществлена путем расчета среднего значения (x), медианы (M) и среднеквадратичного отклонения (SD), коэффициента вариации (CV, %), минимального и максимального значений (Min–Max). Достоверные отличия между исследуемыми выборками оценивали при помощи MANOVA, выполненного в пакете Statistica 10 (StatSoft Inc., USA, 2011). Отличия считали достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Водяной уж является факультативным гигрофилом. На исследуемых территориях встречается вдоль каменистых берегов Днепра с различной плотностью населения. Этот вид связан с водными экосистемами, что обусловлено его спектром питания (Bannikov et al., 1977; Weiperth, 2011).

Значения длины тела (SVL) популяций водяных ужей из разных регионов не имеют значимых отличий. Данный признак характеризуется небольшими колебаниями коэффициента вариации (13,1–19,0%). Предел изменчивости этого параметра для исследуемых популяций варьирует от 360 до 870 мм (табл. 1).

Таблица 1

Морфометрические признаки водяного ужа из Цетрального и Южного Приднепровья

Район исследования	Параметр	x ± SD	M	CV, %	Min–Max
Майорова балка, n = 44	SVL, мм	652 ± 88,8	664	13,6	405–870
	TL, мм	149 ± 20,1	149	13,4	95–195
	SVL/TL	4,47 ± 0,482	4,53	10,8	3,72–5,66
	VS, шт.	181 ± 4,6	181	2,5	168–192
	SBC, шт.	62,2 ± 5,43	62,0	8,8	46–72
	MBS, шт.	18,9 ± 0,15	19,0	0,8	18–19
НПП «Великий Луг», n = 37	SVL, мм	596 ± 113,4	605	19,0	360–845
	TL, мм	140 ± 25,9	145	18,5	83–195
	SVL/TL	4,22 ± 0,413	4,20	10,0	3,3–5,1
	VS, шт.	183 ± 5,7	184	3,1	167–193
	SBC, шт.	68,9 ± 5,68	70,0	8,2	55–81
	MBS, шт.	18,8 ± 0,44	19,0	2,3	17–19
Приднепровск, n = 20	SVL, мм	608 ± 79,7	590	13,1	520–854
	TL, мм	148 ± 18,3	152	12,4	110–176
	SVL/TL	4,21 ± 0,469	4,00	11,2	3,7–5,4
	VS, шт.	181 ± 2,7	181	14,8	177–187
	SBC, шт.	62,4 ± 3,93	61,0	6,3	58–69
	MBS, шт.	19,0 ± 0,00	19,0	0,0	19–19

Примечание: x – среднее значение, SD – среднеквадратичное отклонение, CV – коэффициент вариации (%), M – медиана, Min–Max – минимальное и максимальное значение; обозначение прараметров: SVL – длина тела от начала головы до заднего края анального щитка (мм), TL – длина хвоста (мм), SVL/TL – отношение длины тела к длине хвоста, VS – количество брюшных щитков от первого вытянутого поперек щитка на горле до анального щитка не считая последнего (шт.), SBC – количество подхвостовых щитков (шт.), MBS – количество чешуй вокруг середины тела (шт.).

Особи с минимальной длиной тела выловлены в биотопах НПП «Великий Луг», с максимальными размерами – на территории Майоровой балки. Длина хвоста (TL) водяных ужей изменяется в пределах 83–195 мм и характеризуется невысоким диапазоном коэффициента вариации (12,4–18,5%). При анализе этого признака выявлены статистически значимые ($P < 0,05$) межпопуляционные отличия (табл. 2).

Статистически значимые ($P < 0,05$) отличия между самками и самцами зарегистрированы только для показателя SVL, длина тела самок, выловленных на контрольных территориях, достоверно превышает длину тела самцов (табл. 2). При анализе индекса отношения длины тела к длине хвоста зарегистрированы межполовые и межпопуляционные отличия ($P < 0,05$). Пределы изменчивости данного признака в исследуемых популяциях составляют 3,3–5,6 при коэффициенте вариации 10,0–11,2% (табл. 1). Максимальное значение этого индекса для самцов выявлено у ужей из НПП «Великий Луг» (4,4). Наименьшее значение (4,0) данного признака у самок отмечено для водяных ужей из Приднепровска.

Число чешуй вокруг средины тела (MBS) довольно стабильно. Пределы изменчивости этого признака для исследуемых биотопов – 17–19. На территории Приднепровска для значений MBS не отмечено изменений. Из змей биотопов НПП «Великий Луг» и Майорова балка 19 чешуй вокруг тела имеют 97,7–99,2%, что типично для данного вида. Достоверных различий средних значений количества брюшных щитков (VS) между популяциями не выявлено. Пределы изменений этого показателя в исследуемых популяциях (167–193) соответствуют литературным данным. Наибольшее и наименьшее значения показателя VS отмечены для ужей из НПП «Великий Луг» (табл. 1). Половых различий для данного признака не выявлено. Для ужей из Приднепровска коэффициент вариации превышает почти в 5 раз таковой для змей на других исследуемых территориях.

Число пар подхвостовых щитков (SBC) характеризуется меньшей изменчивостью, чем количество брюшных щитков, коэффициент вариации не превышает 8,8%. Выявлены достоверные ($P < 0,05$) различия этого показателя между популяциями (табл. 2), а также внутрипопуляционные гендерные отличия ($P < 0,001$). Количество подхвостовых щитков самок варьирует от 55 до 69, самцов – от 56 до 81. Змеи, выловленные на территории НПП «Великий Луг», характеризуются большим количеством пар подхвостовых щитков.

Распределение заглазничных щитков (POS) у *N. tessellata* из Приднепровска достоверно отличается от таковых у ужей из Майоровой балки и НПП «Великий Луг» (рис. 2). Характерная комбинация заглазничных щитков 4/4 выявлена всего у 53,8% ужей из Приднепровска, 46,2% имели, соответственно, комбинации 2/3, 3/3, 4/3. У особей, взятых с территорий, не подверженных значительному техногенному прессу, комбинация 4/4 встречалась у 61,8–73,7% ужей, а у 26,3–38,2% отмечены комбинации 3/3, 4/3, 4/5. Единичный случай встречи комбинации 5/5 обнаружен у водяного ужа из Майоровой балки. Высокий процент билатеральной асимметрии у рептилий из биотопов вблизи Приднепровской ТЭС может свидетельствовать о большей дестабилизации процесса онтогенеза водяного ужа,

причину чего на имеющемся материале выявить затруднительно.

Для количества височных щитков (TS) не выявлено внутри- и межпопуляционных достоверных отличий (рис. 3). Этот признак обладает высокой стабильностью для 94,1–100% особей. Характерна комбинация 1+2. На контрольных участках также встречались комбинации 1+3/1+2, 1+3 и 1+2/1+1.

Таблица 2

Факторный анализ морфометрических признаков водяного ужа из Центрального и Южного Приднепровья

Параметр	Фактор	Сумма квадратов, SS	Степень свободы, N	Средний квадрат, MS	F-критерий	P
SVL, мм	экосистема	172,2	2	86,0	0,87	0,42
	пол	808,4	1	807,6	8,17	$5,7 \times 10^{-3}$
	экосистема × пол	18,9	2	9,46	0,10	0,91
TL, мм	экосистема	74,4	2	37,2	5,17	$8,2 \times 10^{-3}$
	пол	14,3	1	14,3	1,99	0,16
	экосистема × пол	26,1	2	13,3	1,81	0,17
SVL/TL	экосистема	91,2	2	45,4	3,97	$2,3 \times 10^{-2}$
	пол	63,4	1	63,4	5,52	$2,1 \times 10^{-2}$
	экосистема × пол	86,9	2	43,4	3,78	$2,8 \times 10^{-2}$
VS, шт.	экосистема	46,0	2	23,3	0,96	0,39
	пол	5,0	1	5,1	0,19	0,67
	экосистема × пол	15,0	2	8,1	0,32	0,73
SBC, шт.	экосистема	161,4	2	80,3	4,76	$1,2 \times 10^{-2}$
	пол	437,2	1	436,5	25,9	$3,0 \times 10^{-6}$
	экосистема × пол	96,4	2	48,2	2,86	$6,5 \times 10^{-2}$
MBS, шт.	экосистема	0,1	2	0,1	0,60	0,54
	пол	0,1	1	0,1	0,40	0,51
	экосистема × пол	0,2	2	0,2	1,10	0,35

Примечание: обозначение параметров морфометрии см. табл. 1.

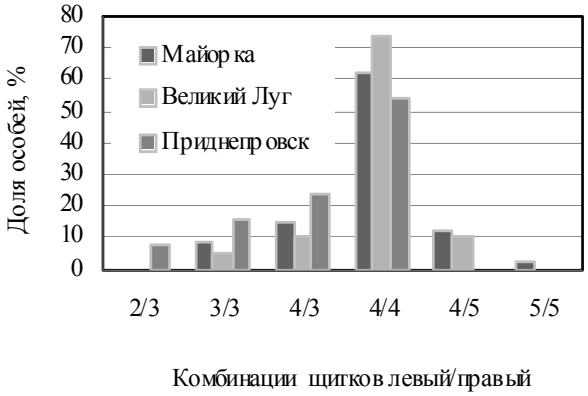


Рис. 2. Распределение числа заглазничных щитков водяных ужей из Центрального и Южного Приднепровья

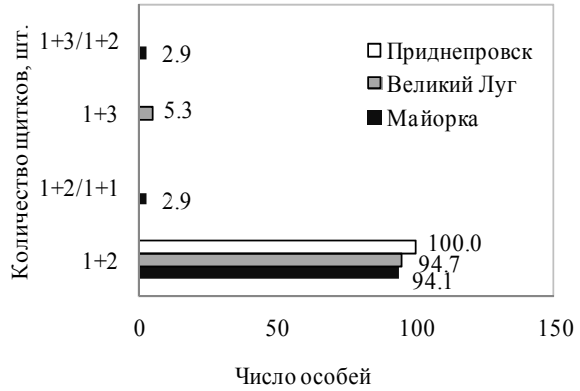


Рис. 3. Распределение числа височных щитков водяных ужей из Центрального и Южного Приднепровья

Количество верхнегубных щитков (SLS) для водяных ужей исследуемых территорий равно 8 и не варьирует, однако у одной особи из Приднепровска зарегистрировано 7 щитков.

Анализируя характер изменчивости качественных признаков в популяциях водяного ужа, можно отметить общие черты, характеризующие своеобразие вида. Все исследуемые параметры соответствуют пределам, описанным в литературе. Выявленные достоверные отличия между исследуемыми популяциями для показателей длины хвоста и количества подхвостовых щитков могут быть связаны с географическими особенностями. Для более южных популяций, согласно литературным данным (Mebert, 2011), характерно увеличение числа подхвостовых щитков. У водяных ужей выявлен половой диморфизм, проявляющийся в значениях длины тела, длины хвоста и количестве подхвостовых щитков. Увеличение показателей асимметрии свидетельствует о воздействии техногенной нагрузки (Feriche et al., 1993; Herczeg et al., 2005; Weiperth et al., 2014).

Выводы

На всех территориях самки от самцов водяного ужа отличаются некоторыми морфологическими и меристическими признаками. У самцов отношение длины тела к длине хвоста и количество подхвостовых щитков больше, чем у самок. На территории НПП «Великий Луг» самки крупнее самцов. Кроме того, самцы водяного ужа на данной территории отличаются самым высоким количеством подхвостовых щитков (до 81).

Для популяции водяного ужа, обитающей на территории, примыкающей к Приднепровской ТЭС, отмечено

нехарактерное количество и высокая степень асимметрии заглазничных щитков по сравнению с контрольными территориями. У некоторых особей зафиксированы деформации подхвостовых щитков.

Библиографические ссылки

Baha el Din, S., 2011. Distribution and recent range extension of *Natrix tessellata* in Egypt. Mertensiella 18, 401–402.

Bannikov, A.G., Darevskij, I.S., Ishhenko, V.G., Rustamov, A.K., Shherbak, N.N., 1977. Opredelitel' zemnovodnyh i presmykajushhihsja fauny SSSR [Key to amphibians and reptiles of fauna of USSR]. Prosveshchenie, Moscow (in Russian).

Belitskaya, M.N., Gordeev, D.A., 2012. Struktura gerpetofauny Golubinskikh peskov [The structure of Golubinsk Sands' herpetofauna]. Izvestiya Nizhnevolzhskogo Agrouniversitetskogo Kompleksa 25, 62–67 (in Russian).

Bobyliov, Y.P., Brygadyrenko, V.V., Bulakhov, V.L., Gaichenko, V.A., Gasso, V.Y., Didukh, Y.P., Ivashov, A.V., Kucheriavyi, V.P., Maliovanyi, M.S., Mytsyk, L.P., Pakhomov, O.Y., Tsaryk, I.V., Shabanov, D.A., 2014. Ekologija [Ecology]. Folio, Kharkiv (in Ukrainian).

Bulakhov, V.L., Gasso, V.Y., Pakhomov, O.Y., 2007. Biologichne riznomanittja Ukrainy. Dnipropetrovs'ka oblast'. Zemnovodni ta plazuny (Amphibia et Reptilia) [Biological diversity of Ukraine. Dnipropetrovsk region. Amphibians and reptiles (Amphibia et Reptilia)]. Dnipropetrovsk University Press, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Feriche, M., Pleguezuelos, J.M., Cerro, A., 1993. Sexual dimorphism and sexing of Mediterranean colubrids based on external characteristics. J. Herpetol. 27(4), 357–362.

Gaebele, T., Poyto, I., Weiperth, A., Guti, G., Puky, M., 2013. Abundant prey or optimal microhabitat? *Natrix tessellata* stays hidden in safe areas in a diverse floodplain along the Danube at Göd, Hungary. North-West. J. Zool. 9(2), 374–382.

Gasso, V.Y., 2011. Kharakteristika populyatsiy zvychainogo vuzha lisovyh biogeotsenoziv Prysamar'ia [Grass snake populations' features of the forest biogeocoenoses in the Samara River area]. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ecol. 19(2), 136–142 (in Ukranian).

Göçmen, B., Çiçek, K., Yildiz, M.Z., Atatür, M.K., Dinçaslan, Y.E., Mebert, K., 2011. A preliminary study on the feeding biology of the dice snake, *Natrix tessellata*, in Turkey. Mertensiella 18, 365–369.

Herczeg, G., Szaby, K., Korsys, Z., 2005. Asymmetry and population characteristics in dice snakes (*Natrix tessellata*): An interpopulation comparison. Amphibia-Reptilia 26(3), 422–426.

Ibrahim, A.A., 2012. New records of the dice snake, *Natrix tessellata*, in the Suez Canal zone and Sinai. Amphibian and Reptile Conservation 6(2), 2–4.

Kammel, W., Mebert, K., 2011. Effects of rehabilitation of the polluted river system Mur in Styria, Austria, and construction of hydroelectric power plants on fish fauna and distribution of the dice snake. Mertensiella 18, 188–195.

Kotenko, T.I., Shaitan, S.V., Starkov, V.G., Zinenko, O.I., 2011. The northern range limit of the dice snake (*Natrix tessellata*) in Ukraine and the Don River basin in Russia. Mertensiella 18, 311–325.

Kovalenko, G.D., Piven, A.V., 2010. Ekologicheskii risk dlya zdorov'ia naseleniya pri vozdeistvii vybrosov TES i AES Ukrainy [Environmental public health risk when exposed to emissions of TPP and NPP in Ukraine]. Nuclear and Radiation Safety 4, 50–56 (in Russian).

Liu, Y., Mebert, K., Shi, L., 2011. Notes on distribution and morphology of the dice snake (*Natrix tessellata*) in China. Mertensiella 18, 430–436.

Marosi, B., Zinenko, O.I., Ghira, I.V., Crnobrnja-Isailović, J., Lymberakis, P., Sos, T., Popescu, O., 2012. Molecular data confirm recent fluctuations of northern boundary of dice snake (*Natrix tessellata*) range in Eastern Europe. North-West. J. Zool. 8(2), 374–377.

Mebert, K., 2011. Geographic variation of morphological characters in the dice snake (*Natrix tessellata*). Mertensiella 18, 11–19.

Mebert, K., 2011. Sexual dimorphism in the dice snake (*Natrix tessellata*). Mertensiella 18, 94–99.

Mebert, K., Conelli, A.E., Nembrini, M., Schmidt, B.R., 2011. Monitoring and assessment of the distribution of the dice snake in Ticino, Southern Switzerland. Mertensiella 18, 117–130.

Nekrasova, O.D., Gavris, G.G., Kuybida, V.V., 2013. Changes in the nothern border of the home range of the dice snake, *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae), in the Dnipro basin (Ukraine). Vestn. Zool. 47(5), 475–479.

Proskura, N., 2015. Bioindication and biomonitoring of air pollution. Life Sci. J. 12, 65–67.

Shcherbak, N.N. (ed.), 1989. Rukovodstvo po izucheniju zemnovodnyh i presmykajushhihsja [Manual book on research of amphibians and reptiles]. Institut Zoologii NANU, Kiev (in Russian).

Shliakhtin, G.V., Golikova, V.L., 1986. Metodika polevykh issledovanii ekologii amfibii i reptilii [Methods of field research on the ecology of amphibians and reptiles]. Saratov University Press, Saratov (in Russian).

Timonin, A.S., 2003. Inzhenerno-ekologicheskii spravochnik. Tom 2 [Engineering and environmental handbook. Vol. 2]. Izdatelstvo N. Bochkarevoy, Kaluga (in Russian).

Tuniyev, B., Tuniyev, S., Kirschey, T., Mebert, K., 2011. Notes on the dice snake, *Natrix tessellata*, from the Caucasian Isthmus. Mertensiella 18, 343–356.

Waddington, K.H., 1970. Na puti k teoreticheskoi biologii. Chast' I. Prolegomeny [Towards a theoretical biology. Part 1. Prolegomena]. Mir, Moscow (in Russian).

Weiperth, A., Potyo, I., Puky, M., 2014. Diet composition of the dice snake (*Natrix tessellata* Laurenti, 1768) in the Danube River catchment area. Acta Zool. Bulg. 66, 51–56.

Werner, Y.L., Shapira, T., 2011. A brief review of morphological variation in *Natrix tessellata* in Israel: Between sides, among individuals, between sexes, and among regions. Turk. J. Zool. 35(4), 451–466.

Надійшла до редколегії 15.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 531–539.

doi:10.15421/011672

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 551.506:631.41

Водный режим почвы и урожайность сельскохозяйственных культур при различных технологиях возделывания в Кулундинской степи Алтайского края

В.И. Беляев[1], Т. Майнель[2], Л. Грунвальд[3], Г. Шмидт[5], А.А. Бондарович[4], В.В. Щербинин[4], Е.В. Понькина[4], А.В. Мацюра[4], Э. Штефан[5], П. Иллигер[5], Н.А. Кожанов[6], Н.В. Рудев[6]

[1]Алтайский государственный аграрный университет, Барнаул, Россия
[2]Компания «Амазон», Хасберген, Германия
[3]Компания «Амазон», Астана, Казахстан,
[4]Центр исследования окружающей среды имени Гельмгольца, Фалькенберг, Германия
[5]Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия
[6]КХ «Партнер», с. Полуямки, Россия

Приведены результаты урожайности сельскохозяйственных культур на участках при различных технологиях возделывания с учетом данных сети автоматических станций климатического и почвенно-гидрологического мониторинга в сухой степи (за вегетационные периоды май – сентябрь 2013–2016 гг.). Опубликованны региональные данные по значимым эколого-климатическим параметрам, представляющие интерес для экологов, физиологов растений и фермеров, работающих на Кулундинской равнине. Сравнивали следующие варианты технологий возделывания культур: современная система, представляющая технологию "no-till", без осенней обработки почвы; интенсивная технология глубокой осенней обработки почвы орудием ПГ-3-5 на глубину 22–24 см. Возделывание культур осуществляли с использованием следующей схемы севооборотов: современная система: 1 – 2 – 3 – 4 (пшеница – горох – пшеница – рапс); интенсивная система: 5/6 – 7/8 – 9/10 (пар – пшеница – пшеница). При использовании современной технологии наблюдается лучшая связь между различными слоями почвы. В варианте обычной советской системы так называемая «плужная подошва» на глубине 24 см создает барьер водопроницаемости, что, видимо, препятствует подъему влаги с более низких горизонтов. Результаты изучения хода влажности почвы на глубинах 30 и 60 см за отдельные годы показали преимущества современной технологии перед обычной системой: в варианте с использованием современной технологии прослеживается лучшая

Алтайский государственный аграрный университет, Красноармейский пр., 98, Барнаул, 656049, Алтайский край, Россия
Altai State Agrarian University, Krasnoarmeyskiy Ave., 98, Barnaul, 656049, Altai Krai, Russia
E-mail: belyaev@asuu.ru

Компания «Амазон», Хасберген, 49205, Германия
Amazon Company, Hasbergen, 49205, Germany
E-mail: LarsChristian.Grunwald@bbg.leipzig.de

Компания «Амазон» в Казахстане, Сарыарка р-н, Астана, 010000, Казахстан
Amazon Company in Kazakhstan, Saryarka District, Astana, 010000, Kazakhstan
E-mail: Dr.Tobias.Meinel@amazone.de

Центр исследования окружающей среды имени Гельмгольца, Альтмеркише Више, 55, Фалькенберг, 39615, Германия
Institute of GeoSciences and Geography, Martin Luther University Halle-Wittenberg, Von-Seckendorff-Platz, 4, Halle, 06120, Germany
E-mail: eckart.stephan@geo.uni-halle.de

Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Алтайский край, Россия
Altai State University, Lenin Ave., 61, Barnaul, 656049, Altai Krai, Russia
Tel.: +7-385-229-12-21. E-mail: bondarovich@geo.asu.ru

КХ «Партнер», с. Полуямки, 656056, Алтайский край, Россия
CH "Partner", Poluyamki Village, 656056, Altai Krai, Russia
E-mail: rudev.nikolaj@mail.ru

связь между различными горизонтами и, вероятно, происходит восполнение влаги с более низких горизонтов. Различия в отдельные периоды наблюдений во многом обусловлены перераспределением влаги в почве в зависимости от погодных условий, культур в севообороте и технологии их возделывания. Причем средняя величина влагозапасов за период вегетации 2013–2016 гг. в метровом слое существенно не отличалась. С точки зрения использования почвенной влаги и получения прибавки урожая по данным за четыре года применение современной технологии с севооборотом «пшеница – рапс – пшеница – горох» было более эффективным, чем обычная система с севооборотом «пшеница – пар – пшеница – пшеница». Четырехлетний период наблюдений явно недостаточен для выявления преимуществ современной системы, поскольку за это время невозможно существенно улучшить качественные показатели почвы, которые в дальнейшем будут определять ее водоудерживающие характеристики и влагонакопление.

Ключевые слова: изменение климата; геоэкологический мониторинг; урожайность сельскохозяйственных культур; технологии земледелия; сухая степь; Кулундинская равнина

Soil water regime and crop yields in relation to various technologies of cultivation in the Kulunda Steppe (Altai Krai)

V. Beliaev[1], L. Grunwald[2], T. Meinel[3], G. Schmidt[5], A.A. Bondarovich[4], V.V. Scherbinin[4], E.V. Ponkina[4], A.V. Matsyura[4], E. Stephan[5], P. Illiger[5], N.A. Kozhanov[6], N.V. Rudev[6]

[1]*Altai State Agrarian University, Barnaul, Russia*
[2]*Amazon Company, Hasbergen, Germany*
[3]*Amazon Company, Astana, Kazakhstan*
[4]*Altai State University, Barnaul, Russia*
[6]*CH "Partner", Village of Poluyamki, Russia*

This article presents the results of crop yield in areas with different technologies of cultivation based on the network of automatic stations that provide data on climatic and soil-hydrological monitoring in the dry steppe during the vegetation period of May–September 2013–2016 . These data on regional ecological and climatic parameters are of great interest to the ecologists, plant physiologists, and farmers working in the Kulunda Plain (Altai Territory). We compared the following options for cropping technologies: the modern system, which is the "no-till", technology without autumn tillage;the intensive technology of deep autumn tillage by plough PG-3-5 at a depth of 22–24 cm. Cultivation of crops was carried out using the following scheme of crop rotation: the modern system: 1–2–3–4 (wheat – peas – wheat – rape); the intensive system: 5/6 – 7/8 – 9/10 (fallow – wheat – wheat). We believe that the use of modern technology in these conditions is better due to exchange between the different layers of soil. When the ordinary Soviet system , the so-called "plow sole" , was used , at a depth of 24 cm , we observed that this creates a water conductivity barrier that seems to preclude the possibility of lifting water from the lower horizons. Results of the study of infiltration of soil moisture at the depth of 30 and 60 cm have shown in some years the advantages of the modern technology over the ordinary Soviet system: in the version with the use of modern technology we can trace better exchange between the various horizons and , probably, moisture replenishment from the lower horizons. Differences in individual observation periods are comparatively large due to the redistribution of soil moisture, depending on the weather conditions, the crops used in the crop rotations, and cultivation techniques. Moreover, the average moisture reserves within the one meter layer did not show any significant differences during the growing seasons of 2013–2016 . In terms of soil moisture usage and productive grain yield according to the four year experiment, the application of the modern technology with crop rotation "wheat – rape – wheat – peas" was more effective than the ordinary Soviet system with crop rotation "wheat – fallow – wheat – wheat". The four-year observation period is clearly insufficient to identify the advantages of the modern system, as during this time it is impossible to significantly improve soil quality indicators, which will continue to determine its water-retaining properties and moisture accumulation.

Keywords: global and regional climate change; geo-ecological monitoring; crop yields; agricultural technology; dry steppe; Kulunda Plain

Введение

Кулундинская степь – уникальная территория площадью 5,3 млн га, имеющая существенное значение для развития агропромышленного комплекса Алтайского края. Сложность хозяйственной деятельности в Кулунде во многом обусловлена специфическими погодными условиями, которые на фоне глобальных изменений климата приобретают как позитивный, так и негативный характер (Mosienko, 1972; Polubarinov-Kochin, 1972; Kiryushin, 2013; Fryuauf, 2014; Belyaev, 2015). Особенностями территории Кулунды является обилие света и тепла с суммами активных температур 2 000–2 600 °С и недостаточным увлажнением в течение годового периода – 230–350 мм в течение вегетационного периода. Распределение осадков по территории и по сезонам достаточно неравномерное (Slyadnev, 1965).

Почвы исследуемой территории развивались на мезозойско-кайнозойском седименте в соответствующих климатических условиях. Характерны каштановые и темно-каштановые почвы, которые переходят в южные малогумусные маломощные и среднемощные черноземы Восточно-Кулундинской подпровинции. В непосредственной близости от соленых озер идет процесс засоления, определяющий появление почв галогенного ряда (солонцы, солончаки, солоди), которые, как правило, используются под пастбища. Для этих условий особенно важным является изучение водного режима почв, обоснование эффективных технологий возделывания сельскохозяйственных культур и их чередования в условиях изменяющегося климата с учетом экологических и экономических факторов (Puzanov, 2014).

По-настоящему пересмотреть взгляды на сложившуюся систему обработки почвы заставили разразившиеся в Северной Америке в 1930-х годах пыльные бури. В конце 1930-х – начале 1940-х годов в США и Канаде стали применять почвозащитную обработку – мульчирование стерней. Она заключалась в рыхлении почвы без оборота пласта на глубину 12–25 см с оставлением на поверхности стерни. Эта система обработки

не смогла вытеснить отвальную вспашку: во-первых, вследствие инерции мышления земледельцев, во-вторых, потому, что отвальная вспашка во многих случаях в отсутствие дефляции эффективнее безотвальной, особенно в борьбе с сорняками.

Разразившиеся в 1950-х годах в США пыльные бури дали новый толчок к внедрению безотвальных систем обработки, общему уменьшению интенсивности и количества обработок, стала внедряться даже нулевая система обработки, когда посев культур производился в необработанную почву прямо по стерне предшествующей культуры (Baig and Gamache, 2009; Derpsch and Friedrich, 2009; Kassam et al., 2010).

В последние годы резко возросли средства, вкладываемые в сельское хозяйство. Одна из причин этого заключается в деградации почв под действием эрозии и обработки, распыления ее структуры, уменьшения содержания гумуса. В то же время на полях появилось много мощной «энергонасыщенной» техники, имеющей большую массу. Возникли проблемы деградации почвы при уплотнении ее и разрушении под действием движущейся по полю техники (Crabtree, 2010; Gabriela et al., 2012; Scanlon et al., 2012; Crosbie et al., 2013a, 2013b; Liu et al., 2014).

Одно из основных направлений в решении этой задачи – минимализация обработки почвы, то есть сокращение количества приемов при возделывании сельскохозяйственных культур, уменьшение интенсивности воздействия обработки на почву, уменьшение энергоемкости приемов обработки. Например, при замене отвальной вспашки плоскорезной обработкой на ту же глубину уменьшается воздействие рабочих органов на почву, уменьшается количество топлива, которое расходуется на обработку единицы площади, повышается производительность труда. Количество обработок можно сократить. Когда поле относительно свободно от сорняков, применяются химические или биологические методы их уничтожения, плотность почвы близка к оптимальной для развития сельскохозяйственной культуры (Eitzinger et al., 2004; Lopez-Urrea et al., 2006; Steward et al., 2013; Jasechko et al., 2014).

Особое значение в процессах, определяющих продуктивность и устойчивость агроценоза, имеет сохранение на поверхности почвы растительных остатков. Известна их решающая роль в защите почвы от ветровой эрозии. Разработаны эмпирические связи эродируемости почв и количества стерни на поверхности. Определенное значение пожнивные остатки имеют и в защите почвы от водной эрозии, однако эта их роль изучена крайне слабо. Важно определить соответствующие количественные связи.

Исходя из этих предпосылок, минимализация обработки возможна и осуществляется на большей части территории Евразии, особенно там, где равновесная плотность почвы близка к оптимальной, или велика опасность проявления ветровой и водной эрозии. С другой стороны, чрезвычайное увлечение минимализацией обработки, особенно проведением только безотвальных обработок, приводило на практике к самоотравлению почвы, массовому размножению сорняков, если не было эффективных средств борьбы с ними помимо обработки. Как показал опыт земледельцев Северной Америки, где минимальные системы земледелия применяются длительное время, отвальную обработку в настоящее время нельзя полностью исключить из систем обработки независимо от почвенно-климатических условий. Периодичность ее применения обусловливается указанными выше причинами. Необходимость в применении отвальной обработки может возникать один раз в несколько лет (Ines et al., 2001; Lindwall and Sonntag, 2010; Westenbroek et al., 2010; Soldevilla-Martinez et al., 2014).

За последние 20 лет безотвальная вспашка видоизменила системы земледелия, основанные на вспашке, на больших площадях, в частности, в Северной и Южной Америке и в Австралии. За последние десять лет система “no-till” нашла свое распространение в Азии и Африке, а также в Европе. В настоящее время по этим принципам ведется земледелие на около 125 млн га пашни, что составляет 9% пахотных земель по всему миру на всех континентах и агроэкологических зонах (Friedrich et al., 2012).

На текущий момент издано всего несколько монографий, посвященных изучению теплового и водного баланса за период 1953–1971 гг. – период интенсивного освоения Кулундинской равнины (Mosienko, 1972; Polubarinov-Kochin, 1972; Voronina et al., 1972). Поэтому изучение водного режима почвы и урожайности сельскохозяйственных культур при различных технологиях возделывания в Кулундинской степи Алтайского края представляет значительный практический и научный интерес.

Материал и методы исследований

С целью углубленного исследования природных и технологических факторов динамики урожайности сельскохозяйственных культур на территории степной зоны с 2011 г. начал работу пятилетний германо-российский проект «Кулунда – как предотвратить глобальный синдром “dust bowl” – пыльных бурь»; далее – проект Кулунда (Fruhauf, 2014). Особое место в проекте Кулунда занимает сравнение различных технологий возделывания культур в севообороте. Одна из опытных площадок находится в хозяйстве ООО КХ «Партнер» Михайловского района. Закладка опыта выполнена осенью 2012 года. Сравнивали следующие варианты технологий возделывания культур:

– современная технология, представляющая собой технологию “no-till” без осенней обработки почвы;

– интенсивная технология (технология глубокой осенней обработки почвы орудием ПГ-3-5 на глубину 22–24 см).

Возделывание культур осуществляли в севооборотах:

– современная технология: 1 – 2 – 3 – 4 (пшеница – горох – пшеница – рапс);

– интенсивная технология: 5/6 – 7/8 – 9/10 (пар – пшеница – пшеница).

Весной на опытном поле проводили боронование поперек обработки. До посева на делянках проводили обработку глифосатом сплошного действия. Посевы культур выполняли в агротехнические сроки. Характеристики вариантов по культурам, их размещению, глубине заделки семян, нормам высева и дозам внесения удобрений приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Характеристики вариантов по культурам, глубине заделки семян, нормам высева и дозам внесения удобрений на участках с современной технологией обработки почвы

Культура	Предшественник	Глубина заделки семян, см	Норма высева, кг/га	Доза внесения удобрений, кг/га
Яровая пшеница	рапс	5	120	100
Горох	яровая пшеница	6	180	50
Яровая пшеница	горох	5	120	100
Рапс	яровая пшеница	4	4	100

Таблица 2

Характеристики вариантов по культурам, глубине заделки семян, нормам высева и дозам внесения удобрений на участках с интенсивной технологией обработки почвы

Культура	Предшественник	Глубина заделки семян, см	Норма высева, кг	Доза внесения удобрений, кг
Яровая пшеница	механическай пар	5	150	0
Яровая пшеница	химическай пар	5	150	0
Стерня яровой пшеницы	механический пар	5	150	0
Стерня яровой пшеницы	химический пар	5	150	0
Механический пар	стерня яровой пшеницы	4	0	0
Химический пар	стерня яровой пшеницы	глифосат	0	0

Посев культур по интенсивной технологии выполняли сеялками СЗС-2,1, а по современной технологии – опытной сеялкой Condor.

Для изучения взаимосвязи между технологиями возделывания, метеорологическими и почвенно-гидрологическими параметрами была создана мониторинговая сеть, которая состоит из метеостанции, двух почвенно-гидрологических станций фирмы-производителя ООО «Эко-Тех» (Германия, Eco-Tech) и лизиметрической установки гравитационного действия (лизиметр) фирмы-производителя ООО «Приборы для окружающей среды» (Германия, UGT).

Почвенно-гидрологические станции установлены под тестовыми участками с различными технологиями возделывания культур в севообороте: на повторности опытов 0, делянки 3 (современная технология) и 11 (интенсивная технология). Влажность (%), осмотическое давление и температуру почвы измеряли на глубинах 30, 60, 120 см (Zhang et al., 2005, 2011). Дополнительно в весенний период (начало мая), по всходам (начало июня) и при уборке (сентябрь) на опытных делянках определяли влажность почвы по слоям до одного метра и запасы влаги в метровом слое прибором для экспресс-анализа влажности почв (рис. 1).

При появлении всходов на делянках определяли глубину заделки семян, количество всходов по рядкам посевов, высоту растений. На период уборки проводили отбор проб урожая по делянкам, определяли влажность почвы по слоям, запасы влаги в метровом слое почвы, высоту растений и оценивали элементы структуры урожая: количество растений, сохранившихся к уборке, продуктивных стеблей, массу зерна в колосе, количество зерен в колосе, массу 1 000 зерен, биологический урожай и качество зерна: клейковину, протеин, измерение деформации клейковины, натуру (Eitzinger et al., 2004; Belyaev, 2015; Maksyutov et al., 2015).

Особое внимание уделено ходу влажности в метровом слое почвы, где почвенно-гидрологические станции были установлены в 2013 г. одновременно с началом опытов под двумя вариантами технологий на участках размерами 12 × 30 м. На опытных делянках, оборудованных почвенно-гидрологическими станциями, сравнивали следующие варианты агротехнологий:

а) интенсивная технология; размещение культур в севообороте: пшеница (2013) – пар (2014) – пшеница (2015) – пшеница (2016);

б) современная технология; севооборот: пшеница (2013) – рапс (2014) – пшеница (2015) – горох (2016).

Рис. 1. Комплект для экспресс-анализа влажности почв: ручной прибор-индикатор HH2 Moisture Meter, Гидрозонд FDR ML2x «Эко-Тех», Германия

Количество всходов, глубину заделки семян, высоту растений по рядкам посевов определяли в 10-кратной повторности. Отбор проб урожая выполнен в 5-кратной повторности.

Результаты

На основе данных метеостанции Полуямки за 2013–2015 гг. выявлены даты устойчивого перехода среднесуточных температур воздуха через 0, 5 и 10 °С. В качест-

ве даты начала (окончания) вегетационного периода (Crabtree, 2010; Friedrich et al., 2009; Kassam et al., 2009) принят устойчивый переход среднесуточных температур воздуха через 5 °С (табл. 3).

Анализ данных за вегетационный период (май – сентябрь 2013–2016 гг.) показал, что наиболее теплообеспеченным был период 2015 г., наиболее увлажненными периодами были 2014 и 2016 гг. (табл. 4). Расчетные среднемесячные данные по фактической влажности почвы за вегетационные периоды 2013–2016 гг. приведены в сводных таблицах (табл. 5). Продуктивную влагу не рассчитывали. Сравнение данных средней влажности почвы, полученных на участках с применением различных технологий обработки почвы на глубинах 30, 60 и 120 см, указывает на высокую статистически значимую корреляционную связь показателей влажности между почвенными слоями и вариантами агротехнологий (табл. 6).

Таблица 3

Даты перехода устойчивых среднесуточных температур воздуха через 0, 5 и 10 °С в 2013–2016 гг. по данным метеостанции Полуямки

Год	Дата перехода устойчивых среднесуточных температур воздуха			
	через 0 °С / обратный переход через 0 °С	через 5 °С / обратный переход через 5 °С (вегетационный период)	через 10 °С / обратный переход через 10 °С	продолжительность вегетационного периода, суток
2013	нет данных / 8 ноября	1 мая* / 3 октября	21 мая / 27 сентября	156*
2014	18 марта / 8 ноября	29 марта / 16 октября	18 апреля / 18 сентября	202
2015	10 апреля / 1 ноября	11 апреля / 12 октября	18 апреля / 5 октября	184
2016	24 марта / 12 октября	1 апреля / 4 октября	12 апреля / 24 сентября	187

Примечание: * – имеются данные только с 01.05.2013.

Таблица 4

Среднемесячные температура и влажность воздуха, сумма осадков, скорость ветра и солнечная радиация за вегетационный период 2013–2016 гг. (метеорологическая станция Полуямки)

Период	Средняя температура воздуха, °С	Средняя солнечная радиация, Вт/м^2	Сумма осадков, мм		Средняя влажность воздуха, %	Средняя скорость ветра, м/с
			Вайсала	Хелльманн		
2013 г.						
Май	11,4	214,7	37,1	55,5	54,8	3,5
Июнь	17,2	279,7	20,2	37,6	52,1	2,6
Июль	20,7	238,2	51,5	91,7	63,3	2,3
Август	19,1	209,1	42,7	78,7	65,8	2,6
Сентябрь	12,1	154,7	12,8	20,2	59,9	2,4
Среднее / сумма	16,1	219,3 / 1 096,4	164,3	283,7	59,2	2,7
Среднее Вайсала – Хелльманн			224,0		–	
2014 г.						
Май	12,8	253,5	30,2	53,6	44,8	3,2
Июнь	20,9	287,0	11,8	29,0	44,1	2,8
Июль	21,0	239,7	55,8	122,3	55,8	2,8
Август	20,2	229,9	25,5	48,3	56,8	2,4
Сентябрь	10,0	138,5	17,1	18,3	62,3	2,6
Среднее / сумма	17,0	229,6 / 1 148,1	140,4	271,5	52,8	2,8
Среднее Вайсала – Хелльманн			206,0		–	
2015 г.						
Май	15,7	279,6	21,4	22,4	49,2	3,1
Июнь	20,9	299,3	38,7	59,0	54,6	3,2
Июль	21,4	246,1	63,7	89,8	55,2	2,8
Август	19,2	216,1	40,5	55,4	51,9	2,5
Сентябрь	11,6	133,4	17,0	17,9	56,9	2,6
Среднее / сумма	17,8	234,9 / 1 174,5	181,3	244,5	53,6	14,2
Среднее Вайсала – Хелльманн			212,9		–	
2016 г.						
Май	13,1	257,5	31,4	45,7	46,2	2,9
Июнь	20,3	267,9	45,7	56,7	53,6	2,5
Июль	21,6	223,3	95,3	136,9	68,5	2,1
Август	18,0	230,3	17,4	30,2	62,5	2,4
Сентябрь*	16,0	175,9	0,7	2,2	50,7	2,3
Среднее / сумма	17,8	232,9 / 1 154,9	190,5	271,7	56,6	2,4
Среднее Вайсала – Хелльманн			231,1		–	

Примечание: * – данные с 01.09.2016 по 25.09.2016; данные по количеству осадков приведены по датчику фирмы «Вайсала», Финляндия – на высоте 2 м и суммарному осадкомеру фирмы «Эко-Тех», ФРГ – «Хелльманн» на высоте 1 м.

Таблица 5

Среднемесячные значения влажности почв под различными системами земледелия, вегетационный период 2013–2016 гг. (метеорологическая станция Полуямки)

Период	Интенсивная технология обработки почвы, влажность почвы, (%)			Современная система “no-till”, влажность почвы, (%)		
	глубина 30 см	глубина 60 см	глубина 120 см	глубина 30 см	глубина 60 см	глубина 120 см
2013 г.	яровая пшеница			яровая пшеница		
Май	30,7	31,4	30,0	28,2	31,5	30,5
Июнь	29,7	33,4	28,5	26,0	30,4	27,8
Июль	18,9	26,7	26,4	19,5	19,1	15,6
Август	14,0	18,5	18,4	12,8	15,6	13,6
Сентябрь	1,4	17,3	16,2	12,3	14,9	12,6
Среднее	21,3	25,5	23,9	19,8	22,3	20,0
2014 г.	механический пар			рапс		
Май	–	–	–	13,4	21,9	22,6
Июнь	–	–	–	15,0	21,8	20,9
Июль	–	–	–	15,1	16,5	13,5
Август	–	–	–	12,9	15,7	16,3
Сентябрь[1]	20,1	20,9	20,0	11,9	14,6	12,0
Среднее	20,1	20,9	20,0	15,0	18,1	12,0
2015 г.	яровая пшеница			яровая пшеница		
Май	–	–	–	15,9	22,7	23,1
Июнь[2]	11,7	15,3	20,4	18,0	22,3	20,4
Июль[3]	10,2	13,8	15,6	14,8	15,5	12,9
Август	11,3	12,9	14,1	12,6	14,5	12,5
Сентябрь	14,9	12,5	14,3	12,4	14,1	12,7
Среднее	12,1	13,6	16,1	14,7	17,8	16,3
2016 г.	яровая пшеница			горох		
Апрель	21,5	21,7	20,8	15,5	21,7	23,3
Май[4]	20,8	21,2	20,5	17,5	22,6	23,1
Июнь	–	–	–	17,9	22,6	20,8
Июль	12,7	14,5	16,2	17,5	17,4	14,2
Август	11,6	13,6	16,5	16,4	15,0	12,3
Сентябрь	11,3	13,4	16,7	15,4	14,8	11,8
Среднее	15,6	16,9	18,1	16,7	19,1	17,6

Примечание: 1 – данные по “no-till” с 07.09.2014 по 30.09.2014; данные по “no-till” и интенсивной технологии с 01.03.2014 по 23.03.2014; 2 – данные по интенсивной технологии с 25.06.2015 по 30.06.2015; 3 – нет данных по “no-till” и интенсивной технологии с 11.07.2015 по 15.07.2015; 4 – данные по “no-till” только 01.05.2016 и с 23.07.2016 по 07.09.2016; данные по интенсивной технологии с 01.04.2016 по 25.09.2016.

Таблица 6

Корреляционная матрица влажности почвы по различным слоям и вариантам технологий

Слой почвы, см	Технология	30 см		60 см		120 см	
		СС	ИС	СС	ИС	СС	ИС
30 см	СС	–	0,77*	0,84*	0,80*	0,84*	0,80*
	ИСС	–	–	0,80*	0,94*	0,87*	0,90*
60 см	СС	–	–	–	0,84*	0,96*	0,80*
	ИСС	–	–	–	–	0,88*	0,99*
120 см	СС	–	–	–	–	–	0,83*
	ИСС	–	–	–	–	–	–

Примечание: СС – современная система, ИС – интенсивная система; * – результаты значимы при P = 0,001.

Отмечена сильная связь между влажностью почвы на всех глубинах, а при использовании системы “no-till” сильная связь установлена для глубин 60 и 120 см с уровнем влажности на глубине 30 см, что обусловлено изменением водного режима в слоях до 60 см в связи с отказом от обработки почвы.

Этот вывод подтверждается оценками различий влажности почвы при использовании двух технологий обработки, выполненными по формуле:

$$(NT – OS) / OS \quad (1),$$

где NT – влажность почвы с использованием технологии “no-till” (%), OS – влажность почвы с использованием интенсивной технологии (%).

В 2013 г., скорее всего, проявились проблемы «переходного этапа». Например, влажность в слое 30 см на протяжении всего вегетационного периода была выше на участках с интенсивной обработкой почвы. Особенно хорошо эти различия проявились в начале вегетации (май – июнь). В июле на глубине 30 см влажность почвы на участках с современной технологией была лишь на 3% выше, чем на участках с интенсивной технологией обработки почвы. Далее, до конца вегетации, влаги на

участках с современной технологией было меньше, чем на участках с интенсивной технологией. Интересно, что количество влаги на участках с интенсивной технологией в почве на глубине 60 и 120 см в июле достигли одинаковых значений, и далее до конца вегетации существенного разрыва в количестве при одновременном понижении не наблюдалось. На участках с современной технологией на глубине 60 см влаги было больше, чем на глубине 30 и 120 см на протяжении всей вегетации (рис. 2).

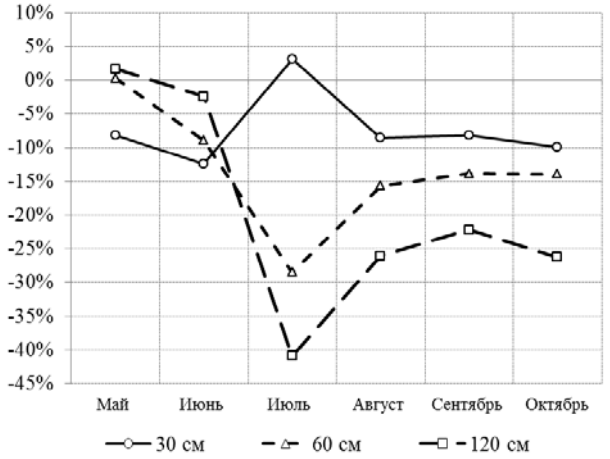


Рис. 2. Динамика различий влажности в почвенном профиле при сравнении современной и интенсивной технологии (май – октябрь 2013 г., почвенно-гидрологическая станция Полуямки): расчет различия влажности почвы выполнен по формуле (1); отрицательное значение показывает, что влажность почвы при современной технологии ниже, чем при использовании интенсивной технологии, положительное – наоборот

Подобный результат объясняется, скорее всего, двумя причинами:

1) отсутствием подстилки из пожнивных остатков на участках с современной технологией обработки почвы, которые были минимальны в первый год опыта;

2) при почвенной обработке по интенсивной технологии разрушение капиляров привело в целом к лучшему водоудержанию в 30 см слое почвы.

Особенно хорошо преимущества современной технологии проявились в июне – июле 2015 г., в период формирования и созревания урожая на глубине 30 и 60 см. В июне на участках “no-till” на глубине 30 см влаги было на 53%, а на 60 см – на 41% больше, чем на участках с интенсивной обработкой. Уже в июле эти различия составили: на глубине 30 см – 46%, на глубине 60 см – 12%. Вместе с тем, на глубине 120 см влаги на участках “no-till” было меньше, чем участках с интенсивной обработкой (рис. 4).

В 2016 г. начальная влагообеспеченность участков с интенсивной технологией на глубине 30 см была на 30% выше, чем на участках с современной технологией обработки почвы. В период июня – августа технология “no-till” демонстрирует преимущества относительно интенсивной обработки почвы по распределению и накоплению влаги в почве на глубине 30 и 60 см (на 40% и 20% соответственно, рис. 5). Кроме того, на опытных делянках с применением этих двух технологий определяли общую урожайность культур и измеряли общие запасы влаги в метровом слое почвы (конец апреля, середина июня, конец августа, начало сентября) за весь период исследований. Замеры осуществляли при помощи ручного влагомера через каждые 10 см (рис. 2). Запасы влаги приведены в таблице 7. Анализ урожайности с применением различных технологий обработки почвы не выявил существенных различий (табл. 8).

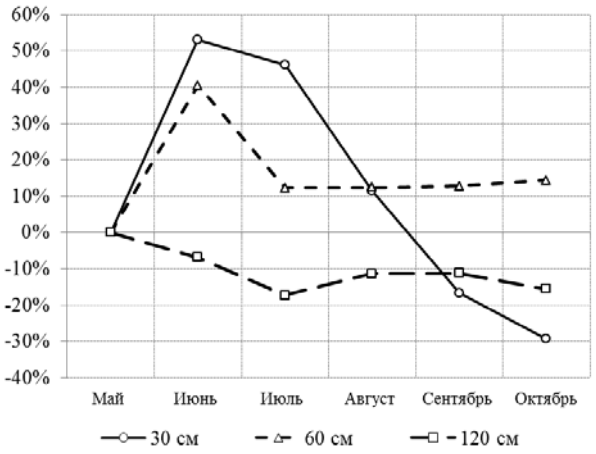


Рис. 4. Динамика различий влажности (%) в почвенном профиле при сравнении современной и интенсивной технологии (май – октябрь 2015 г., почвенно-гидрологическая станция Полуямки): обозначения см. рис. 3

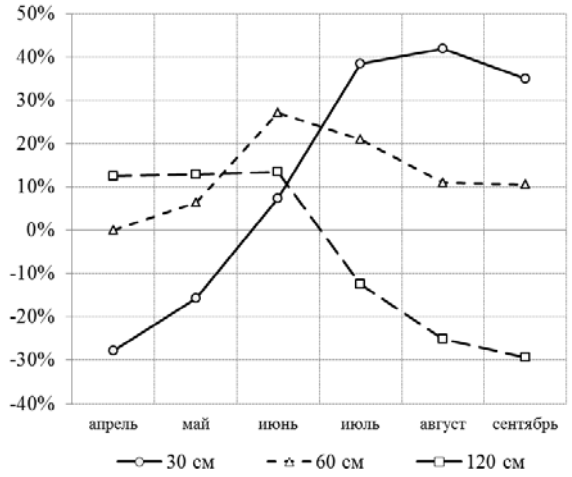


Рис. 5. Динамика различий влажности в почвенном профиле (%) при сравнении современной и интенсивной технологии обработки почвы (апрель – сентябрь 2016, почвенно-гидрологическая станция Полуямки): обозначения см. рис. 3; данные для участков с интенсивной обработкой за июнь интерполированы

Обсуждение

Результаты анализа показывают, что при использовании современной технологии наблюдается лучшее распределение влаги на различных глубинах. При использовании интенсивной технологии на глубине 24 см образуется так называемая «плужная подошва», что создает барьер водпроницаемости, который препятствует подъему влаги из нижних почвенных горизонтов (Belyaev, 2015).

Таблица 7

Общие запасы влаги (мм) в метровом слое почвы относительно разных технологий обработки почвы

Технология	2013 г.			2014 г.			2015 г.			2016 г.			Среднее
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Интенсивная	195,1	168,0	117,6	140,9	101,1	52,5	176,7	176,3	123,9	208,7	202,4	101,8	147,1
Современная	197,8	170,0	121,6	177,5	108,4	71,9	179,4	156,7	124,1	148,3	196,5	94,3	145,5

Примечание: см. табл. 1; сроки замеров запасов влаги: 1 – конец апреля, 2 – середина июня, 3 – конец августа – начало сентября.

Таблица 8

Урожайность возделываемых культур по вариантам технологий обработки почвы

Технология обработки почвы		2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.
Современная	культура	пшеница	рапс	пшеница	горох
	урожай, ц/га	26,1	5,7	14,7	30,7
Интенсивная	культура	пшеница	пар	пшеница	пшеница
	урожай, ц/га	26,9	0,0	14,1	23,3

В.П. Панфилов (Panfilov, 1972) отмечал, что характерная особенность порового пространства супесчаных каштановых почв определяет незначительную капиллярную водоподъемную способность почв Кулунды. Это объясняется порозностью супесчанных каштановых почв, которая составляет менее 50%. При этом 70% – это поры диаметром более 3 мкм, а на долю мелких пор приходится только 30%. Подобная форма порового пространства свидетельствуют о слабой способности почв к удержанию влаги (Lindwall and Sonntag, 2010; Liua et al., 2011; Stanton et al., 2013) и снижении водоподъемных свойств почвы. Таким образом, при иссушении поверхностных горизонтов почвы не происходит капиллярного передвижения влаги и восполнения водного дефицита в этих горизонтах за счет запасов влаги нижележащих слоев почвы (Panfilov, 1972; Lopez-Urrea et al., 2006; Crosbie et al., 2013b).

В 2013 году значимых различий в запасах влаги на метровом слое почвы по сравниваемым технологиям не наблюдали. Урожайность возделываемой яровой пшеницы также отличалась несущественно (26,1 и 26,9 ц/га при использовании современной и интенсивной технологии обрабоки почвы соответственно).

Весной 2015 г. значимых различий в запасах влаги относительно вариантов технологий не выявлено, а в летний период достоверное увеличение зафиксировано при использовании современной технологии (в среднем на 19,6 мм). Увеличение урожайности яровой пшеницы при применении современной технологии составило 0,6 ц/га. Значительное преимущество во влагонакоплении при использовании современной технологии получено весной 2016 г. (60,4 мм), а к осени этот показатель снизился до 7,5 мм.

Выводы

Результаты исследования динамики влажности почвы показали определенные преимущества современной технологии перед интенсивной технологией обработки почвы; при использовании современной технологии прослеживается более выраженная связь между запасами влаги на исследованных глубинах, и, вероятно, происходит движение влаги из более глубоких слоев почвы.

Различия распределения влаги в отдельные периоды наблюдений во многом обусловлены погодными условиями, культурами севооборота и технологиями их возделывания; средняя величина влагозапасов в периоды вегетации 2013–2016 гг. в метровом слое почвы практически идентична.

С точки зрения распределения почвенной влаги более эффективна комбинация с использованием современной технологии с севооборотом «пшеница – рапс – пшеница – горох», чем интенсивная технология с севооборотом «пшеница – пар – пшеница – пшеница».

Продолжение мониториновых исследований позволит качественно оценить потенциальные преимущества современной системы обработки почвы в данных почвенно-климатических условиях относительно распределения и баланса влаги в почве, влагозапасов и конечных результатов земледелия – урожайности культур.

Библиографические ссылки

Baig, M.N., Gamache, P.M., 2009. The economic, agronomic and environmental impact of no-till on the Canadian Prairies. Alberta Reduced Tillage Linkages, Canada.

Belyaev, V.I., 2015. Ratsional'nye parametry tekhnologii “no-till” i pryamogo poseva pri vozdelyvanii sel'skokhozyaisvennykh kul'tur v Altaiskom krae [Rational technology parameters of “no-till” and direct seeding in the cultivation of agricultural crops in the Altai region]. Vestnik Altaiskoi Nauki 23, 7–12 (in Russian).

Crabtree, B., 2010. In search for sustainability in dryland agriculture. Crabtree Agricultural Consulting, Australia.

Crosbie, R.S., Pickett, T., Mpelasoka, F.S., Hodgson, G., Charles, S.P., Barron, O.V., 2013a. An assessment of the climate change impacts on groundwater recharge at a continental scale using a probabilistic approach with an ensemble of GCMs. Climatic Change 117, 41–53.

Crosbie, R.S., Scanlon, B.R., Mpelasoka, F.S., Reedy, R.C., Gates, J.B., Zhang, L., 2013b. Potential climate change effects on groundwater recharge in the high plains aquifer, USA. Water Resour. Res. 49, 3936–3951.

Derpsch, R., Friedrich, T., 2009. Development and current status of no-till adoption in the world. Proceedings on CD, 18th Triennial Conference of the International Soil Tillage Research Organization (ISTRO). Izmir, Turkey.

Eitzinger, J., Trnka, M., Hösch, J., Žalud, Z., Dubrovský, M., 2004. Comparison of CERES, WOFOST and SWAP models

in simulating soil water content during growing season under different soil conditions. Ecol. Model. 171, 223–246.
Friedrich, T., Derpsch, R., Kassam, A., 2012. Overview of the global spread of conservation agriculture. Field Actions Science Reports [Online], Special Issue 6. Retrieved from: http://factsreports.revues.org/1941
Friedrich, T., Kassam, A.H., Shaxson, F., 2009. Conservation agriculture. In: Agriculture for developing countries. Science and Technology Options Assessment (STOA) Project, European Technology Assessment Group, Karlsruhe, Germany.
Fryuauf, M., 2014. Opyt i posledstviya severoamerikanskogo sindroma "dust bowl – pyl'nykh bur'" dlya proekta «Kulunda» [The experience and the effects of the North American syndrome "dust bowl – Dust Bowl" for "Kulunda" project]. Vestnik Altaiskoi Nauki 4, 226–233 (in Russian).
Gabriela, J.L., Munoz-Carpenab, R., Quemadaa, M., 2012. The role of cover crops in irrigated systems: Water balance, nitrate leaching and soil mineral nitrogen accumulation. Agr. Ecosyst. Environ. 155, 50–61.
Ines, A.V.M., Droogers, P., Makin, I.W., Das Gupta, A., 2001. Crop growth and soil water balance modeling to explore water management options. IWMI Working Paper 22. International Water Management Institute, Colombo, Sri Lanka.
Jasechko, S., Birks, S.J., Gleeson, T., Wada, Y., Fawcett, P.J., Sharp, Z.D., McDonnell, J.J., Welker, J.M., 2014. The pronounced seasonality of global groundwater recharge. Water Resour. Res. 50, 8845–8867.
Kassam, A.H., Friedrich, T., Derpsch, R., 2010. Conservation agriculture in the 21st century: A paradigm of sustainable agriculture. Proceedings of the European Congress on Conservation Agriculture. Madrid, Spain.
Kassam, A.H., Friedrich, T., Shaxson, F., Pretty, J., 2009. The spread of conservation agriculture: Justification, sustainability and uptake. Int. J. Agr. Sustain. 7(4), 1–29.
Kiryushin, V.I., 2013. Problema minimizatsii obrabotki pochvy: Perspektivy razvitiya i zadachi issledovanii [The problem of minimizing tillage: Prospects for development and research tasks]. Zemledelie 7, 3–6 (in Russian).
Polubarinov-Kochin, P.Y. (ed.), 1972. Kulundinskaya step' i voprosy ee melioratsii [Kulunda steppe and questions of its reclamation]. Nauka, Novosibirsk (in Russian).
Lindwall, C.W., Sonntag, B., 2010. Landscape transformed: The history of conservation tillage and direct seeding, knowledge impact in society. University of Saskatchewan, Saskatoon.
Liu, D., Wang, G., Mei, R., Yu, Z., Yu, M., 2014. Impact of initial soil moisture anomalies on climate mean and extremes over Asia. J. Geophys. Res. Atmos. 119, 529–545.
Liua, H.L., Yanga, J.Y., Tana, C.S., Drurya, C.F., Reynoldsa, W.D., Zhanga, T.Q., Baib, Y.L., Jinb, J., 2011. Simulating water content, crop yield and nitrate-N loss under free and controlled tile drainage with subsurface irrigation using the DSSAT model. Agric. Water Manage. 98, 1105–1111.
Lopez-Urrea, R., Martin de Santa Olalla, F., Fabeiro, C., Moratalla, A., 2006. Testing evapotranspiration equations using lysimeter observations in a semiarid climate. Agric. Water Manage. 85, 15–26.
Maksyutov, N.A., Zhdanov, V.M., Skorokhodov, V.Y., Kaftan, Y.V., Mitrofanov, D.V., Zenkova, N.A., Zhizhin, V.N., 2015. Vlagosberegayushchie priemy i tekhnologii v zemledelii Orenburzh'ya [Water saving techniques and technologies in the agriculture of Orenburg region]. Zernovoe Khozyaistvo Rossii 6, 67–72 (in Russian).
Mosienko, N.A., 1972. Agrogidrologicheskie osnovy orosheniya v stepnoi zone (na primere Zapadnoi Sibiri i Severnogo Kazakhstana) [Agrohydrological irrigation bases in the steppe zone (by the example of Western Siberia and Northern Kazakhstan)]. Gidrometeoizdat, Leningrad (in Russian).
Panfilov, V.P., 1972. Vodno-fizicheskaya kharakteristika pochv Kulundy v svyazi s orosheniem [Water-physical characteristics Kulunda soils due to irrigation]. Nauka, Novosibirsk (in Russian).
Puzanov, A., 2014. Aufbau eines bodenhydrologischen Messnetzes in der sibirischen Kulunda steppe. Wasserwirtschaft 10, 15–22.
Scanlon, B.R., Faunt, C.C., Longuevergne, L., Reedy, R.C., Alley, W.M., McGuire, V.L., McMahon, P.B., 2012. Groundwater depletion and sustainability of irrigation in the US High Plains and Central Valley. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, 9320–9325.
Slyadnev, A.P., 1965. Geograficheskie osnovy klimaticheskogo raionirovaniya i opyt ikh primeneniya na yugo-vostoke Zapadno-Sibirskoi ravniny [Geographical bases of climatic regions and the experience of their application in the southeast of the West-Siberian Plain]. Geografiya Zapadnoi Sibiri. Novosibirsk (in Russian).
Soldevilla-Martinez, M., Quemada, R., López-Urrea, R., Munoz-Carpena, J.I., Lizaso, J.I., 2014. Soil water balance: Comparing two simulation models of different levels of complexity with lysimeter observations. Agric. Water Manage. 139, 53–63.
Stanton, J.S., Ryter, D.W., Peterson, S.M., 2013. Effects of linking a soil-waterbalance model with a groundwater-flow model. Groundwater 51, 613–622.
Steward, D.R., Bruss, P.J., Yang, X., Staggenborg, S.A., Welch, S.M., Apley, M.D., 2013. Tapping unsustainable groundwater stores for agricultural production in the High Plains Aquifer of Kansas, projections to 2110. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110, 3477–3486.
Voronina, L.V., Pazukhina, R.A., Slyadnev, A.P., 1972. K voprosu o teplovom balanse yugo-vostoka Zapadno-Sibirskoi ravniny [Comments on the heat balance of the south-east of the West Siberian Plain]. Geografiya Zapadnoi Sibiri 60, 34–72 (in Russian).
Westenbroek, S.M., Kelson, V., Dripps, W., Hunt, R., Bradbury, K., 2010. SWB – a modified thornthwaite-mather soil-water-balance code for estimating groundwater recharge. US Department of the Interior, US Geological Survey, Ground Resources Program.
Yue, S., Pilon, P., Cavadias, G., 2002. Power of the Mann-Kendall and Spearman's rho tests for detecting monotonic trends in hydrological series. J. Hydrol. 259, 254–271.
Zhang, X., Alexander, L., Hegerl, G.C., Jones, P., Tank, A.K., Peterson, T.C., Trewin, B., Zwiers, F.W., 2011. Indices for monitoring changes in extremes based on daily temperature and precipitation data. Wiley Interdiscip. Rev. Clim. Change 2, 851–870.
Zhang, X., Hegerl, G., Zwiers, F.W., Kenyon, J., 2005. Avoiding inhomogeneity in percentile-based indices of temperature extremes. J. Clim. 18, 1641–1651.

Надійшла до редколегії 21.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2), 540–545.

doi:10.15421/011673

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 612.128+616-092.19:616-008.63

Вплив десинхронозу на маркери окисного стресу та стан гліальних проміжних філаментів головного мозку щурів

С.В. Кириченко, Н.Ю. Чернишенко

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

Десинхроноз може бути причиною багатьох захворювань. Не останню роль у патогенезі різних хвороб відіграє також окиснювальний стрес. Досліджували вплив постійного освітлення (десинхронозу) на показники розвитку окисного стресу та вміст білка гліальних проміжних філаментів у мозку старих щурів. За десихронозу відбувається розвиток окисного стресу в гіпокампі, корі великих півкуль і мозочку старих щурів. Тривале постійне освітлення викликало підвищення вмісту ТБК-реактивних продуктів у всіх досліджуваних відділах мозку старих щурів. Це свідчить про активацію процесів перекисного окиснення ліпідів і розвиток окисного стресу. Значні зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів виявлені у відділах, що відповідають за функції вищої нервової діяльності, зокрема, в гіпокампі та корі великих півкуль. Рівень відновленого глутатіону в усіх трьох відділах мозку групи щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, знижувався порівняно з тваринами контрольної групи. Результати вивчення локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин у тесті «відкритого поля» виявили зміни показників тесту за впливу десинхронозу. Виявлено зниження локомоторної активності, пригнічення дослідницької активності, розвиток емоційного стресу. У мозку старих щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, виявлено значне підвищення вмісту гліального фібрилярного кислого білку (ГФКБ). Значне збільшення інтенсивності поліпептидної зони 49 кДа у філаментній і розчинній фракції мозочка та гіпокампі свідчить на користь того, що десинхроноз активує фібрилогенез у гліальних клітинах. Одночасно з'являються деградовані поліпептиди ГФКБ масою 46 кДа. Мелатонін – універсальний адаптоген, який регулює функцію багатьох систем організму. Кількість мелатоніну, що синтезується в організмі, залежить від режиму освітлення. Порушення світлового режиму викликає зниження кількості мелатоніну та розвиток десинхронозу, який може бути причиною багатьох захворювань. Уведення мелатоніну сприяло зворотним змінам – підвищенню рівня відновленого глутатіону, запобігало зростанню вмісту продуктів перекисного окиснення та показників тесту «відкритого поля». Також відбувається зменшення деградації ГФКБ і кількості білка. Це дозволяє зробити припущення стосовно захисного ефекту мелатоніну, що відображався у зменшенні реактивності глії та рівня окисного стресу за десинхронозу в мозку старих тварин.

Ключові слова: постійне освітлення; перекисне окиснення ліпідів; глутатіон; старіння; гліальний фібрилярний кислий білок; ГФКБ

Effect of desynchronosis on oxidative stress biomarkers and the state of glial intermediate filaments in the brains of rats subject to aging

S. Kyrychenko, N. Chernyshenko

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

Desynchronosis may be the cause of many diseases. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of various diseases. The present study investigates the effect of constant light on biomarkers of oxidative stress and content of glial intermediate filaments protein in the brains of old rats. We found that desynchronosis led to development of oxidative stress in the hippocampus, cerebral cortex and cerebellum of old rats. Prolonged continuous lighting led to an increase in the content of TBA-reactive products in all studied regions of the brains of old rats. This indicates an activation of lipid peroxidation and oxidative stress. Significant changes in the content of TBA-reactive products were found in the departments responsible for the functions of the higher nervous activity, particularly in the hippocampus and cerebral cortex. The level of restored glutathione in all three regions of the brain decreased in the group of rats kept under constant illumination in comparison with the control group. The results of the indicators of locomotor and orienting-investigative activity of the animals in the "open field" test revealled changes in the indices for desynchronosis. This showed a reduction in locomotor activity, inhibition of exploratory activity and development of emotional

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin Ave., 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine
Tel.: +38-095-338-61-79. E-mail: svetavk@ukr.net

stress. In the brains of old rats kept under constant illumination a significant increase in the content of glial fibrillary protein (GFAP) was shown. There was a significant increase in the intensity of the polypeptide zone 49 kDa in the filamentous and soluble fraction of the cerebellum and hippocampus. This fact indicates that desynchronosis activates fibrillogenesis in glial cells. At the same time, there is degradation of polypeptides GFAP with Mr in the field of 46 kDa. Melatonin is a universal adaptogen that regulates the function of many body systems. The amount of melatonin which is synthesized depends on the illumination mode. Violation of the global mode reduces the amount of melatonin and leads to the development of desynchronosis, which may be the cause of many diseases. The administration of melatonin helped reverse the changes – raising the level of restored glutathione and preventing the growth of the content of peroxidation products and indices of "open field" test, and also decreasing the degradation of GFAP and the amount of protein. The results indicate the protective effect of melatonin, showing reductions in glial reactivity and in the level of oxidative stress in the brains of old rats subject to desynchronosis.

Keywords: constant lighting; lipid peroxidation; glutathione; aging; melatonin; glial fibrillary acidic protein; GFAP

Вступ

Окиснювальний стрес визначається як дисбаланс між високими концентраціями реактивних форм кисню та клітинного антиоксидантного захисту (Cornelius et al., 2013). У нормальних умовах життєдіяльності в клітині постійно присутній певний рівень перекисного окиснення ліпідів, індукований утворенням активних форм кисню. Рівень перекисного окиснення ліпідів у клітині підтримується на постійному рівні завдяки багаторівневій антиоксидантній системі захисту. Щоб видаляти відпрацьовані активні форми кисню, в головному мозку існують різні захисні системи. Баланс між перекисним окисненням, з одного боку, та антиоксидантною системою, з іншого – необхідна умова для підтримання нормальної життєдіяльності клітини (Yatin et al., 2000). Порушення регуляторних систем викликає надлишкове утворення активних форм кисню, пригнічення антиоксидантного захисту з розвитком окисного стресу. Наслідком цього будуть складні зміни клітинного метаболізму та пошкодження клітинних мембран, виникнення окисної модифікації білків, за якої знижується або зовсім зникає їх функціональна активність. Рівні антиоксидантів у корі головного мозку характеризуються низькими величинами. Таким чином, низький рівень антиоксидантної активності та високий вміст поліненасичених жирних кислот у мозку зумовлюють обмеження антиоксидантного захисту (Cherubini et al., 2008; Nazıroglu, 2011).

Порушення добового світлового циклу викликає стійкий функціональний розлад у нервовій системі. Функціональні порушення за таких умов можуть бути пов'язані зі структурними перебудовами та модуляцією активності нейронів і гліальних клітин. Реактивні астроцити характеризуються збільшеним фібрилогенезом, інтенсивною проліферацією, гіпертрофією та змінами енергетичного метаболізму (Eng et al., 2000). Астроцити мають високу здатність до детоксикації реактивних сполук кисню, значно більший рівень глутатіону та вітаміну Е, ферментів, що залучені до метаболізму глутатіону, та вищу активність супероксиддисмутази порівняно з нейронами (Senol et al., 2014; Bitto et al., 2010).

Мелатонін – гормон, що секретується епіфізом і синтезується з триптофану. Показано його неферментативні антиоксидантні та нейропротекторні властивості (Pandi-Perumal et al., 2012). Як антиоксидант мелатонін знищує вільні радикали та може стимулювати ферменти системи антиоксидантного захисту (Reiter et al., 1997). Доказано ефективність застосування мелатоніну як нейропротектора у разі пошкодження нервової тканини в дослідженнях *in vivo* та *in vitro* (Esposito et al., 2010).

Мелатонін забезпечує захисну дію в нейронах за оксидативного стресу. Подібну корисну дію він може виявляти також в астроцитах (Nedzvetsky et al., 2002; Zhao et al., 2015). Кількість мелатоніну, що синтезується в організмі, залежить від режиму освітлення (Baydas et al., 2007).

Мета нашого дослідження – оцінити зміни показників перекисного окиснення та рівень відновленого глутатіону, вміст гліальних проміжних філаментів у різних відділах головного мозку старих щурів в умовах цілодобового освітлення (десинхронозу).

Матеріал і методи досліджень

Експерименти проводили на 40 старих щурах лінії Вістар (18–22 місяці) масою 260–340 г (за класифікацією Западнюка), яких утримували у стандартних умовах віварію. Тварин випадковим чином поділили на чотири групи. Щури контрольної групи (n = 10) щодня одержували ін'єкцію фізіологічного розчину, їх утримували за постійної температури (24 ºC) та контрольованої довжини світлового дня (12 год/12 год освітлення/темрява). Щури інтактної групи (n = 10) щодня одержували ін'єкцію мелатоніну (10 мг/кг), їх утримували за постійної температури (24 ºC) та контрольованої довжини світлового дня (12 год/12 год освітлення/темрява). Дві експериментальні групи тварин (третя та четверта) утримували за постійного освітлення 250 люкс протягом 10 діб. Щури третьої групи (n = 10) одержували ін'єкцію розчину мелатоніну (10 мг/кг), четвертої групи (n = 10) – тільки розчинник (фізіологічний розчин з 1% етанолом) щодня в один і той самий час. Поведінкові реакції оцінювали в тесті «відкритого поля». Тривалість експерименту становила 10 діб.

Тварин усіх груп декапітували через 10 діб після початку експерименту. Після декапітації вилучали головний мозок, охолоджували його, розділяли на відділи. Потім 0,2 г тканини (кора великих півкуль, мозочок, гіпокамп) гомогенізували в 4,0 мл 0,025 М трис-буфері (pH 8,0), що містив 2 мМ ЕДТА, 1 мМ 2-меркаптоетанол, 0,1 мМ фенілметилсульфонілфторид і соєвий інгібітор трипсину (10 мкг/мл). Гомогенат центрифугували за 30 000 g протягом 60 хв. Супернатант (S_1) містив розчинні білки. Осад ресуспендували в 0,5 мл тієї самої буферної системи, яка додатково містила 4 М сечовину. Супернатант, що отримували після другого центрифугування (S_2), містив нерозчинні білки проміжних філаментів. Вміст загального білка в екстрактах визначали методом Лоурі в модифікації Міллера. Визначення поліпептидного складу гліальних філаментів проводили за допомогою імуноблотингу з використанням поліклональної моноспецифічної антисироватки у розведенні 1 : 1 500. Кількісний аналіз ГФКБ

проводили за допомогою комп'ютерної обробки сканованих результатів імуноблотингу.

Вміст карбонільних продуктів ПОЛ визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою. За основу взято класичний метод Mihara et al. (1980). Вміст глутатіону у зразках головного мозку визначали за допомогою методу, запропонованого Sedlak (1968).

Результати досліджень обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0. Застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (відмінності між середніми значеннями вважали вірогідними за $P < 0,05$). У таблиці наведено середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки (SE).

Результати та їх обговорення

Втрата окисно-відновного балансу викликає окисно-напружений стан, що характеризується збільшенням прооксидантів і зменшенням ємності антиоксидантної системи, щоб протистояти впливу активних форм кисню (Halliwell, 2012). Це важливо, тому що за оксидативно-стресового стану зміни окисно-відновної сигналізації викликають зміни регуляторних шляхів у клітині. Стан стресу, індукований у нервовій системі в умовах тривалого постійного освітлення, супроводжується порушеннями гомеостазу окисно-відновних реакцій. Виробництво малонового діальдегіду (МДА) як кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів – основний показник окисного пошкодження клітин. Рівень МДА у тканині мозку групи щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, вищий, ніж у контрольної групи (табл.).

Тривале постійне освітлення викликає підвищення вмісту ТБК-реактивних продуктів у всіх відділах мозку старих щурів, що вказує на активацію процесів перекисного окиснення ліпідів та ушкодження біомембран. Дослідження останніх років підтверджують важливу роль процесів перекисного окиснення ліпідів у структурно-функціональній модифікації біологічних мембран, зміні їх фізико-хімічних властивостей і проникності. Активація процесів ендогенного ПОЛ, яка відіграє головну роль у розвитку стресорних пошкоджень організму, – типовий мембранний механізм для багатьох патологічних станів. Це підтверджують отримані результати.

Антиоксидантна система організму контролює та гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації та завершуючи утворенням гідроперекисів і МДА. Тому наступний етап нашого дослідження – оцінювання вмісту відновленого глутатіону. Отримані результати свідчать про зниження рівня відновленого глутатіону в усіх досліджуваних відділах мозку. У той же час, рівень відновленого глутатіону в мозку групи щурів, яких утримували за постійного освітлення, значно нижчий, ніж у контролі.

Глутатіон займає особливе положення у захисті клітин від ушкоджувальної дії вільнорадикальних продуктів обміну та ендогенних альдегідів. Його відновлена форма відіграє роль «пастки для вільних радикалів» і бере участь у кон'югації ендогенних альдегідів, що виникають у процесі оксидативного стресу. Кон'югати, що утворюються, не виявляють цитотоксичних і генотоксичних властивостей. Вони піддаються подальшим внутрішньоклітинним перетворенням і екскретуються з організму із сечею.

Таблиця

Вміст малонового діальдегіду та відновленого глутатіону в гомогенаті мозку старих щурів за десинхронозу (n = 10)

Показник	I група*	II група	III група	IV група
Гіпокамп				
МДА, нмоль/мг білка	3,28 ± 0,13	3,21 ± 0,12	4,61 ± 0,15*	2,98 ± 0,14
Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	5,12 ± 0,18	5, 08 ± 0,32	4,56 ± 0,46*	5,53 ± 0,39
Кора великих півкуль				
МДА, нмоль/мг білка	3,31 ± 0,18	3,29 ± 0,16	4,69 ± 0,19*	3,15 ± 0,17
Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	5,14 ± 0,20	5,14 ± 0,25	4,36 ± 0,32*	5,58 ± 0,28
Мозочок				
МДА, нмоль/мг білка	3,52 ± 0,13	3,48 ± 0,12	4,48 ± 0,21*	3,45 ± 0,19
Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	5,13 ± 0,21	5,16 ± 0,18	4,52 ± 0,28*	5,48 ± 0,27

Примітки: * – $P < 0,05$ відносно контрольної групи; I група – контрольна група щурів, II – група щурів, які отримували ін'єкції мелатоніну, III – група щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, IV – група щурів, яких утримували 10 діб в умовах постійного освітлення та які отримували ін'єкції мелатоніну (10 мг/кг).

Відновлений глутатіон уважають переважаючим антиоксидантом у корі головного мозку, який присутній у мілімолярних концентраціях. Відновлений глутатіон гомеостазу бере участь в етіології низки захворювань мозку (Senol et al., 2014). За постійного освітлення відбувається зниження вмісту відновленого глутатіону, що може бути показником зниження активності ферментів антиоксидантного захисту в досліджених відділах мозку щурів. З іншого боку, це може бути пов'язано з дискоординацією функціонування антиоксидантних ферментів унаслідок старіння в різних компартментах нервових клітин, яке викликає порушення ефективності антиоксидантного захисту мозку, особливо під час дії на організм прооксидантних факторів. Це, власне, і відбувається за десинхронозу. Причиною зниження активності ферментів антиоксидантного захисту у процесі геронтогенезу може бути фізіологічне зменшення активності їх біосинтезу, або ж характерні для старіння посттрансляційні зміни, пов'язані з окиснювальною модифікацією їх поліпептидної ланки (Calabrese et al., 2005). Окисний стрес, який уважають адаптивною реакцією організму на дію десинхронозу, у старих щурів набуває руйнівного характеру (Halliwell, 2012). Така ситуація потребує корекції, антиоксидантного захисту з використанням, зокрема, природних антиоксидантів.

Уведення мелатоніну, добре відомого антиоксиданта, сприяло зворотним змінам (підвищенню рівня відновленого глутатіону), запобігало зростанню вмісту продуктів перекисного окиснення. Мелатонін може бути антиоксидантом і, водночас, пасткою для вільних радикалів. Тим самим він захищає клітини від утворення вільних радикалів (Reiter et al., 1997; Yang et al., 2015). Тобто мелатонін стимулює різні ланки антиоксидантного захисту клітини, такі як відновлений глутатіон, які сприяють антиоксидантному захисту, пригнічує перекисне окиснення ліпідів, запобігаючи пошкодженням мозку через опосередковану нейротоксичність вільних радикалів внаслідок постійного освітлення. Все це разом свідчить про розвиток стійкого патологічного стану ЦНС за десинронозу, який супроводжується окисним стресом у нервовій тканині. Найзначніші зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів виявлені у відділах, що відповідають за функції вищої нервової діяльності (зокрема, в гіпокампі та корі великих півкуль).

Головний мозок має низку особливостей, що робить його особливо вразливим до дії вільних радикалів. Наприклад, те, що для нього характерний високий вміст ліпідів. До мозку активно постачається кисень, мозок містить багато ферментів, що самі генерують активні форми кисню. Все це робить мозкову тканину дуже вразливою до дії вільних радикалів, навіть за нормального стану організму. У разі пригнічення власної антиоксидантної системи, пошкодження, яких завдають вільні радикали, досить швидко проявляються клінічно у вигляді когнітивної дисфункції тварин та просторової дезорієнтації.

Визначення показників локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин у тестах «відкритого поля» показало, що порушення природного циклу коливань секреції мелатоніну протягом 10 діб викликало зміни показників тесту. У групі щурів, яких утримували в умовах природної добової циклічності та які отримували ін'єкції мелатоніну (12/12 годин світло/темрява), визначено лише незначне зниження локомоторної активності. У групі тварин, яких утримували в умовах постійного освітлення, виявлено значний спад локомоторної активності (зниження кількості центральних квадратів у 2,1 раза) та пригнічення дослідницької активності. Кількість відвідування нірок щурами цієї групи нижча в 1,7 раза порівняно з контролем. Про розвиток емоційного стресу в останній групі свідчать зростання кількості актів грумінгу та зниження кількості актів дефекації (2,2 та 7,0 раза, відповідно). У той же час, у групі щурів, які отримували ін'єкції мелатоніну та утримувались за постійного освітлення, визначено лише незначні зміни поведінкових реакцій відносно контрольної групи: локомоторна активність знижена в середньому на 17%, а дослідницька – на 19%, порівняно з контрольною групою.

Таким чином, загальне зниження локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності може бути пов'язане з порушенням природної циклічності коливань нейроендокринної активності, зокрема, секреції мелатоніну. У групі тварин, яких утримували за постійного освітлення та яким робили щоденні ін'єкції мелатоніну, практично не виявлено достовірних відмінностей поведінкових реакцій відносно тварин контрольної групи. Незначне зниження локомоторної активності у групі тварин, які отримували ін'єкції мелатоніну та яких утримували за нормальної добової світлової циклічності, може бути наслідком седативної властивості мелатоніну (Mistraletti et al., 2015).

Гліальний фібрилярний кислий білок використовується як молекулярний маркер пошкоджень астроцитів та розвитку гліозу. Виявлене збільшення його експресії у процесі старіння та його надмірна експресія за розвитку окисного стресу (Lewen, 2001). Рівень білка гліальних проміжних філаментів і поліпептидний склад визначали у двох (розчинній та цитоскелетній) білкових фракціях гіпокампа, кори великих півкуль і мозочка. Достовірні зміни кількості філаментної форми ГФКБ виявлені у групі тварин, які перебували в умовах впливу десинхронозу (в усіх досліджених відділах мозку). Поряд з інтактним поліпептидом 49 кДа найбільш інтенсивні продукти деградації виявлені в мозочку та корі великих півкуль групи щурів, яких утримували за постійного освітлення (рис.). Для всіх досліджених відділів характерна поява окремих деградованих поліпептидів, що не виявлялися в мозку контрольної групи тварин. Це можна пояснити впливом окисного стресу на гліальний фібрилярний білок і його властивості.

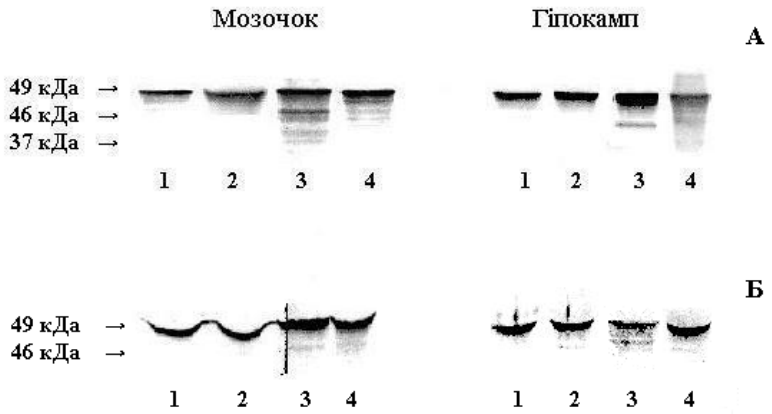


Рис. Імуноблотинг філаментних (*А*) і розчинних (*Б*) фракцій мозочка та гіпокампа щурів:
1 – контрольна група, *2* – група щурів, які отримували ін'єкції мелатоніну (10 мг/кг), *3* – група щурів, яких утримували за постійного освітлення (250 лк/м^2), *4* – група щурів, яких утримували за постійного освітлення (250 лк/м^2) і які отримували ін'єкції мелатоніну (10 мг/кг); n = 10

У мозочку та гіпокампі щурів, яких утримували в умовах постійного освітлення, виявлене значне підвищення вмісту ГФКБ. Загалом зміни філаментної та розчинної форм ГФКБ спрямовані у бік підвищення вмісту. У філаментній фракції спостерігається підвищення ГФКБ у мозочку на 72%, гіпокампі – на 94%, корі великих півкуль – на 45% порівняно з контрольною групою. У розчинній фракції відбуваються такі зміни ГФКБ: у мозочку – майже на 100%, гіпокампі – на 86%, корі великих півкуль – на 52% порівняно з контрольною групою. Відносний вміст ГФКБ в окремих відділах мозку залежить від присутності в них ГФКБ-позитивних клітин. Найвищий вміст ГФКБ визначається в середньому мозку, а найнижчий – у корі великих півкуль. Треба також зазначити, що у мозку щурів філаментний ГФКБ становить значно більшу частину порівняно з розчинною формою. У корі великих півкуль розчинна форма складає в середньому 8% від філаментної, у гіпокампі та мозочку – 15%, у середньому мозку – понад 20%. Збільшення вмісту ГФКБ свідчить про розвиток реактивного астрогліозу у щурів із десинхронозом.

Астрогліоз можу бути механізмом захисту нейронів гліальними клітинами від ексайтотоксичної загибелі. Активація астроцитів і реактивний гліоз супроводжують більшість патологій у головному мозку, спинному мозку та сітківці. Реактивний гліоз – еволюційна, захисна, мультистадійна астрогліальна реакція. Загальновідома особливість активації астроцитів і реактивного гліозу – збільшення виробництва білків проміжних філаментів і ремоделювання проміжної системи синтетичних ниток астроцитів. Активація астроцитів, пов'язана зі змінами експресії багатьох генів і виникненням характерних морфологічних ознак, має важливі функціональні наслідки для організму, такі як інсульт, травма, епілепсія, хвороба Альцгеймера та інші нейродегенеративні захворювання. Дефекти астроцитів, такі як астрогліоз, астрогліальна загибель та збирання астроцитів у пучки (clasmatodendrosis) – патофізіологічний фенотип при нейрональних дегенераціях, лобно-скроневій деменції, ішемічному ушкодженні головного мозку або епілептичному статусі мозку (Halliwell, 2006; Senol et al., 2014). Вплив активації астроцитів і реактивного гліозу на патогенез різних неврологічних розладів ще не повністю вивчено, проте наявні експериментальні дані вказують на безліч корисних аспектів активації астроцитів і реактивний гліоз, які варіюють від ізоляції постраждалого регіону центральної нервової системи із сусідньою тканиною. Це зумовлює обмеження розміру пошкодження, активну нейропротекцію та регуляції гомеостазу центральної нервової системи у період гострого ішемічного, осмотичного або інших видів стресу (Pekny et al., 2014).

Ексайтотоксичні механізми можуть спричинювати швидку загибель нейронів (некроз), а також повільніший процес апоптозу. Концентрація циркулюючого мелатоніну знижується з віком (Vinod, 2016). Таким чином, підвищення реактивної астроцитарної активності з віком може бути пов'язане з поступовим зниженням рівня мелатоніну. Підвищення експресії ГФКБ у процесі старіння може бути пов'язане з оксидативним стресом.

Отримані нами дані та дані попередніх досліджень дозволяють припустити, що реактивний гліоз може гальмувати декілька аспектів нейропластичності та регенерації ЦНС і, таким чином, може бути мішенню для майбутніх терапевтичних втручань. Виявлено захисний ефект мелатоніну, що відображається на зменшенні реактивності глії та демонструє взаємозв'язок реактивності глії та розвиток окисного стресу в клітинах мозку. Адже нормалізація окисно-відновного дисбалансу, викликаного десинхронозним станом за допомогою мелатоніну, тягне за собою відповідне зменшення астрогліозу та нормалізацію функціонування ЦНС, а отже, мелатонін має нейропротекторний ефект.

Висновки

За десинхронозу в мозку старих щурів відбувається розвиток окисного стресу, що підтверджується високим рівнем перекисного окиснення ліпідів та зниженням активності відновленого глутатіону. Розвиток окисного стресу спричинює погіршення стану астроцитів, маркером чого є гліальний фібрилярний кислий білок. Уведення мелатоніну зумовлює збереження рівня внутрішньоклітинного відновленого глутатіону за десинхронозу, що важливо для захисту гліальних клітин від окисних ушкоджень. Антиоксидантні властивості мелатоніну, призводять до підвищення антиоксидантної здатності клітин нервової тканини та гальмування надмірного розвитку астрогліозу у мозку старих щурів за умов десинхронозу.

Бібліографічні посилання

Baydas, G., Koz, S.T., Tuzcu, M., Etem, E., Nedzvetsky, V.S., 2007. Melatonin inhibits oxidative stress and apoptosis in fetal brains of hyperhomocysteinemic rat dams. J. Pineal Res. 43(3), 225–231.

Bitto, A., Sell, C., Crowe, E., Lorenzini, A., Malaguti, M., Hrelia, S., Torres, C., 2010. Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes. Exp. Cell Res. 316, 2961–2968.

Calabrese, V., Lodi, R., Tonon, C., D'Agata, V., Sapienza, M., Scapagnini, G., Mangiameli, A., Pennisi, G., Stella, A.M., Butterfield, D.A., 2005. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. J. Neurol. Sci. 233, 145–162.

Cherubini, A., Ruggiero, C., Morand, C., Lattanzio, F., Dell'aquila, G., Zuliani, G., Di Iorio, A., Andres-Lacueva, C., 2008. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. Curr. Med. Chem. 15, 1236–1248.

Cornelius, C., Crupi, R., Calabrese, V., Graziano, A., Milone, P., Pennisi, G., Radak, Z., Calabrese, E.J., Cuzzocrea, S., 2013. Traumatic brain injury: Oxidative stress and neuroprotection. Antioxid. Redox Signal. 19, 836–853.

Eng, L.F., Ghirnikar, R.S., Lee, Y.L., 2000. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). Neurochem. Res. 25, 1439–1451.

Esposito, E., Cuzzocrea, S., 2010. Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system. Curr. Neuropharmacol. 8, 228–242.

Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? J. Neurochem. 97, 1634–1658.

Halliwell, B., 2012. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. Nutr. Rev. 70, 257–265.

Lewén, A., 2001.Oxidative stress-dependent release of mitochondrial cytochrome c after traumatic brain injury. J. Cereb. Blood Flow Metab. 21, 914–920.

Michara, M., Uchiyama, M., Fukuzava, K., 1980. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid

peroxidation in aging, CCl_4 intoxication, and vitamin E deficiency. Biochem. Med. 23(3), 302–311.
Miller, G.L., 1959. Protein determination for large numbers of samples. Anal. Chem. 31, 964–966.
Mistraletti, G., Umbrello, M., Sabbatini, G., Miori, S., Taverna, M., Cerri, B., Mantovani, E.S., Formenti, P., Spanu, P., D'Agostino, A., Salini, S., Morabito, A., Fraschini, F., Reiter, R.J., Iapichino, G., 2015. Melatonin reduces the need for sedation in ICU patients: A randomized controlled trial. Minerva Anestesiol. 81, 1298–1310.
Nazıroglu, M., 2011. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: Where are we now? Neurochem. Res. 36, 355–366.
Nedzvetsky, V.S., Baydas, G., Nerush, P.A, Kirichenko, S.V., 2002. Melatonin is involved in regulation of the expression of neural cell adhesion molecules in the rat brain. Neurophysiology 34, 190–193.
Pandi-Perumal, S.R., BaHammam, A.S., Brown, G.M., Spence, D.W., Bharti, V.K., Kaur, C., Hardeland, R., Cardinali, D.P., 2013. Melatonin antioxidative defense: Therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. Neurotox. Res. 23(3), 267–300.
Pekny, M., Wilhelmsson, U., Pekna, M., 2014. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. Neurosci. Lett. 565, 30–38.
Reiter, R.J., Guerrero, J.M., Escames, G., Pappolla, M.A., Acuña-Castroviejo, D., 1997. Prophylactic actions of melatonin in oxidative neurotoxicity. Ann. N. Y. Acad. Sci. 825, 70–78.
Sedlak, J., Lindsay, R.H., 1968. Estimation of total, protein bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. Anal. Biochem. 25, 192–205.
Senol, N., Nazıroglu, M., 2014. Melatonin reduces traumatic brain injury-induced oxidative stress in the cerebral cortex and blood of rats. Neural Regen. Res. 9(11), 1112–1116.
Vinod, C., Jagota, A., 2016. Daily NO rhythms in peripheral clocks in aging male Wistar rats: Protective effects of exogenous melatonin. Biogerontology 17: 859–871.
Yang, Y., Jiang, S., Dong, Y., Fan, C., Zhao, L., Yang, X., Li, J., Di, S., Yue, L., Liang, G., Reiter, R.J., Qu, Y., 2015. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice. J. Pineal Res. 58, 61–70.
Yatin, S.M., Varadarajan, S., Butterfield, D.A., 2000. Vitamin E prevents Alzheimer's amyloid beta-peptide induced neuronal protein oxidation and reactive oxygen species production. J. Alzheimers Dis. 2(2), 123–131.
Zhao, L., An, R., Yang, Y., Yang, X., Liu, H., Yue, L., Li, X., Lin, Y., Reiter, R.J., Qu, Y., 2015. Melatonin alleviates brain injury in mice subjected to cecal ligation and puncture via attenuating inflammation, apoptosis, and oxidative stress: the role of SIRT1 signaling. J. Pineal Res. 59(2), 230–239.

Надійшла до редколегії 27.09.2016

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2).

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

Зміст

Деркач К.В., Абраїмова О.Є., Сатарова Т.М. Регуляція морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи групи Ланкастер 253
Назаренко Н.Н. Особенности воздействия нитрозоалкилмочевин на клеточном уровне у озимой пшеницы 258
Романюк О.І., Шевчик Л.З., Ощаповський І.В., Жак Т.В. Методика екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів 264
Берченко О.Г., Бевзюк Д.О., Левічева Н.О., Колядко С.П. Нейрофізіологічні механізми формування нехімічної залежності самостимуляцією позитивно-емоціогенних зон мозку у щурів 270
Варигин А.Ю. Трофическая структура сообщества обрастания Одесского залива Черного моря 276
Маркова А.О. Агресивна поведінка *Erithacus rubecula* (Passeriformes, Muscicapidae) на місцях водопою в лісостеповій зоні України 283
Велигодська А.К., Федотов О.В. Отримання та аналіз препаратів каротиноїдів деяких штамів ксилотрофних базидіоміцетів 290
Приседський Ю.Г. Зміни активності каталази в листі деревних і чагарникових рослин в умовах забруднення повітря сполуками флуору, сульфуру та нітрогену 295
Тафій М.Д., Ніколайчук В.І., Белчгазі В.Й. Вплив розчинів солей цинку на утворення хлорофілу та закладання насіння у гібридів кукурудзи 302
Сидоренко А.И., Сиохин В.Д. Гнездование большого баклана (*Phalacrocorax carbo*) на техногенных сооружениях в Украине 308
Федотов О.В. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів штамів грибів порядків Agaricales і Polyporales 317
Жуков А.В., Задорожная Г.А. Пространственно-временная динамика твердости рекультивированных почв, сформированных в результате добычи полезных ископаемых открытым способом 324
Чайка О., Перетятко Т., Гудзь С., Галушка А. Використання фумарату бактеріями *Desulfuromonas sp.* 332
Ткаченко О.А., Давиденко П.О., Зажарський В.В., Бригадиренко В.В. Біологічні властивості дисоціативних L- та інших форм *Mycobacterium bovis* 338
Власенко К.М., Кузнецова О.В. Застосування сенсорного аналізу у біотехнології культивування макроміцетів 347
Дмитраш-Вацеба І.І. Стан збереження популяцій раритетних видів рослин в умовах антропогенної трансформації лучних степів Південного Опілля 353
Калиновський В.Є., Пустовалов А.С., Гродзюк Г.Я., Андрюшина Н.С., Дзержинський М.Е. Кіспептин-опосередкована регуляція морфофункціонального стану сім'яників щурів за дії наночастинок золота 359
Парпан В.І., Шумська Н.В., Рудейчук-Кобзєва М.Я., Миленька М.М. Синтаксономія рослинності Калуського полігону токсичних відходів гексахлорбензолу (Івано-Франківська область) 364
Парпан Т.В. Біоекологічні засади підтримання стабільності гірських лісових екосистем Українських Карпат 371
Ситник С.А., Ловинська В.М., Грицан Ю.І., Маслікова К.П. Аналіз показників асиміляційної складової у структурі надземної фітомаси деревних порід степових лісостанів України 378
Джуртубаев М.М., Урбанская Т.В., Джуртубаев Ю.М. Многолетняя динамика гидрологических и гидрохимических показателей озера Китай (Одесская область, Украина) 384
Бабець Я.В., Ушакова Г.О., Степченко Л.М. Розподіл астрогліальних білків у мозку щурів за дії доксорубіцину та гуміліду 392
Ємець О.М., Деменко В.М., Кабанець В.В. Фізіологічний стан розвитку личинок і зараженість домашніх копитних *Echinococcus granulosus* (Cyclophyllidea, Taeniidae) у Північно-Східній Україні 398
Андрійчук О.М., Компанець Т.А., Петренко С.М. Адаптація бактеріофагів до нового хазяїна під час подолання міжвидового бар'єру 405
Сєрова Д.О., Таран О.В., Дьомшина О.О. Біологічна активність препаратів на основі гумінових речовин у печінці піщанок (*Meriones unguiculatus*) 410
Рогач В.В., Попроцька І.В., Кур'ята В.Г. Дія гібереліну та ретардантів на морфогенез, фотосинтетичний апарат і продуктивність картоплі 416

Атемасов А.А., Атемасова Т.А., Девятко Т.Н., Гончаров Г.Л. Структура сообщества гнездящихся птиц байрачной дубравы долины реки Оскол 421
Барышников П.И., Хаустов В.Н., Бурцева С.В., Некрасов Р.В., Чабаев М.Г., Зеленченкова А.А., Дурникин Д.А. Продуктивность лактирующих коров при использовании в рационах сенажа из вико-овсяно-гороховой смеси с внесением нового биологического консерванта 430
Прокопчук О.І., Грубінко В.В. Накопичення фосфору рослинами *Myosotis palustris*, *Glyceria maxima* та *Nasturtium officinale* в лабораторному експерименті 437
Бессонова В.П., Ткач В.В., Криворучко А.П. Водний обмін листя *Quercus robur* у протиерозійному насадженні на півдні ареалу виду 444
Зимароєва А.А., Мацюра О.В., Янковський К. Особливості просторового та біотопічного розподілу воронових птахів (вплив градієнта урбанізації) 451
Мацюра О.В., Зимароєва А.А., Янковський К. Пространственные особенности сезонного распределения врановых (анализ городских биотопов) 459
Голобородько К.К., Маренков О.М., Горбань В.А., Воронкова Ю.С. Проблема оцінки життєздатності інвазійних видів в умовах степової зони України 466
Кунах О.Н. Функциональная и пространственная структура сообщества мезопедобионтов урботехнозема 473
Баєва Т.І., Жегунов Г.Ф. Вплив фізичного та емоційного навантаження на метаболічний профіль сироватки крові спортивних коней 484
Гудим Н.Г. Сезонна динаміка чисельності *Brachyiulus jawlowskii* (Diplopoda, Julidae) на арені р. Дніпро 489
Ваганов А.В., Шмаков А.И., Фризен Н. Конспект рода *Anopteris* (Pteridophyta, Pteridaceae) 495
Лавров В.В., Блінкова О.І., Мірошник Н.В., Грабовська Т.О. Антропогенні зміни екологічних умов фітоценозів долин середніх річок України (на прикладі притоки Дніпра – р. Тясмин) 501
Карташов М.А., Воинова Т.М., Сергеева А.В., Стацюк Н.В., Роговский С.В., Гребенева Я.О., Дурникин Д.А. Новый высокопродуктивный штамм *Propionibacterium acidipropionici* FL-48 с повышенной устойчивостью к пропионовой кислоте и масштабирование технологии его наработки в промышленных биореакторах 512
Бойко А.А., Бригадиренко В.В. Влияние водного настоя лекарственных растений на личинок *Strongyloides papillosus* (Nematoda, Strongyloididae) 519
Ермоленко С.В., Гагут А.Н., Гассо В.Я. Изменчивость морфометрических признаков водяного ужа *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) Центрального и Южного Приднепровья 526
Беляев В.И., Майнель Т., Грунвальд Л., Шмидт Г., Бондарович А.А., Щербинин В.В., Понькина Е.В., Мацюра А.В., Штефан Э., Иллигер П., Кожанов Н.А., Рудев Н.В. Водный режим почвы и урожайность сельскохозяйственных культур при различных технологиях возделывания в Кулундинской степи Алтайского края 531
Кириченко С.В., Чернишенко Н.Ю. Вплив десинхронозу на маркери окисного стресу та стан гліальних проміжних філаментів головного мозку щурів 540
Зміст 546

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Vìsnik Dnìpropetrovs'kogo unìversitetu. Serìâ Bìologìâ, ekologìâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. 2016. 24(2).

ISSN 2310-0842 print
ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

Content

Derkach K.V., Abraimova O.E., Satarova T.M. Regulation of *in vitro* morphogenesis in maize inbreds of the Lancaster group ... 253
Nazarenko M.M. Characteristics of action of nitrosoalkylureas on cell level in winter wheat ... 258
Romaniuk O.I., Shevchyk L.Z., Oshchapovskyy I.V., Zhak T.V. Method of ecological assessment of oil-contaminated soils ... 264
Berchenko O.G., Bevzyuk D.O., Levicheva N.O., Koladko S.P. Neurophysiological mechanisms of formation of non-chemical dependence through self-stimulation of positive emotiogenic areas of rats' brains ... 270
Varigin A.Y. Trophic structure of the fouling community in Odessa Bay (Black Sea) ... 276
Markova A.O. Aggressive behaviour of Robins *Erithacus rubecula* (Passeriformes, Muscicapidae) at watering places in the forest steppe zone of Ukraine ... 283
Velygodska A.K., Fedotov O.V. The production and analysis of carotenoid preparations from some strains of xylotrophic Basidiomycetes ... 290
Prysedskyj Y. Changes in catalase activity in leaves of wood and bushy plants in the conditions of air pollution by compounds of fluorine, sulfur and nitrogen ... 295
Tafij M.D., Nikolaichuk V.I., Belchhazi V.J. Effect of zinc salt solutions on the development of chlorophyll and formation of seeds of maize hybrids ... 302
Sidorenko A.I., Siokhin V.D. Nesting of Great Cormorants (*Phalacrocorax carbo*) on man-made structures in Ukraine ... 308
Fedotov O.V. The lipid peroxidation intensity of fungi strains from the orders Agaricales and Polyporales ... 317
Zhukov A.V., Zadorozhnaya G.A. Spatio-temporal dynamics of the penetration resistance of recultivated soils formed after open cast mining ... 324
Chayka O., Peretjatko T., Gudz S., Halushka A. Utilization of fumarate by sulfur-reducing bacteria *Desulfuromonas sp.* ... 332
Tkachenko A.A., Davydenko P.O., Zazharskiy V.V., Brygadyrenko V.V. Biological properties of dissociative L- and other forms of *Mycobacterium bovis* ... 338
Vlasenko K.M., Kuznetcova O.V. The use of sensory analysis in biotechnology of the cultivation of macromycetes ... 347
Dmytrash-Vatseba I.I. Conservation state of populations of rare plant species in highly transformed meadow steppes of Southern Opillya ... 353
Kalynovskyi V.Y., Pustovalov A.S., Grodzyuk G.Y., Andriushyna N.S., Dzerzhynsky M.E. Kisspeptin-mediated regulation of testicular activity of rats under the effect of gold nanoparticles ... 359
Parpan V.I., Shumska N.V., Rudeichuk-Kobzeva M.J., Mylenka M.M. Syntaxonomy of vegetation of Kalush hexachlorobenzene toxic waste landfill (Ivano-Frankivsk region) ... 364
Parpan T.V. Bioecological principles of maintaining stability in mountain forest ecosystems of the Ukrainian Carpathians ... 371
Sytnyk S.A., Lovynska V.M., Gritsan Y.I., Maslikova K.P. Analysis of the parameters of the assimilation component of aboveground biomass of forest-forming species in the steppe zone of Ukraine ... 378
Dzhurtubaev M.M., Urbanskaya T.V., Dzhurtubaev Y.M. Long-term dynamics of hydrological and hydro-chemical indicators of Kytai Lake (Odessa region, Ukraine) ... 384
Babets Y.V., Ushakova G.A., Stepchenko L.M. The role of astroglial proteins in the brains of rats under the influence of doxorubicin and Humilid ... 392
Yemets A.M., Demenko V.M., Kabanyets V.V. The physiological state of the larvae and infestation of domestic ungulates by *Echinococcus granulosus* (Cyclophyllidea, Taeniidae) in North-Eastern Ukraine ... 398
Andriychuk E.N., Kompanets T.A., Petrenko S.M. Adaptation of bacteriophages to new hosts through overcoming the interspecific barrier ... 405
Serova D., Taran O., Dyomshina O. Biological activity of humic substances in the liver of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) ... 410
Rogach V.V., Poprotska I.V., Kuryata V.G. Effect of gibberellin and retardants on morphogenesis, photosynthetic apparatus and productivity of the potato ... 416

Atemasov A.A., Atemasova T.A., Devjatko T.N., Goncharov G.L. Structure of the community of nesting birds in a ravine oak wood in the valley of the Oskol river 421
Baryshnikov P.I., Khaustov V.N., Burtseva S.V., Nekrasov R.V., Chabaev M.G., Zelenchikova A.A., Durnikin D.A. Productivity of lactating cows fed on a diet of haylage from a vetch pea-oat mixture with the introduction of new biological preservative 430
Prokopchuk O., Hrubinko V. Experiments on accumulation of phosphorus in the plants *Myosotis palustris*, *Glyceria maxima* and *Nasturtium officinale* 437
Bessonova V.P., Tkach V.V., Kryvoruchko A.P. Water metabolism of leaves of *Quercus robur* in antierosion stands in the south of its range 444
Zimaroyeva A.A., Matsyura A.V., Jankowski K. Spatial patterns of habitat distribution of Corvidae (the case of urban-rural gradient) 451
Matsyura A.V., Zimaroyeva A.A., Jankowski K. Spatial patterns of seasonal distribution of Corvidae (the case of urban habitats) 459
Holoborodko K.K., Marenkov O.M., Gorban V.A., Voronkova Y.S. The problem of assessing the viability of invasive species in the conditions of the steppe zone of Ukraine 466
Kunah O.N. Functional and spatial structure of the urbotechnozem mesopedobiont community 473
Bayeva T.I., Zhegunov G.F. Influence of physical and emotional activity on the metabolic profile of blood serum of race horses 484
Gudym N.G. Seasonal population dynamics of *Brachyiulus jawlowskii* (Diplopoda, Julidae) in the Dnieper river arena 489
Vaganov A.V., Shmakov A.I., Friesen N. Synopsis of the genus *Anopteris* (Pteridophyta, Pteridaceae) 495
Lavrov V.V., Blinkova O.I., Miroshnyk N.V., Grabovska T.O. Anthropogenic changes in environmental conditions of phytocoenoses on the middle-sized Ukrainian river valleys (based on the example of the River Tyasmyn – a tributary of the Dnieper) 501
Kartashov M.A., Voinova T.M., Sergeeva A.V., Statsyuk N.V., Rogovsky S.V., Grebeneva Y.O., Durnikin D.A. A new highly productive *Propionibacterium acidipropionici* FL-48 strain with increased resistance to propionic acid and the scaling up of its production for industrial bioreactors 512
Boyko A.A., Brygadyrenko V.V. Influence of water infusion of medicinal plants on larvae of *Strongyloides papillosus* (Nematoda, Strongyloididae) 519
Yermolenko S.V., Hahut A.M., Gasso V.Y. Variation in morphological characters of the dice snake *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) in the Central and Southern Dnieper River Area 526
Beliaev V., Grunwald L., Meinel T., Schmidt G., Bondarovich A.A., Scherbinin V.V., Ponkina E.V., Matsyura A.V., Stephan E., Illiger P., Kozhanov N.A., Rudev N.V. Soil water regime and crop yields in relation to various technologies of cultivation in the Kulunda Steppe (Altai Krai) 531
Kyrychenko S., Chernyshenko N. Effect of desynchronosis on oxidative stress biomarkers and the state of glial intermediate filaments in the brains of rats subject to aging 540
Content 548

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія

Заснований у 1993 р.

Том 24(2)

Українською, російською та англійською мовами

Свідоцтво державної реєстрації серія КВ № 19821-9621Р від 15.03.2013 р.

Редакторы В.Д. Маловик, М. Бредбиер, П. Бедбиер
Оригінал-макет виготовив В.В. Бригадиренко

Підписано до друку 25.10.2016. Формат 60×84 $^{1}/_{16}$. Папір друкарський. Друк плоский. Ум. друк. арк. 48,1. Ум. фарбовідб. 48,1. Обл.-вид. арк. 48,1. Тираж 100 пр. Вид. № . Замовлене

Свідоцтво державної реєстрації № ДК – 289 від 21.12.2000 р.

Видавництво Дніпропетровського університету,
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010