

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ПОЛІФЕНОЛІВ У РОСЛИННИХ ВИТЯЖКАХ

**Н. Ю. ГРИБОВА**, кандидат хімічних наук,  
старший науковий співробітник, кафедри загальної, органічної  
та фізичної хімії  
Національний університет біоресурсів та природокористування України  
E-mail: hrybova\_n@i.ua

**Анотація.** Рослинні харчові продукти та лікарські рослини є цінним джерелом біологічно-активних речовин (БАР), їх споживання у харчовому раціоні дозволяє здійснювати профілактичну та лікувальну дію при різних патологічних станах організму. Серед БАР значна увага належить поліфенольним антиоксидантам. У роботі виготовлено рослинні витяжки з висушеної рослинної сировини: кори, коренів та листя, що використовуватися в лікарській практиці. Методом інфрачервоної спектрофотометрії

(ІК-спектроскопії) за функціональними групами: гідроксильними (-ОН) та карбоксильними (-COOH) проведена структурно-групова оцінка вмісту поліфенолів в рослинних витяжках. У спектрах рослинних витяжок кори дуба та калини, листя мучниці в області 3400 см<sup>-1</sup> спостерігаються широкі смуги поглинання високої інтенсивності, які відносяться до частот асоційованих зв'язків О-Н, смуги при 3606-3622 см<sup>-1</sup> (νОН) обумовлені вільними гідроксилами, а при 3626-3654 см<sup>-1</sup> (νОН) просторово-екранованими гідроксилами, що виявлені в найбільшій кількості, серед досліджених витяжок, на спектрах листя мучниці. У складі витяжок кори та коренів рослин виявлені ефіри фенолкарбонових та оксикорічних кислот (1500 см<sup>-1</sup>, 1140-1000 см<sup>-1</sup> νC-O-C, νC=C-O-C), проте названі смуги поглинання характеризуються значно меншою інтенсивністю на спектрах витяжок листя мучниці. Смуги в області 1600-1700 см<sup>-1</sup> характерні для карбоксильних груп γ-піронового циклу флавоноїдів і хинонів. Відповідно до інтенсивностей ідентифікованих піків сумарний вміст фенольних сполук у витяжках знижується в наступному ряді: листя мучниці (*Arctostaphylos Uva-ursi*) > кори дуба (*Quercus cortex*) > кори калини (*Cortex Viburni*) > кореневища з коренями оману (*Inulae Rhizomata Et Radices*) > кореневище і корінь родовика (*Rhizoma et radix Sanguisorbae*).

**Ключові слова:** рослинні витяжки, поліфенольні сполуки, лабораторний контроль, інфрачервона спектрофотометрія

### **Актуальність.**

Сфера лабораторного контролю рослинної сільськогосподарської продукції, відповідно до сучасних потреб аналізування, розширюється та оновлюється, користуючись новими методами лабораторних досліджень показників безпечності та якості продукції харчування [1, 2]. Розвиток лабораторного контролю відбувається завдяки ринковим процесам, орієнтації українських виробників на зовнішні ринки збуту продукції, з новими для українських виробників вимогами. Сільськогосподарська продукція має відповідати нормативам з різних регуляторних документів, що встановлюють вимоги щодо придатності продукції для реалізації, її безпечності встановленої згідно з рекомендованою методикою [3]. Також, новим викликом для виробників рослинної продукції стає виготовлення органічної продукції харчування та функціональних харчових продуктів з певною біологічною цінністю, оскільки безпечні, з точки зору санітарно-гігієнічних вимог, деякі продукти рослинництва є цінним джерелом біологічно-активних сполук, що проявляють профілактичну та лікувальну дію за різних патологічних станів організму людини [4].

### **Аналіз останніх досліджень та публікацій.**

Серед біологічно-активних сполук значна увага приділяється антиоксидантам, а саме поліфенольним сполукам рослинного походження. Багаті поліфенолами харчові продукти здатні підсилювати захисні сили організму в протидії багатьом хворобам. Наприклад, додавання екстр-

актів листя базиліка до корму під час годування хворих піддослідних тварин, дозволило збагатити корм біологічно-активними сполуками, що посилювали роботу захисної системи організму, спричиняли детоксикацію ксенобіотиків та індукцію антиоксидантів в організмі лабораторних тварин. Додавання екстрактів листя базиліка дозволило зменшити пухлинні новоутворення, зменшити показники перекисного окиснення ліпідів та збільшити концентрації глутатіон-S-трансферази, що є важливою ланкою внутрішньоклітинної антиоксидантної системи [5]. В дослідженні [6] встановлено, що етанольні витяжки листя селери проявляли потужну інгібувальну активність щодо процесу утворення кінцевих продуктів глікації транспортних, позаклітинних та внутрішньоклітинних білків, та виконували одну з провідних ролей у попередженні вторинних діабетичних ускладнень. Хімічні сполуки екстрактів листя селери вивчали методами рідинної хроматографії з мас-селективним детектуванням (ВЕРХ/МС/МС) та оцінювали їх властивості в дослідях *in vitro*. Основними поліфенолами, що містяться в екстрактах листя селери, є: апігенін, кемпферол, рутин, каваова кислота, ферулова кислота, хлорогенова кислота, кумаронова кислота. Позитивні для здоров'я ефекти, що спостерігаються в сучасних дослідженнях після вживання екстрактів сільськогосподарських та лікарських рослин не поодинокі та цілком підтверджені [7, 8].

Разом із тим залишається питання про збалансоване використання в харчовому раціоні рослинної сировини та функціональних харчових продуктів. Розв'язання цього питання мож-

на розпочати з аналізу традиційних для українських споживачів витяжок лікарської рослинної сировини, отримання яких відбувається в домашніх умовах. Дослідити вміст поліфенольних сполук в витяжках можна різними по складності та повноті надання інформації, щодо переліку хімічних сполук, методами. З точки зору технічного оснащення методи хроматографії є найскладнішими, між тим перелік виявлених хімічних сполук обумовлений режимами хроматографічного дослідження, спрямованого на розділення та ідентифікацію за аналітичними стандартами хімічних речовин [6].

Простішими методами є спектрофотометричні методи, що добре себе зарекомендували в експрес аналізуванні хімічних речовин та використовуються для виявлення як індивідуальних сполук, так і групи або класу речовин за специфічними функціональними групами [9], у тому числі й в лабораторному контролі фармацевтичних препаратів. Наприклад, метод інфрачервоної спектрофотометрії (ІЧ-спектроскопії), належить до абсорбційних спектроскопічних методів, базується на здатності молекул поглинати ІЧ-випромінювання зі збільшенням коливальної та обертальної енергій ковалентного зв'язку між атомами в молекулі, застосування цього методу для визначення в екстрактах біологічно-активних речовин не потребує руйнування молекул аналітів під час випробування [9], що дозволяє провести повторні випробування та отримати статистично вірогідні результати. На основі ІЧ-спектрів можна проводити якісний та кількісний аналіз поліфенолів, порівнювати результати різних лабораторій без втрати аналітів зразку. ІЧ-спектрофотометрія, як метод аналі-

зу функціональних груп поліфенольних сполук: гідроксильних (-ОН) та карбоксильних (-COOH), описується в літературі в аналізі полімерних матеріалів, для котрих встановлено, що положення смуг поглинання в ІЧ-області однакових функціональних груп молекул різних хімічних сполук ідентичне [9], дозволяє проводити структурно-групову оцінку і визначати загальну кількість реакційно здатних функціональних груп.

**Мета дослідження** – з'ясування можливостей методу ІК-спектрофотометрії для оцінки вмісту поліфенольних сполук у складі рослинних витяжок.

### **Матеріали і методи дослідження.**

Рослинні витяжки отримано в оптимальних умовах методу мацерації [10] як екстрагент застосовано етанол (кваліфікації х.ч.). Сировина для процесу екстрагування: кора дуба (*Quercus cortex*), кора калини (*Cortex Viburni*), листя мучниці (*Arctostaphylos Uva-ursi*), кореневище і корінь родовика (*Rhizoma et radix Sanguisorbae*), кореневища з коренями оману (*Inulae Rhizomata Et Radices*).

Для встановлення вмісту в рослинних витяжках функціональних груп фенольних сполук застосовували метод інфрачервоної спектрофотометрії, спектрофотометр Specord 75-IR. ІЧ-спектри аналітичних стандартів виробництва фірми Sigma-Aldrich (фенолкарбонових кислот, фенолів, хінонів) і сухих екстрактів лікарських рослин, виготовлених в роботі, записували після розтирання їх пресування в диски з KBr (кваліфікація х.ч.) при  $T = 293\text{K}$  [9].

### Результати дослідження та їх обговорення.

Для розвитку сфери застосування рослинних витяжок необхідно знати їх хімічний склад та встановити біологічну роль кожного з компонентів витяжки. Попередню оцінку хімічного складу витяжки можна проводити експрес-методом ІЧ-спектрофотометрії, що дозволить звузити коло пошукових об'єктів, визначити сировину багату рослинними поліфенольними сполуками.

Аналізуючи положення смуг спектрів в діапазоні  $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$  (рис. 1, 2) можна припустити, що в складі всіх екстрактів присутні прості феноли та фенолкарбонові кислоти [11], проте, їх кількість різна.

Підтвердженням індивідуального складу витяжки кожної рослини слу-

жать смуги в області:  $1625-1600 \text{ см}^{-1}$ ,  $1580 \text{ см}^{-1}$  і  $1520 \text{ см}^{-1}$  ( $\nu_{\text{Ar}}(\text{C}=\text{C})$ ),  $3400-3654 \text{ см}^{-1}$  ( $\nu_{\text{OH}}$ ), ( $\delta_{\text{OH}} 1330-1375 \text{ см}^{-1}$ ).

Широкі смуги поглинання за  $2520-2935 \text{ см}^{-1}$ , які відносяться до асиметричних коливань і смуга за  $2300 \text{ см}^{-1}$  вказує на карбоксильні групи, а смуги при  $1716-1680 \text{ см}^{-1}$  відносяться до коливань зв'язків  $\text{C}=\text{O}$ , головним чином складноефірних груп.

У спектрах всіх екстрактів в області  $3400 \text{ см}^{-1}$  спостерігаються широкі смуги поглинання високої інтенсивності, які відносяться до частот асоційованих зв'язків  $\text{O}-\text{H}$ , що пояснюється участю фенолів у створенні водневих зв'язків, смуги за  $3606-3622 \text{ см}^{-1}$  ( $\nu_{\text{OH}}$ ) обумовлені вільними гідроксилами, а за  $3626-3654 \text{ см}^{-1}$  ( $\nu_{\text{OH}}$ ) – просторово-екранованими [12, 13].

Відповідно до висоти ідентифікованих піків уміст фенольних

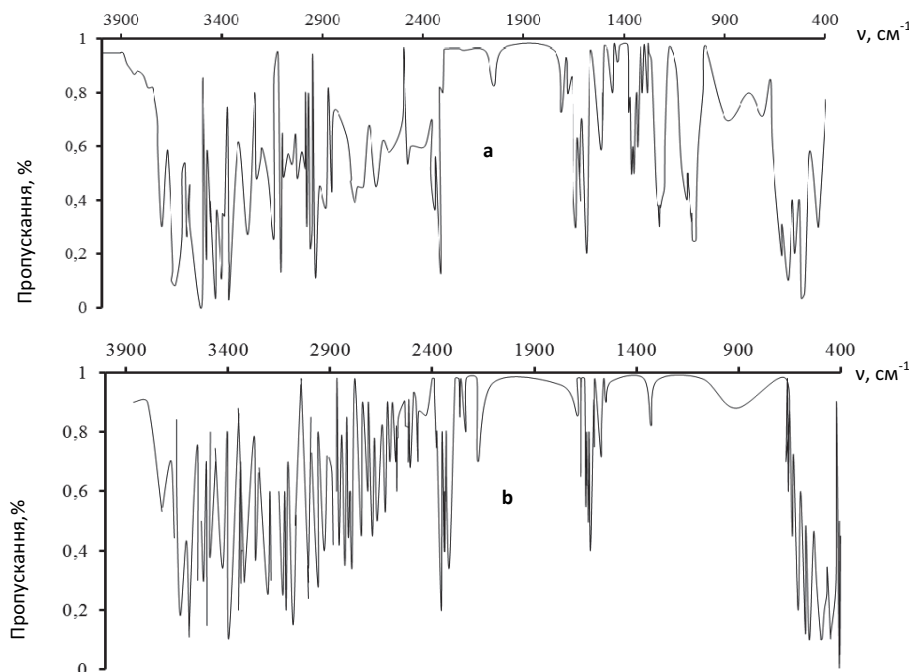
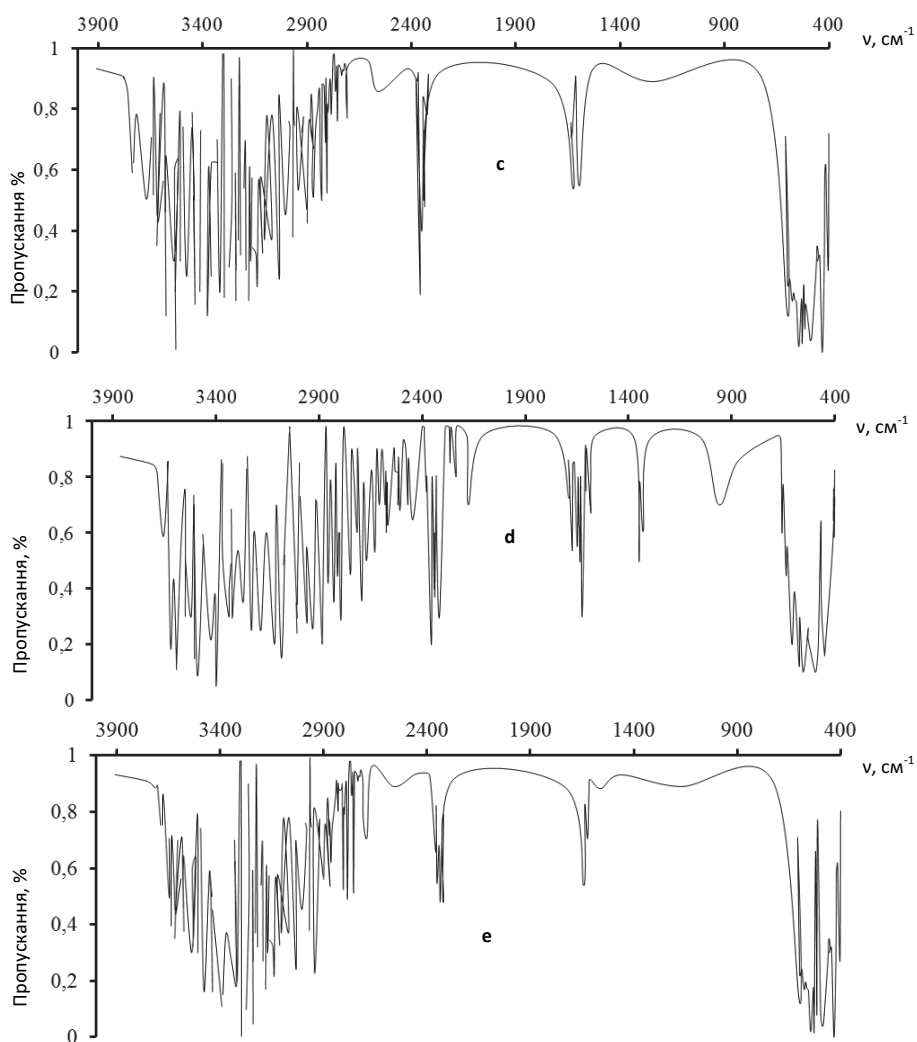


Рис. 1. ІЧ-спектри сухих рослинних витяжок: а – листя мучниці, б – кори дубу. Спектрофотометр Specord 75-IR, диски KBr.

сполук в екстрактах знижується в наступному порядку: листя мучниці (*Arctostaphylos Uva-ursi*) > кори дуба (*Quercus cortex*) > кори калини (*Cortex Viburni*) > кореневища з коренями оману (*Inulae Rhizomata Et Radices*) > кореневище і корінь родовика (*Rhizoma et radix Sanguisorbae*). Наявність широких і сильних смуг

поглинання в області  $2800-3000\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{C-H}$  метильних і метиленових груп) у спектрах екстрактів кори й коренів вивчених рослин говорить про присутність в їх складі суміші таких речовин, як: вуглеводи, пектинові речовини, клітковина.

Екстракт із листя мучниці практично не містить вуглеводів і клітко-



**Рис. 2. ІЧ-спектри сухих рослинних витяжок: с– кори калини, d- кореневища з коренями оману, е - кореневище і корінь родовика. Спектрофотометр Specord 75-IR, диски KBr.**

вини, смуги поглинання 2950  $\text{cm}^{-1}$  та 2880  $\text{cm}^{-1}$  викликані деформаційними коливаннями метоксильних груп фенолкарбонових кислот, що згідно літературних даних представлені в сировині, а саме: бузкової та ванілінової, а також похідними флавоноїдів. У складі екстрактів кори та листя лікарських рослин виявлені ефіри як фенолкарбонових, так і оксікоричних кислот, в екстрактах коренів – глікозиди та ефіри (1500  $\text{cm}^{-1}$  1140-1000  $\text{cm}^{-1}$   $\nu\text{C-O-C}$ ,  $\nu\text{C=C-O-C}$ ) . Смуги в області 1600-1700  $\text{cm}^{-1}$  характерні для карбоксильних груп  $\gamma$ -піронового циклу флавоноїдів і хинонов.

### Висновки та перспективи.

Таким чином, у роботі встановлено, що отримані ІЧ-спектри рослинних витяжок містять характеристичні смуги, що показують наявність гідроксильних та карбоксильних функціональних груп у молекулах різних хімічних речовин природного походження. Метод ІЧ-спектрофотометрії досить простий за інструментальним виконанням та достатньо інформативний, його можна застосовувати для експрес-аналізування сумарної кількості рослинних поліфенолів у складі рослинних витяжок. Відомості щодо загальної кількості поліфенолів у складі витяжки будуть корисні дослідникам, які проводять пошук рослин, вивчають їх біологічну дію та дію отриманих витяжок за різних умов екстрагування.

### References.

1. Nesterova L. O., Hrybova N. Y., Khyzhan O. I., Ushkalov V. O. (2018). Development of controls method for the isomers of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. Scientific Journal of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Agronomy, 286, 312-320.
2. Hrybova N. Yu. (2018). Xenobiotics of PAHs group is extracted from sunflower seeds. Scientific Journal of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Agronomy, 294, 209-218.
3. EN 15662:2008. Foods of plant origin. Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. QuEChERS-method.
4. Parzonko A., Kiss A.K. (2018). Caffeic acid derivatives isolated from *Galinsoga parviflora* herb protected human dermal fibroblasts from UVA-radiation. Phytomedicine, 57 (17), 215-222.
5. Saetan P., Usawakesmanee W., Siripongvutikorn S., Yupanqui C. T. (2017). Reduction of safrole content of *Cinnamomum porrectum* leaves by blanching and the effect on the antioxidant and anti-inflammatory activities of its herbal tea. Functional Foods in Health & Disease, 7 (12), 936-957.
6. Perez Gutierrez R. M., Ramirez A.M., Garcia Campoy A.H., Mota Flores J.M., Flores S.O. (2018). Polyphenols of leaves of *Apium graveolens* inhibit in vitro protein glycation and protect RINm5F cells against methylglyoxal-induced cytotoxicity, 8 (3), 193-211.
7. Nishimura M., Ohkawara T., Nakagawa T., Muro T., Sato Y., Satoh H., Kobori M., Nishihira J. (2017) A randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating the effects of quercetin-rich onion on cognitive function in elderly subjects. Functional Foods in Health & Disease, 7 (6), 353-374.
8. Yanai H. (2017) Anti-atherosclerotic effects of tomatoes. Functional Foods in Health & Disease, 7 (6), 411-428.
9. Nakanisi K. (1965) Infrared spectra and the structure of organic compounds. A practical guide. Moskow: Mir, 216
10. Gribova N. Yu., Filippenko T. A., Nikolaevskii A. N., Khizhan E. I., Bobyleva O. V. (2008) Ef-

- fects of ultrasound on the extraction of antioxidants from bearberry (*Arctostaphylos adans*) leaves. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42 (10), 593-595.
11. Smith A. (1982) *Applied IR-spectroscopy*. Moscow: Mir, 328.
  12. Wright J. S., Johnson E. R., Dilabio G. A. (2001) Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, 123 (6), 1173-1183.
  13. Kovalev I.P., Titov E. V. (1966) Infrared absorption spectra of some groups of natural compounds. Kharkov: KSU, 206.

---

---

**N.Y. Hrybova (2019). POLYPHENOLS CONTENT DETERMINATION IN HERBAL EXTRACTS. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 5-12.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13076>

**Abstract.** Some plants products are a valuable source biologically active substances (BAS), their using on the ordinary diet allows for preventive and therapeutic action in various diseases pathological conditions of the body. Researchers interesting polyphenolic antioxidants among BAS. The method of infrared spectrophotometry (IR-spectroscopy) was applied to detect polyphenols in bark, roots and leaves plants extracts, polyphenolic compounds functional groups were identified: hydroxyl (-OH) and carboxyl (-COOH), the content of which in molecules of various chemical substances transmitted by identical absorption bands. In the spectra of vegetable extracts of oak bark and viburnum, bearberry leaves in the region of 3400 cm<sup>-1</sup>, there are wide absorption bands of high intensity, which are related to the frequencies of associated OH bonds, the bands at 3606–3622 cm<sup>-1</sup> (νOH) are due to free hydroxyls, and at 3626-3654 cm<sup>-1</sup> (νOH) – spatially shielded. In the composition of extracts of bark and leaves of medicinal plants, ethers of phenol carbonic and hydroxycinnamic acids (1500 cm<sup>-1</sup> 1140-1000 cm<sup>-1</sup> νC-O-C, νC=C-O-C) are found. The bands in the region of 1600-1700 cm<sup>-1</sup> are characteristic of the carboxyl groups of γ-pyrans of the flavonoid cycle and quinone. According to the heights of the identified peaks, the content of phenolic compounds in the extracts is reduced in the following order: extracts of bearberry leaves (*Arctostaphylos Uva-ursi*) > Oak bark (*Quercus cortex*) > Viburnum bark (*Cortex Viburni*) > *Devyasela* roots (*Inulae Rhizomata Et Radices*) > Krovochlabky roots (*Rhizoma et radix Sanguisorbae*).

**Keywords:** herbals extracts, polyphenols compounds, laboratory control, infrared spectrophotometry

---



---

---

**Н. Ю. Грибова (2019). ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЫТЯЖКАХ. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 5-12.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13076>

**Аннотация.** Продукты питания растительного происхождения и лекарственные растения являются ценным источником биологически активных веществ (БАВ), их употребление в пищевом рационе позволяет осуществлять профилактическое и лечебное действие при различных патологических состояниях организма. Среди БАВ исследователи выделяют полифенольные антиоксиданты. В работе приготовлены растительные вытяжки из высушенного материала: корней, коры и листьев растений,

которые применяются в лечебной практике. Методом инфракрасной спектрофотометрии (ИК-спектроскопии) по функциональным группам: гидроксильным (-ОН) и карбоксильным (-COOH) проведена структурно-групповая оценка содержания полифенолов в растительных вытяжках. В спектрах растительных вытяжек коры дуба и калины, листьев толокнянки в области  $3400\text{ см}^{-1}$  наблюдаются широкие полосы поглощения высокой интенсивности, которые относятся к частотам ассоциированных связей О-Н, полосы при  $3606 - 3622\text{ см}^{-1}$  (vOH) обусловлены свободными гидроксилами, а при  $3626 - 3654\text{ см}^{-1}$  (vOH) - пространственно-экранированными гидроксилами, в наибольшем количестве выявлены в спектрах листьев толокнянки. В составе экстрактов коры и листьев лекарственных растений обнаружены эфиры фенолкарбоновых и оксикоричных кислот ( $1500\text{ см}^{-1}$   $1140-1000\text{ см}^{-1}$   $\nu\text{C-O-C}$ ,  $\nu\text{C=C-O-C}$ ), при этом названные полосы поглощения характеризуются значительно меньшей интенсивностью в спектрах вытяжек листьев толокнянки. Полосы в области  $1600-1700\text{ см}^{-1}$  характерные для карбоксильных групп  $\gamma$ -пиронов цикла флавоноидов и хинон. Согласно интенсивностей идентифицированных пиков, суммарное содержание фенольных соединений в вытяжках снижается в следующем порядке экстракты: листьев толокнянки (*Arctostaphylos Uva-ursi*) > коры дуба (*Quercus cortex*) > коры калины (*Cortex Viburni*) > корневика и корней девясила (*Inulae Rhizomata Et Radices*) > корневика и корней кровохлебки (*Rhizoma et radix Sanguisorbae*).

**Ключевые слова.** растительные вытяжки, полифенольные соединения, лабораторный контроль, инфракрасная спектрофотометрия

---

## МІНЛИВІСТЬ БОТАНІКО-ЕКОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ДЕРЕВОСТАНІВ САДОВО-ПАРКОВИХ КУЛЬТУРФІТОЦЕНОЗІВ КРИВОРІЗЬКОГО

---

**В. М. САВОСЬКО**, кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри ботаніки та екології  
E-mail: savosko1970@gmail.com

**Н. В. ТОВСТОЛЯК**, здобувач кафедри ботаніки та екології  
Криворізький державний педагогічний університет  
E-mail: t8920@meta.ua

**Ю. В. ЛИХОЛАТ**, доктор біологічних наук, професор,  
завідувач кафедри фізіології та інтродукції рослин  
Дніпровський національний університет ім. Олеса Гончара  
E-mail: lykholat2006@ukr.net

**І. П. ГРИГОРЮК**<sup>3</sup>, доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України, професор кафедри фізіології,  
біохімії рослин та біоенергетики  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
E-mail: grigoryik@ukr.net

**Анотація.** Виявлено мінливість ботаніко-екологічних показників масивних деревостанів садово-паркових культурфітоценозів Криворізького з метою фітооптимізації навколишнього природного середовища. Польові і камеральні дослідження проведено за загальноприйнятими методиками на 10 об'єктах озеленення й 22 тимчасових моніторингових ділянках, де були досліджені: флористичний склад, інвазійна потенціальність адвентивних видів, життєвість та густина насаджень, висота і діаметр стовбура, сума площ поперечних перерізів, запас стовбурної деревини масивних деревостанів.

Установлено, що в садах і парках Криворізького масивні деревостани сформовано з 22 видів, які належать до 13 родів, 12 родин та відділу Покритонасінні. Їх основа складається з клена звичайного (*Acer platanoides* L.), липи широколистої (*Tilia platyphyllos* Scop.), робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia* L.), гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) та дубу звичайного (*Quercus robur* L.). У межах 14 дослідних ділянок (63,64 % від їхньої кількості) виявлено 8 деревних видів рослин (3478 %), які становлять інвазійну загрозу для інших природних і культивованих угруповань, серед яких види-трансформери, зокрема робінія звичайна й клен

---

\* Здобувач кафедри ботаніки та екології, науковий керівник – кандидат біологічних наук, доцент, В. М. Савосько

ясенелистий (*Acer negundo* L.). Життєвість і відносні дендрометричні показники деревостану підтверджують, що деревні види рослин перебувають в стресовому стані внаслідок постійного впливу несприятливих екологічних чинників натурагенного та антропогенного генезису.

**Ключові слова:** масивні деревостани, садово-паркові культурфітоценози, флористичний склад, інвазійна потенціальність, життєвість, дендрометричні показники, мінливість, Криворіжжя

---

### **Актуальність.**

В індустріальних регіонах садово-паркові культурфітоценози (СПКФЦ) забезпечують формування середовища життєдіяльності людини. Вони здатні покращувати мікроклімат і упорядковувати архітектурно-планувальну структуру міст та сприятливо впливати на психічний стан людей в умовах емоційно-навантаженого ритму життя (Lykholat et al., 2017; Haaland & Konijnendijkvan den Bosch, 2015; Kabischabc et al., 2016; Savosko, 2014). У складі СПКЦФ фітомеліоративні функції реалізуються завдяки наявності в їхньому складі масивних деревостанів, які здатні до активного формування фітогенного поля (Bertram & Rehman, 2015; Savosko et al., 2018a).

Однак, в окремих промислових містах степової зони, деревні види рослин зазнають постійного впливу забруднення довкілля та наслідків глобального потепління і посушливості клімату (Derkzen et al., 2017; Savosko & Kvitko, 2017). У результаті цього вони пригнічуються, передчасно старіють і зменшують свої екологічні потенції (Jennifer et al., 2014; Savosko et al., 2018a). У зв'язку з цим, дотепер ґрунтовно не досліджена мінливість ботаніко-екологічних показників масивних деревостанів садово-паркових культурфітоценозів в промислових регіонах степової зони

України, зокрема в Криворізькому гірничо-металургійному регіоні.

На Криворіжжі останніми часами вивченню деревних видів рослин садів та парків постійно приділяється значна наукова увага, як викладачів кафедри ботаніки та екології Криворізького державного педагогічного університету (Savosko, 2014; Savosko & Tovstolyak, 2016; Savosko & Tovstolyak, 2017), так і співробітників Криворізького ботанічного саду НАН України (Fedorovskiy et al., 2012; Terlyga et al., 2015). Проте, в більшості випадків увага вчених зосереджена на флористичних аспектах цієї наукової проблеми. У той час, як екологічна складова сучасного стану масивних деревостанів садово-паркових культурфітоценозів фактично залишається поза увагою дослідників. Звідси витікає нагальна потреба з'ясування за ботанічними та екологічними показниками сучасного стану масивних деревостанів СПКФЦ Криворіжжя.

**Метою дослідження** було з позицій екосистемного підходу проаналізувати функціонування ботаніко-екологічних показників: флористичний склад, інвазійну потенціальність адвентивних видів, життєвість та густоту насаджень, висоту і діаметр стовбура, суму площ поперечних перерізів, запас стовбурної деревини деревостанів садово-паркових культурфітоценозів Криворіжжя.

## Матеріал і методи досліджень.

Нами протягом 2015-2018 рр. досліджено мінливість масивних деревостанів садово-паркових культурфітоценозів Криворіжжя (СПКФЦК), які активно використовує населення регіону. Під час польових досліджень маршрутно-рекогносцировочним методом обстежено всі основні сади та парки регіону. У 10 об'єктах озеленення закладено 22 тимчасові моніторингові ділянки, в межах яких для кожного екземпляра за загальноприйнятими методиками (Hrom, 2005; West, 2009) встановлювали видову приналежність, проводили вимірювання висоти та діаметра стовбура (на відстані 1,3 м від землі), визначали відносний життєвий стан дерева (Alekseev, 1989) за ознаками щільності крони, ступеня пошкодження листків (за дефоліацією і декромацією) та наявності мертвих гілок.

В камеральних умовах за визначником (Dobrochaeva et al., 1999) уточнювали видову назву. Номенклатуру таксонів та їхню систематичну упорядкованість надано згідно Міжнародного індексу наукових назв рослин – IPNI, <http://www.ipni.org/> (IPNI, 2019). Українські назви наведено відповідно до словника українських наукових і народних назв судинних рослин (Kobiv, 2004). За загальноприйнятими методиками (Hrom, 2005; West, 2009) розраховували абсолютні дендрометричні показники деревостану, зокрема, густоту насаджень (шт/га), діаметр стовбура (см), висоту дерев (м), запас стовбурної деревини (м³/га) та суму площ поперечних перерізів (м²/га). Враховуючи вік насаджень (встановлено за архівними матеріалами) розраховували відносні дендрометричні показники: діаметр стовбура (см\*рік⁻¹), висоту дерева (м\*рік⁻¹), запас стовбурної деревини

(м³/га\*рік⁻¹) та суму площ поперечних перерізів (м²/га\*рік⁻¹).

Життєвість деревостану встановлювали за методикою В.А. Алексєєва (Alekseev, 1989) з використанням формул 1 та 2.

$$L_1 = \frac{(100 * n_1 + 70 * n_2 + 40 * n_3 + 5 * n_4)}{N} \quad (1)$$

де:  $L_1$  – життєвість деревостану за показниками кількості дерев, умовних балів;  $n_1$  – кількість здорових дерев на ділянці (шт.);  $n_2$  – кількість ослаблених дерев на ділянці (шт.);  $n_3$  – кількість сильно ослаблених дерев на ділянці (шт.);  $n_4$  – кількість відмираючих дерев на ділянці (шт.); 100, 70, 40, 5 – коефіцієнти, що виражають життєвий стан здорових, ослаблених, сильно ослаблених та відмираючих дерев;  $N$  – загальна кількість дерев на ділянці (шт.).

$$L_2 = \frac{(100 * V_1 + 70 * V_2 + 40 * V_3 + 5 * V_4)}{V} \quad (2)$$

де:  $L_2$  – життєвість деревостану за показниками запасу стовбурної деревини умовних балів;  $v_1$  – запас деревини здорових дерев на ділянці (м³);  $v_2$  – запас деревини ослаблених дерев на ділянці (м³);  $v_3$  – запас деревини сильно ослаблених дерев на ділянці (м³);  $v_4$  – запас деревини відмираючих дерев на ділянці (м³); 100, 70, 40, 5 – коефіцієнти, що виражають життєвий стан здорових, ослаблених, сильно ослаблених та відмираючих дерев;  $V$  – загальний запас стовбурної деревини на ділянці, включаючи сухостій (м³).

Життєвість деревостану СПКФЦК оцінювали за наступною шкалою: здоровий деревостан – 80-100 умовних балів (у.б.); ослаблений – 50-80 у.б.; сильно ослаблений – 20-50 у.б. і повністю зруйнований – нижче 20 у.б. (Alekseev, 1989).

Отримані результати всіх розрахунків опрацьовували матема-

тично з використанням методів і алгоритмів варіаційної статистики (McDonald, 2014).

### **Результати дослідження та їхнє обговорення.**

**Ботаніко-екологічні показники СПКФЦК.** На Криворіжжі міські сади і парки у сучасному розумінні почали створювати наприкінці XIX початку XX ст. одночасно з «залізною лихоманкою». Проте вони були малочисельні й до теперішнього часу фактично не збереглися. Бурхлива індустріалізація колишнього СРСР у 20-30-ті рр. XX ст. зумовила потужний розвиток м. Кривий Ріг та шахтарських селищ. Одночасно із зведенням промислових підприємств відбувалося будівництво об'єктів соціально-культурного побуту, в тому числі і створення численних садів і парків (Savosko & Tovstolyak, 2017).

У повоєнні часи місто продовжувало активно розвиватися, особливо після початку будівництва у 50-60-их рр. надпотужних гірничо-збагачувальних комбінатів. Центр міста, шахтарські і робітничі селища поступово розбудовувалися, збільшувалися й з'єднувалися та формували сучасне урбаністичне обличчя Криворіжжя. За тогочасною традицією, разом з промисловим і житловим будівництвом в м. Кривий Ріг в 60-80 роках XX ст. планували й масштабне зелене будівництво. Проте, за певних обставин значна кількість об'єктів озеленення залишилася лише в проектах (Savosko & Tovstolyak, 2017). Наприкінці XX ст. та початку XXI ст. негативні явища в садово-парковому будівництві міста лише посилювалися. Так, значна кількість садів і парків потрапили у депресивні регіони Криворіжжя (де за-

вершено видобуток залізної руди), до зони шахтних обвалень або просто залишилися поза увагою колишніх власників (гірничорудних підприємств) та міської влади.

СПКФЦК, які активно використовує населення і мають у своєму складі масивні деревостани розпочали створювати ще у 20-30 рр. XX ст. (табл. 1). Саме в цей час були закладені насадження парків ім. Федора Мершавцева (1929 р.), «Руданівський» (1930 р.), ім. Богдана Хмельницького (1935 р.) та біля Палацу культури шахти «Родіна» (1938 р.). Однак, під час Другої світової війни їхні деревостани суттєво постраждали. У повоєнні роки було розроблено і впроваджено комплекс заходів з докорінної реконструкції існуючих садів і парків, а також створено визначні об'єкти озеленення Криворіжжя, в основному в проміжок часу 1945-1965 рр. Зелені насадження скверу кінотеатру «Юність» (створений у 1975 р.) можна вважати наймолодшими серед досліджених нами садів та парків регіону.

Ріст та розвиток деревних видів рослин, як відомо, відбувається за інтегрального впливу екологічних чинників, котрі умовно поділяють на натурагенні (природні) та антропогенні (Haaland & Konijnendijkvan den Bosch, 2015; Jorgensen, 2011; Savosko et al., 2018a). Серед природних факторів критичними і тому найзначущими є родючість (трофність) та, особливо, вологість (гідрологічність) ґрунтів.

Основу ґрунтового покриття Криворіжжя становлять чорноземи звичайні і чорноземи південні, які відзначаються достатньо високим рівнем родючості (Savosko, 2015). В сучасному лісознавстві, їх класифікують як «сугруди» (Vedmid & Rasporina, 2010).

В регіоні також поширені надродючі лучно-чорноземні ґрунти, які ві-

### 1. Загальна характеристика СПКФЦК

| Об'єкт озеленення              | Рік створення | Площа, га | Грунтово-гідрологічні умови | Забруднення атмосферного повітря | Екологічні умови території |
|--------------------------------|---------------|-----------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| Парк «Північний»               | 1963          | 27,0      | Сухі-свіжі сугруди          | Порівняно значне                 | Відносно сприятливі        |
| Парк рудника «Першого Травня»  | 1949          | 8,0       | Сухі-свіжі сугруди          | Порівняно значне                 | Відносно сприятливі        |
| Парк «Тернівський»             | 1963          | 7,7       | Сухі-свіжі сугруди          | Середнє                          | Відносно сприятливі        |
| Парк «Шахтарський»             | 1950          | 42,8      | Сухі-свіжі сугруди          | Середнє                          | Відносно сприятливі        |
| Парк «Затишний»                | 1962          | 3,6       | Сухі сугруди                | Середнє                          | Відносно несприятливі      |
| Сад кінотеатру «Юність»        | 1975          | 3,5       | Сухі сугруди                | Середнє                          | Відносно несприятливі      |
| Парк біля ПК шахти «Родіна»    | 1938          | 4,9       | Сухі сугруди                | Порівняно значне                 | Відносно несприятливі      |
| Парк «Руданівський»            | 1930          | 14,0      | Вологі сугруди              | Порівняно значне                 | Відносно сприятливі        |
| Парк ім. Федора Мершавцева     | 1929          | 36,0      | Вологі груди                | Незначне                         | Сприятливі                 |
| Парк ім. Богдана Хмельницького | 1935          | 42,0      | Сухі сугруди                | Значне                           | Відносно несприятливі      |

домі як «груди» (Vedmid & Raspopina, 2010). Проте гідрологічні показники едафотопів Криворіжжя є менш сприятливими для росту і розвитку деревних видів рослин. У більшості випадків ґрунти регіону відносять до сухих та свіжих. Лише на окремих територіях зустрічаються вологі та сирі категорії ґрунтів (Savosko, 2015).

Наявність низки гірничо-металургійних підприємств Криворізького регіону зумовлює суттєве забруднення атмосферного повітря, що погіршує екологічні умови зростання деревних видів рослин. Згідно класифікаційної схеми, розрізняють значну (З), порівняно значну (ПЗ), середню (С), незначну (НЗ) та періодично незначну (ПН) зони забруднення атмосфери (Savosko et al., 2018a).

Поєднуючи можливі ефекти взаємодії природних ґрунтово-гідроло-

гічних показників і антропогенних чинників забруднення атмосферного повітря (Savosko et al., 2018a) нами виділено сприятливі (С), відносно сприятливі (ВС), відносно несприятливі (ВН) зони екологічних умов росту та розвитку дерев і чагарників в садах і парках Криворіжжя (табл. 1).

**Флористичний склад масивних деревостанів СПКФЦК.** За результатами наших досліджень (Savosko, 2014; Savosko & Tovstolyak, 2016) і даними інших авторів (Fedorovskiy et al., 2012; Terlyga et al., 2015) в парках, садах й скверах Криворіжжя зростає понад 150 видів дерев та чагарників. Проте масивні деревостани садово-паркових культурфітоценозів регіону сформовані лише з 23 видів, що належать до 13 родів, 12 родин та відділу – Покритонасінні.

За кількістю родів і видів провідними родинами нами визначено:

в'язові (*Ulmaceae* Mirb.) – 2 роди й 4 види, кленові (*Aceraceae* Juss.) – 1 рід й 4 види та бобові (*Fabaceae* Lindl.) – 2 роди й 3 види. Слід зазначити, що такий перелік провідних родин масивних деревостанів є абсолютно нетиповим для флористичного складу парків, садів й скверів (Savosko, 2014; Terlyga et al., 2015), лісових культурфітоценозів (Savosko et al., 2018a), а також девастованих земель (Savosko et al., 2018b) Криворіжжя.

Масивні деревостани СПКФЦК відрізняються певними особливостями видового насичення. Так, в межах однієї моніторингової ділянки виявлено від 1 до 8 видів дерев (в середньому від 4 до 5). Водночас, на 7 ділянках (31,82 % від їхньої загальної кількості) є лише 1-2 види дерев, 3 (13,64 %) – 2-4, 9 (40,91 %) – 4-6 та 3 (13,64 %) – 6-8.

Наявні види дерев і чагарників характеризуються чіткими відмінностями поширення в межах окремих моніторингових ділянок масивних деревостанів СПКФЦК. Встановлено, що 10 видів дерев (45,46 % від їхньої загальної кількості) зростають на 1-2 ділянках і 5 (22,73 %) – 2-4. У межах дослідних ділянок в складі деревостану найпоширенішими видами є клен звичайний (*Acer platanoides* L.), який зустрічається на 15 ділянках (68,2 % від їх загальної кількості) та в'яз шорсткий (*Ulmus glabra* Huds.) – 9 ділянках (40,9 %).

Проведені нами розрахунки довели, що липа широколиста (*Tilia platyphyllos* Scop.), клен звичайний і гірकोкаштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* L.) разом складають понад 50 % від загальної кількості екземплярів рослин на всіх моніторингових ділянках. Переважаюча кількість деревостану (понад 75 %) сформована, окрім означених, за уча-

сті ще таких видів як ясен звичайний (*Fraxinus excelsior* L.), робінія звичайна (*Robinia pseudoacacia* L.) та дуб звичайний (*Quercus robur* L.).

За показником запасу стовбурної деревини основу масивних деревостанів СПКФЦК (понад 50 %) становлять клен звичайний, робінія звичайна, липа широколиста та дуб звичайний. Понад 75 % деревостану за цим показником сформовано за участі ще гледичії тернистої (*Gleditsia triacanthos* L.), в'яз шорсткого та гіркогокаштану звичайного. Аналогічні результати отримано нами за аналізу домінування окремих видів дерев в масивних деревостанах за показником «сума площ поперечних перерізів». Так, основа насаджень моніторингових ділянок (понад 50 %) сформована за участі: клена звичайного, липи широколистої, робінії звичайної та гіркогокаштану звичайного. Переважаючий склад деревостану (понад 75 %) сформований за участі також таких видів як дуб звичайний, гледичія терниста та в'яз шорсткий.

Враховуючи кількість екземплярів і дендрометричні показники деревних рослин (запас стовбурної деревини й сума площ поперечних перерізів) основу масивних деревостанів СПКФЦК становлять наступні: клен звичайний, липа широколиста, робінія звичайна, гіркогокаштан звичайний та дуб звичайний.

**Інвазійна потенціальність адвентивних видів деревостанів СПКФЦК.** В Україні суттєво посилюється несприятливий вплив на природні фітоценози інвазійних деревних видів рослин, які входять до складу садово-паркових культурфітоценозів. Заносні види рослин створюють реальну і значну загрозу регіональному фіторізноманіттю (Kabar et al., 2017; Lykholat et al., 2017).

У межах моніторингових ділянок масивних деревостанів СПКФЦК алахтонними (не місцевими) нами виявлено 14 видів дерев (або 60,87 % від їхньої загальної кількості). Автохтонними (місцевими, аборигенними) видами нами вважаються лише ті, які зростають в природних угрупованнях Дніпропетровської області (Tarasov, 2005) або на теренах Правобережного степового Придніпров'я (Kucherevsky, 2004).

Серед видів в масивних деревостанах СПКФЦК найбільшу загрозу для фіторізноманіття регіону становлять робінія звичайна та клен ясенелистий (*Acer negundo* L.), які, згідно А.В. Зав'ялової (Zavialova, 2017), віднесено до чорного списку (Black List) як найнебезпечніші інвазійні рослини. Крім того, їх неодноразово зазначали як види-трансформери або види-агресори, що здатні докорінно змінювати екосистеми, до яких вони потрапляють (Protopopova et al, 2014). Г. Н. Шоль (Shol, 2016) на основі комплексного аналізу спонтанного елементу флори зелених насаджень Кривого Рогу показала, що робінія звичайна і клен ясенелистий відзначаються здатністю поширюватися самосівом у зелених насадженнях і мають дуже значний ступінь імовірної загрози інвазії.

**Аналіз отриманих нами результатів** свідчив, що робінія звичайна зростає на 7 моніторингових ділянках СПКФЦК (31,82 % від їхньої загальної кількості). Для неї притаманна достатньо висока питома маса у загальному складі деревостану: 8,26 % – за показником кількості екземплярів дерев, 15,23 % – запасом стовбурної деревини та 12,81 % – сумою площ поперечних перерізів. Клен ясенелистий також суттєво поширений в масивних деревостанах СПКФЦК, який присутній на

15 моніторингових ділянках (68,18 %). Його питома маса у загальному складі насаджень складає: 17,41 % за показником кількості, 18,24 % запасом стовбурної деревини, 16,57 % сумою площ поперечних перерізів.

У складі масивних деревостанів СПКФЦК серед видів, що становить певну інвазійну загрозу є гледичія терниста. А.В. Зав'ялова (Zavialova, 2017) віднесла її до сірого списку (Grey List), як небезпечні інвазійні види. Г.Н. Шоль (Shol, 2016) зазначає, що цей вид здатний поширюватися самосівом у зелених насадженнях і має значний ступінь імовірної загрози інвазії. За нашими розрахунками, гледичія терниста зустрічається на 4 моніторингових ділянках (18,18 %), питома маса якої у загальному складі насаджень становить: 2,23 % за показником кількості, 7,78 % запасом стовбурної деревини та 6,50 % сумою площ поперечних перерізів.

На думку Г.Н. Шоль (Shol, 2016) у складі масивних деревостанів СПКФЦК поширюються самосівом та мають дуже значний ступінь імовірної загрози інвазії таких видів як явір (*Acer pseudoplatanus* L.), горіх волосський (*Juglans regia* L.) та каркас західний (*Celtis occidentalis* L.). Крім того, значний ступінь імовірної загрози інвазії притаманний для рай-дерева звичайного (*Cotinus coggygia* Scop.) та шовковиці чорної (*Morus nigra* L.).

У межах 14 дослідних ділянок (63,64 % від їхньої загальної кількості) масивних деревостанів СПКФЦК нами виявлено 8 деревних видів рослин (34,78 %), що мають певну інвазійну загрозу для інших природних та культивованих угруповань рослин регіону. Їхня питома маса дорівнює 17,41 % за показником кількості ек-

земпларів, 27,01 % запасом стовбурної деревини та 23,74 % сумою площ поперечних перерізів.

**Ступінь життєвості деревостанів СПКФЦК.** За показниками кількості стовбурів, у садово-паркових фітоценозах в зоні сприятливих екологічних умов життєвий стан деревостану за шкалою В.А. Алексєєва (Aleksseev, 1989) визначено як «здоровий» – 83-89 умовних балів (табл. 2).

В зоні сприятливих екологічних умов показники стану крони були надзвичайно високими і становили 89-92 умовних балів, а їх стан визначено як «здоровий». Показники життєвості гілок дещо менші – 82-88 умовних балів, проте їх стан також оцінено як «здоровий». Числові значення життєвості листків були найменші – 75-78 умовних балів, стан яких оцінено як «ослаблений» (табл. 2).

За показниками запасів стовбурної деревини життєвість деревостанів СПКФЦК має аналогічні закономірності. Так, загальний стан насадження оцінено як «здоровий» – 87-93 умовних балів. Окремі компоненти культурфітоценозу за по-

казниками життєвості утворюють однакову упорядкованість: крона (91-95 умовних балів, стан «здоровий») > гілки (89-95 умовних балів, стан «здоровий») > листя (77-79 умовних балів, стан «ослаблений»). Числові значення життєвого стану деревостанів СПКФЦК Криворіжжя, які розраховано за показниками запасів стовбурної деревини, на 2,2-7,9 % вище ніж за кількістю стовбурів (табл. 2).

Під впливом природних і антропогенних екологічних чинників життєвий стан деревостану СПКФЦК дещо погіршився. Так, в зоні відносно сприятливих екологічних умов виявлено зменшення числових значень життєвості ( $P < 0,05$ ), порівняно із попередньою екологічною зоною для всіх компонентів культурфітоценозу, зокрема крони – на 6,8-8,3 %, гілок – 12-17 % та листків – 5,8-8,9 %. Стан деревостану виявився «ослаблений» за показниками кількості стовбурів (76-77 умовних балів) і запасів стовбурної деревини (78-79 умовних балів). У зоні відносно несприятливих екологічних умов погіршення життєвого стану деревостану СПКФЦК ще

## 2. Ступінь життєвості деревостанів СПКФЦК

| Компонент<br>СПКФЦК                        | Зони екологічних умов територій розташування СПКФЦК |      |       |                        |      |       |                          |      |       |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------|-------|------------------------|------|-------|--------------------------|------|-------|
|                                            | Сприятливі                                          |      |       | Відносно<br>сприятливі |      |       | Відносно<br>несприятливі |      |       |
|                                            | М                                                   | m    | V, %  | М                      | m    | V, %  | М                        | m    | V, %  |
| За показниками кількості стовбурів         |                                                     |      |       |                        |      |       |                          |      |       |
| Крона                                      | 90,75                                               | 1,54 | 13,39 | 84,60                  | 2,01 | 23,51 | 66,99                    | 4,52 | 29,70 |
| Листки                                     | 76,78                                               | 1,21 | 18,14 | 72,32                  | 1,55 | 23,12 | 55,83                    | 4,32 | 29,95 |
| Гілки                                      | 85,40                                               | 3,39 | 17,94 | 74,98                  | 2,45 | 24,09 | 62,60                    | 3,83 | 28,85 |
| Разом                                      | 86,20                                               | 3,47 | 18,04 | 76,98                  | 2,73 | 24,70 | 63,33                    | 4,19 | 30,02 |
| За показниками запасів стовбурної деревини |                                                     |      |       |                        |      |       |                          |      |       |
| Крона                                      | 93,33                                               | 2,32 | 14,96 | 85,37                  | 2,98 | 23,24 | 68,97                    | 4,50 | 28,76 |
| Листки                                     | 78,53                                               | 1,25 | 18,29 | 71,48                  | 2,85 | 22,51 | 54,83                    | 4,08 | 29,35 |
| Гілки                                      | 92,15                                               | 3,30 | 17,16 | 76,75                  | 4,51 | 23,81 | 64,14                    | 3,91 | 28,49 |
| Разом                                      | 90,33                                               | 3,17 | 17,02 | 78,03                  | 4,96 | 25,35 | 63,87                    | 4,48 | 30,97 |

Примітки: М – середня арифметична, m – абсолютна похибка середньої, V, % – коефіцієнт варіації

більш суттєвіше. Порівняно із зоною сприятливих екологічних умов нами виявлено зменшення числових значень життєвості ( $P < 0,05$ ) крони – на 26-27 %, гілок – 27-31 % і листків – на 27-30 %. За показниками кількості стовбурів (59-67 умовних балів) і запасами стовбурної деревини (59-67 умовних балів) стан деревостану – «ослаблений».

Життєвий стан деревостанів СПКФЦК за виключенням зони сприятливих екологічних умов оцінено як «ослаблений». Серед компонентів культурфітоценозів найвразливішими до дії несприятливих екологічних умов природного та антропогенного генезису виявилися листки рослин. Життєвість деревостану, яку встановлено за показниками запасів стовбурної деревини, контрастніше відображає загальний гальмівний вплив екологічних умов на ріст та розвиток деревних видів рослин.

**Дендрометричні показники деревостану СПКФЦК.** Досліджені нами масивні деревостани СПКФЦК відзначаються типовими абсолютними дендрометричними показниками (табл. 3). Так, густина насаджень становить 500-700 шт/га, висота – 14-18 м, діаметр – 25-32 см, запас стовбурної деревини – 200-450 м<sup>3</sup>/га і сума площ поперечних перерізів – 30-50 м<sup>2</sup>/га. Такі середні значення є характерними для лісових фітоценозів Криворіжжя (Savosko & Kvitko, 2017; Savosko et al., 2018b). Наші результати, щодо дендрометричних показників масивних деревостанів СПКФЦК, узгоджуються з даними інших авторів, які були отримані в промислових регіонах степової зони України (Ivanchenko, 2013; Kabat & Martynova, 2017; Lakyda, 2002).

Масивні деревостани СПКФЦК створено в основному у 20-70 рр. ХХ

ст., що унеможливило порівняння їхніх абсолютних дендрометричних показників. Тому що основні характеристики деревно-чагарникових рослин (середня висота і діаметр стовбура, запас деревини й сума площ поперечних перерізів дерев) є функцією їхніх біологічних та вікових особливостей (Lakyda et al., 2011; Lakyda, et al. 2013).

Згідно нашої точки зору, для аналізу сучасного стану масивних деревостанів СПКФЦК перспективно застосування відносних значень дендрометричних показників, які відображають приріст (м\*рік<sup>-1</sup>, см\*рік<sup>-1</sup>), зміни запасу та загальної продуктивності (м<sup>3</sup>\*га<sup>-1</sup>\*рік<sup>-1</sup>, м<sup>3</sup>\*га<sup>-1</sup>\*рік<sup>-1</sup>). Також слід зазначити, що відносні дендрометричні показники апроксимуються поліномами другого порядку (квадратичної форми) (Jorgensen, 2011; Sainte-Marie, 2015).

Деревні види рослини до певного віку, зокрема до початку стадії їхньої руйнації, відзначаються збільшенням змін показників приросту, запасу та загальної продуктивності. Однак, після настання певної фази відбувається поступове їхнє зменшення. Наведену біологічну закономірність нами використано для аналізу відносних дендрометричних показників деревостану СПКФЦК. Так, вік деревостану зони сприятливих екологічних умов становить 60-80 років, що відповідає класам віку «середньовікові» та «пристиглі». Водночас, вік насаджень зон із складнішими екологічними умовами (відносно сприятливими і несприятливими) майже однаковий (40-60 років), що відповідає класу «середньовікові».

За нашими розрахунками, в зоні сприятливих екологічних умов відносні дендрометричні показники масивних деревостанів СПКФЦК

### 3. Мінливість дендрометричних показників деревостану СПКФЦК

| Показники                                                            | Зони екологічних умов територій розташування СПКФЦК |      |       |                     |      |       |                       |       |       |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------|-------|---------------------|------|-------|-----------------------|-------|-------|
|                                                                      | Сприятливі                                          |      |       | Відносно сприятливі |      |       | Відносно несприятливі |       |       |
|                                                                      | М                                                   | m    | V, %  | М                   | m    | V, %  | М                     | m     | V, %  |
| Абсолютні показники                                                  |                                                     |      |       |                     |      |       |                       |       |       |
| Густота насаджень, шт./га                                            | 530                                                 | 45,2 | 26,0  | 625                 | 40,9 | 22,51 | 540                   | 47,8  | 23,81 |
| Середня висота, м                                                    | 14,8                                                | 0,61 | 18,78 | 16,2                | 1,28 | 26,09 | 13,2                  | 1,61  | 32,19 |
| Середній діаметр, см                                                 | 28,3                                                | 2,01 | 21,27 | 29,5                | 1,35 | 15,08 | 26,8                  | 1,68  | 16,55 |
| Запас стовбурної деревини, м <sup>3</sup> /га                        | 360                                                 | 60,0 | 32,71 | 390                 | 30,9 | 26,12 | 233                   | 23,38 | 33,18 |
| Сума площ поперечних перерізів, м <sup>2</sup> /га                   | 38,28                                               | 5,31 | 23,31 | 44,55               | 3,14 | 30,78 | 34,5                  | 5,18  | 29,81 |
| Відносні показники                                                   |                                                     |      |       |                     |      |       |                       |       |       |
| Середня висота, м*рік <sup>-1</sup>                                  | 0,37                                                | 0,01 | 8,78  | 0,42                | 0,02 | 16,09 | 0,33                  | 0,01  | 22,19 |
| Середній діаметр, см*рік <sup>-1</sup>                               | 0,71                                                | 0,01 | 18,17 | 0,76                | 0,01 | 15,08 | 0,64                  | 0,04  | 16,63 |
| Запас стовбурної деревини, м <sup>3</sup> /га*рік <sup>-1</sup>      | 9,02                                                | 0,24 | 22,71 | 9,82                | 0,28 | 16,12 | 6,83                  | 0,97  | 33,98 |
| Сума площ поперечних перерізів, м <sup>2</sup> /га*рік <sup>-1</sup> | 0,96                                                | 0,04 | 23,07 | 1,12                | 0,06 | 20,78 | 0,82                  | 0,05  | 22,81 |

Примітки: М – середня арифметична, m – абсолютна похибка середньої, V, % – коефіцієнт варіації

мають такі середні значення: висоти дерев – 0,35-0,40 м\*рік<sup>-1</sup>, діаметру – 0,65-0,80 см\*рік<sup>-1</sup>, запасу стовбурної деревини – 7,50-10,50 м<sup>3</sup>/га\*рік<sup>-1</sup>, суми площ поперечних перерізів – 0,8-1,0 м<sup>2</sup>/га\*рік<sup>-1</sup> (табл. 3).

Отримані значення відносних дендрометричних показників деревостанів СПКФЦК переважно збігаються з нормативними даними росту та розвитку провідних родин деревних видів рослин (Lakyda, 2002; Lakyda, et al. 2013). Одночасно ці показники на 15-25 % вищі, ніж лісових культурфітоценозів, що розташовані в Криворізькому регіоні (Savosko & Kvitko, 2017; Savosko et al., 2018a). У зв'язком з чим ми припускаємо, що незважаючи на однотипні екологічні передумови (рівні забруднення атмосфери і ґрунтового зволоження), ріст та розвиток де-

ревно-чагарникових видів рослин, як об'єктів міського озеленення, відбувається в складніших умовах, порівняно з лісовими насадженнями.

Погіршення екологічних умов територій розташування СПКФЦК Криворіжжя різновекторно вплинуло на відносні дендрометричні показники масивних деревостанів. У зоні відносно сприятливих екологічних умов виявлено збільшення ( $P < 0,05$ ), порівняно з попередньою екологічною зоною, всіх відносних показників: середнього діаметру – на 7,04 %, запасу стовбурної деревини – 8,87, середньої висоти – 13,51 та суми площ поперечних перерізів – 16,67 %. В той час, як в зоні відносно несприятливих екологічних умов, навпаки, простежується зменшення ( $P < 0,05$ ) названих показників, зокрема середнього діаметру і се-

редньої висоти на 9,86 % та 10,81 %. Інтенсивніше зниження відносних дендрометричних показників було притаманне для суми площ поперечних перерізів на 14,58 та запасу стовбурної деревини – 24,28 %.

Аналіз дендрометричних показників масивних деревостанів підтверджує, що в зоні відносно сприятливих екологічних умов ріст та розвиток деревних видів рослин СПКФЦК відбувається за прихованим виснажливим сценарієм, який стає ще очевиднішим в зоні відносно несприятливих екологічних умов.

### Висновки і перспективи.

Деревостани садово-паркових культурфітоценозів Криворіжжя мають несприятливі ботаніко-екологічні показники. Незважаючи на те, що в регіоні у міських парках виявлено понад 150 видів дерев і чагарників, а у ботанічних садах міст Кривий Ріг і Дніпра пройшли інтродукційне випробування понад 1000 видів дерев та чагарників, флористичний склад масивних деревостанів містить лише 23 деревні види рослин.

В деревостанах садово-паркових культурфітоценозів регіону в значній кількості виявлено інвазійно активні і небезпечні для природних екосистем, зокрема, види-трансформери – робінію звичайну (*Robinia pseudoacacia* L.) та клен ясенелистий (*Acer negundo* L.), що разом зростають на 36 % моніторингових ділянок, питома маса яких у насадженнях становить 20-25 %. Тому в подальшому доцільно приділяти більш прискіпливу увагу до цих та інших інвазійно небезпечних видів деревних рослин.

Життєвість і відносні дендрометричні показники деревостану під-

тверджують, що деревні види рослин садово-паркових культурфітоценозів Криворіжжя перебувають в стресовому стані внаслідок постійного впливу несприятливих екологічних чинників натуралізованого (дефіциту вологи і потепління клімату) та антропогенного (забруднення довкілля) генезису.

Такі зміни можуть спричинити передчасне старіння деревних видів рослин і зменшення фітомеліоративних функцій деревостанів. Тому у перспективі доцільно оцінити майбутній стан деревостанів із залученням біогеохімічних маркерів та предикторів.

### References

1. Alekseev, V. A. (1989). Dyagnostyka zhyznennoho sostoiannya derev y drevo-stoev [State of health of trees and stands diagnostics]. Lesovedeniye [Forestry], 4, 51–57. (in Russian).
2. Bertram, C., Rehdanz, K. (2015). The role of urban green space for human well-being Author links open overlay panel. Ecological Economics, 120, 139-152. DOI: 10.1016/j.ecolecon.2015.10.013.
3. Derksen, M.L., Teeffelen, A. J. A., Nagendra, H., Verburg, P.H. (2017). Shifting roles of urban green space in the context of urban development and global change. Current Opinion in Environmental Sustainability, 29, 32-39. DOI: 10.1016/j.cosust.2017.10.001.
4. Dobrochaeva, D. N., Kotov, M. Y., Prokudyn, Yu. N., Barbarych, A. Y. (1999). Opredelytel vysshikh rastenyi Ukrainy [A Guide to the Identification of higher plants from Ukraine]. Fitosotsiotsentr, Kyiv. (in Russian).
5. Fedorovskiy, V. D., Terlyga, N. S., Danylchuk, O. V., Yukhimenko, Yu. S., Danilchuk, N. M. (2012). Mynule ta suchasne parkiv i skveriv centralnoji chastyny m. Kryvyj Rih [Past and modern parks and parks of the central part of the city of Kryvyi Rih] Ahrobiolohija: Zbirnyk naukovykh prac – Bilocerkyivskyj

- nacionalnyj ahrarnyj universytet [Agrobiology: Collection of scientific works – Bila Tserkva National Agrarian University], 8 (94), 169–171. (in Ukrainian).
6. Fedorovskiy, V. D., Terlyga, N. S., Yukhimenko, Yu. S., Danilchuk, O. V., Danilchuk, N.M., Lapteva, O.V. (2013). Vydovyy sklad ta zhyttjevyj stan derevno–chagarnykovoï roslynosti parkiv ta skveriv m. Kryvyi Rih [Specific composition and vital state of arboreal-shrub vegetation of parks and public gardens of Kryvyi Rih] *Introdukciya Roslyn [Plant Introduction]*, 3, 73-79. (in Ukrainian).
  7. Haaland, C., Konijnendijk van den Bosch, C. (2015). Challenges and strategies for urban green-space planning in cities undergoing densification: a review. *Urban Forestry & Urban Greening*, 14 (4), 760-771. DOI: 10.1016/j.ufug.2015.07.00.
  8. Hrom, M. M. (2005). Lisova taksatsiia. [Forest Taxation]. Ukrainian State Forestry University, Lviv. (in Ukrainian).
  9. IPNI, (2019). The International Plant Names Index, <http://www.ipni.org>.
  10. Ivanchenko, O. Іe. (2013). Inventaryzatsiia ta otsinka stanu derevnykh nasadzhenn parku im. M.I. Kalinina m. Dnipropetrovsk [Inventory and evaluation of tree plantations kalinin's park in Dnepropetrovsk]. *Pytannia bioindykatsii ta ekologii [Problems of bioindications and ecology]*, 18 (2), 211–226. (in Ukrainian).
  11. Jennifer R. W., Byrne, J., Newell, J. P. (2014). Urban green space, public health, and environmental justice: The challenge of making cities 'just green enough'. *Landscape and Urban Planning*, 125, 234-244. DOI: 10.1016/j.landurbplan.2014.01.017.
  12. Jorgensen, S. E. (2011). *Handbook of Ecological Models Used in Ecosystem and Environmental Management*. Taylor & Francis Group, Boca Raton.
  13. Kabar, A. M., Martynova, N. V. (2017) *Vyvchennia stanu nasadzhenn parkiv im. Bolodi Dubinina ta im. L. V. Pysarzhevskoho v misti Dnipro [The study of urban parkland condition in the Parks of Volodya Dubinin and Pysarzhevsky in the Dnipro City]*. *Lisove i sadovo-parkove hospodarstvo [Forest and garden-park households]*, 12. (in Ukrainian).
  14. Kabar, A., Martynova, N., Lykholat, Yu., Khromykh, N., Grygoryuk, I. Serga, O., Prisedsky, Yu., Alekseeva, A. (2017). *Uchast derevnykh invaziinykh vydiv roslyn u formuvanni nasadzhenn parkovoï zony mista Dnipro [Participation of women innovative varieties forming the properties of the park zone of the dnipro city]*. *Bioresursy i pryrodokorystuvannia [Biological Resources and Nature Management]*, 9, № 5-6, 41-48. (in Ukraine).
  15. Kabischabc, N., Strohbacha, M., Haasead, D., Kronenberge, J. (2016). Urban green space availability in European cities. *Ecological Indicators*, 70, 586-596. DOI: 10.1016/j.ecolind.2016.02.029.
  16. Kobiv, Yu. (2004). *Slovnnyk ukrainskykh naukovykh i narodnykh nazv sudynnykh roslyn [Dictionary of Ukrainian scientific and popular names of vascular plants]*. Naukova dumka, Kyiv. (in Ukrainian).
  17. Kucherevsky, V. V. (2004). *Konspekt flory Pravoberezhnoho stepovoho Prydniprovja [Synopsis os the flora at Right Bank steppe Dnieper region]*. Dnepropetrovsk, Prospekt. (in Ukraine).
  18. Lakyda, P. I. (2002). *Fitomasa lisiv Ukrainy [Phytomass of Forests at Ukraine]*. Zbruch, Ternopil. (in Ukrainian).
  19. Lakyda, P. I. Shvidenko, A. Z., Shhepashhenko, D. G., Vasylyshyn, R. D., Bilous, A. M., Lakyda, I. P., Matushevych, L. M. (2013). *Biotychna produktyvnist lisiv Ukrayiny v yevropejskomu ekoresursnomu vymiri [Biotic productivity of Ukrainian forests within european ecoresource dimension]*. *Biore-sursy i pryrodokorystuvannia [Biological Resources and Nature Management]*, 5-6, 99-106. (in Ukrainian).
  20. Lakyda, P. I., Vasylyshyn, R. D., Lashenko, A. H., Terentiev A. Іu. (2011). *Normatyvy ocinky komponentiv nadzemnoyi fitomasy` derev golovnyx lisotvirnyx porid Ukray-*

- iny': dovidny'k [The standards assessment components of aboveground phytomass of trees latma main species of Ukraine: a guide]. EKO inform, Kyiv. (in Ukrainian).
21. Lykholat, Yu. V., Khromykh, N. A., Ivan'ko, I. A., Matyukha, V. L., Kravets, S. S., Didur, O. O., Alexeyeva, A. A., Shupranova, L. V. (2017). Assessment and prediction of the invasiveness of some alien plants in conditions Assessment and prediction of the invasiveness of some alien plants in conditions of climate change in the steppe Dnieper region. *Biosystems Diversity*, 25 (1), 52-59. DOI: 10.15421/011708.
22. McDonald, J. H. (2014). *Handbook of biological statistics*. Sparky house publishing, USA.
23. Protopopova, V. V., Shevera, M. V., Fedoronchuk, M. M., Shevchuk, V. L. (2014). Vyd-transformery u flori Serednoho Prydniprov'ia [Transformer species in the flora of the middle Dnipro region]. *Ukrainskyi botanichniy zhurnal* [Ukrainian Botanical Journal], 71, 5, 563-572. (in Ukraine).
24. Sainte-Marie, J. (2015). Contribution to the integration of biogeochemical cycles into dendrometric growth models. *Revue Forestière Française*, 66. DOI: 10.4267/2042/56282.
25. Savosko, V. M. & Tovstolyak N. V. (2016). Ekoloĥo–botanichna obumovlenist poshyrenosti derevno–chaharnykovykh vydiv u vyznachnykh parkakh ta skverakh istorychnoho tsentru Kryvorizhzhia [The ecological and botanical dependence of the tree and shrub species occurrence in outstanding parks and squares at Kryvorizhzhia historical centre]. *Introduktsiia roslyn* [Plant introduction], 3, 85-95. (in Ukrainian).
26. Savosko, V. M. (2014). *Dynamika ekomorfichnoho ta biomorfichnoho spektriv dendroflory kolyšnoho botanichnoho sadu Kryvorizkoho derĥavnoho pedahohichnoho instytutu* [Dynamics of the ecomorphic and biomorphic spectra of the dendroflora of the former botanical garden of the Kryvy Rih State Pedagogical Institute]. *Ekolohija ta noosferolohija* [Ecology and Noosphereology], 25, 1-2, 37-45. DOI: 10.15421/031404. (in Ukrainian).
27. Savosko, V. M. (2015). *Gruntovy pokryv Kryvorizhzhia* [Soil cover in Kryvorizhzhia]. *Fizychna heohrafiia Kryvorizhzhia: monohrafichna navchalna knyha* [Physical geography of Kryvorizhzhia: monographic educational book]. – Publisher Roman Kozlov, Kryvy Rih, 133-150. (in Ukrainian).
28. Savosko, V. M. Kvitko, M. O. (2017). *Suchasnyy zhyttyevyj stan lisovykh kulturfitocenozy Kryvorizhzhia* [Modern life condition of forest kulturpflanzen Kryvorizhzhia]. *Visnyk Lvivskogo universytetu: seriya biologichna* [Visnyk of Lviv University. Biological series], 75, 75-82. (in Ukrainian).
29. Savosko, V. M., Kvitko, M. O., Grygoryuk, I. P., Serga, O. I., Lykholat, Yu. W. & Andriyts'o M. O. (2018). *Heterohennist biometrychnykh pokaznykiv lisovykh kulturfitotsenoziv v ekolohichnykh umovakh Kryvorizhzhia* [Heterogeneity of biometric characteristics of cultivated forest communities in environmental conditions at Kryvorizhzhia]. *Bioresursi i prirodokoristuvannâ* [Biological Resources and Nature Management], 10 (1-2), 14-23. DOI: 10.31548/bio2018.01.002. (in Ukrainian).
30. Savosko, V. M., Tovstolyak, N. V. (2017). *Ecological conditions of garden and park territories of former iron mines (Kryvy Rih Basin, Ukraine)*. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7 (4), 12–17. (in Ukrainian).
31. Savosko, V., Lykholat, Yu., Domshyna, K., Lykholat, T. (2018). *Ekolohichna ta heolohichna zumovlenist poshyrennia derev i chaharnykv na devastovanykh zemliakh Kryvorizhzhia* [Ecological and geological determination of trees and shrubs' dispersal on the devastated lands at Kryvorizhzhia]. *Journal of Geology, Geography and Geoecology*, 27 (1), 116-130. DOI: 10.15421/111837. (in Ukraine).
32. Shol, H. (2016). *Analiz spontannoho elementu flory zelenykh nasadzhen Kryvoho Rohu ta invaziina aktyvnist vydiv-introdukt-*

- sentiv [Analysis of the spontaneous element of Kryvyi Rih green areas and invasive activity of introduced species]. Visnyk Lvivskoho universytetu Seriya biologichna [Visnyk of the Lviv University. Series Biology], 71, 96-106. (in Ukraine).
33. Tarasov, V. V. (2005). Flora Dnipropetrov's'koyi ta Zaporiz'koyi oblastej. Sudy`nni rosly`ny`. [Flora Dnipropetrovsk and Zaporizhzhya regions. Vascular plants. Biology and ecological characteristics of the species]. Dnepropetrovsk, DNU Publishing house. (in Ukraine).
34. Terlyga, N. S., Danylchuk, O. V., Yukhimenko, Yu.S., Fedorovskiy, V. D., Danylchuk, N. M. (2015), Kultyvovana dendroflora parkiv i skveriv Kryvoho Rohu: istorychni aspekty formuvannya ta suchasnyj stan [Cultivated dendroflora of parks and parks of Kryvyi Rih: historical aspects of formation and modern state]. Visnyk Kharkivskoho nacionalnoho ahrarnoho universytetu: serija biologichna [Bulletin of Kharkiv National Agrarian University: a series of biology], 2 (35), 93-101. (in Ukrainian).
35. Vedmid, M. M., Raspopina, S. P. (2010). Otsinka lisoroslynnoho potentsialu zemel [Estimation of forestry potential of land]. Publishing house «EKO-inform», Kyiv. (in Ukrainian).
36. West, P. W. (2009). Tree and Forest Measurement. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag.
37. Zavialova, L. V. (2017). Vydy invaziynykh roslyn, nebezpechni dlia pryrodnoho fitoriznomanittia ob'ektiv pryrodno-zapovidnoho fondu Ukrainy [The most harmful invasive plant species for native phytodiversity of protected areas of Ukraine]. Biologichni systemy [Biological systems], 9 (1), 87-107. (in Ukraine).

---

**V. M. Savosko, N. V. Tovstolyak, Yu. V. Lykholat, I. P. Grygoryuk (2019).**

**VARIABILITY OF BOTANICAL AND ECOLOGICAL INDICATORS OF WOODLANDS IN GARDENS & PARKS CULTIVATED PLANT COMMUNITIES AT KRYVYI RIH DISTRICT. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 13-26.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13108>

**Abstract.** It was shown that studying the botanical and ecological characteristics of woodlands in gardens & parks cultivated plant communities (GPCPC) at Kryvyi Rih district is an important prerequisite for environment phyto-reclamation in the industrially developed regions of Ukraine.

Field and camera surveys which were carried out according to generally accepted techniques on 22 monitoring plots in 10 landscaping areas at Kryvyi Rih district were used as materials of this work. It has been established that in woodlands from GPCPC of this region the taxonomic composition of trees and shrubs contains 23 species from 13 genera, 12 families and one department - Polatonosynnye.

It was determined that within the 14 experimental plots (63.64% of their total number) there are 8 species (34.78%) of woody plants, which constitute a certain invasive threat to other natural and cultivated plants groups in the region. Among them, Black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) and Boxelder (*Acer negundo* L.) are the most dangerous as species-transformers, changing environmental conditions and type of ecosystem. It has been proved that in most cases the woodlands living conditions was evaluated as "Weakened". With among the components of GPCPC the leaves were most vulnerable to adverse ecological conditions.

In general, in gardens & parks cultivated plant communities at Kryvyi Rih district the growth and development of wood plants species was happening under the covert scenario of the exhaustion of these plants vital forces

**Key words:** woodlands, gardens & parks cultivated plant communities, floristic composition, invasive potential, vitality, dendrometric indicators and Kryvyi Rih district.

## РЕГУЛЮВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ШТАМУ *BACILLUS THURINGIENSIS* 87-15 В УМОВАХ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

**Т. І. ПАТИКА**, доктор сільськогосподарських наук, професор  
кафедри молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки  
Національний університет біоресурсів і природокористування України

**М. В. ПАТИКА**, доктор сільськогосподарських наук, професор,  
член-кореспондент НААН, завідувач кафедри  
екобіотехнології та біорізноманіття  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
E-mail: [npatyka@gmail.com](mailto:npatyka@gmail.com)

**Анотація.** Представлено наукове обґрунтування та вирішення актуальних завдань контролю і регуляції технологічної активності перспективного ентомопатогенного штаму *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (H1) 87-15 природного типу як продуцента рідкої препаративної форми для біоконтролю фітофагів. Встановлено вплив різних поживних середовищ на продуктивність штаму №87-15 при глибинному культивуванні та позитивна динаміка утворення спор і ентомотоксичних метаболітів (титр спор на 72 годині ферментації в межах 3,6-4,5 млрд./мл культуральної рідини). Оптимізація рН середовища, температурного діапазону росту та режиму аерації під час формування мікробної маси *Bacillus thuringiensis* дає можливість отримувати більшу кількість біоматеріалу (рідкого концентрату) та прискорити процес отримання препаративної форми.

**Ключові слова:** ентомопатогенний штам, *Bacillus thuringiensis*, продуктивність, технологічність.

### Актуальність.

Сучасна біотехнологія ґрунтується на досягненнях мікробіології, молеку-

лярної біології, молекулярної генетики і генетичної інженерії. Сьогодні розробляються перспективні напрями, що базуються на знаннях шляхів біосинте-

зу інгібіторів або їхніх окремих ключових структур. Для створення нової біотехнології масштабного виробництва мікробних препаратів передбачається використання різних методів, зокрема, конструювання штамів-продуцентів із високою швидкістю накопичення метаболітів, включення сильних індукторів біосинтезу нуклеїнових кислот і білків-ферментів для збільшення концентрації первинних метаболітів (будівельних блоків для утворення основних макромолекул клітини), вторинних метаболітів, синтез яких не пов'язаний з ростом, але вони можуть грати певну роль в метаболізмі організму-продуценту та багато інших.

Ріст і розвиток мікроорганізмів та продукування ними біологічно-активних компонентів синтезу може бути реалізовано тільки на тих субстратах, які транспортуються в клітини та використовуються в катаболічних і анаболічних реакціях. На сьогодні доведено, що метаболізм навіть одного і того ж субстрату, наприклад глюкози, може проходити за допомогою різних систем транспорту в клітину, а також за функціонування альтернативних метаболічних шляхів. Так, бактерії родів *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* та інші здатні використовувати кілька субстратів одночасно. Системи транспорту і катаболізму, особливості їх регуляції визначають як швидкість, так і ефективність синтезу продуктів [1-3]. Строгий контроль (регуляція) забезпечує координативність росту і метаболізму джерел вуглецю відповідно до умов середовища. Водночас перемикання процесів з анаболічних на катаболічні дозволяє бактеріям зберегти життєздатність в неоптимальних для росту умовах. Зі зміною активності ферментів метаболізму і транспорту цукрів у клітинах

змінюється також їх структура. Остання може бути показником фізіологічної активності клітин.

Інтродукція мікробних агентів *Bacillus thuringiensis* в агроєкосистеми є ефективним методом корекції мікрофлори ґрунту, ризосфери, трофічної структури метаболізму багатокomпонентних біологічних систем, зокрема, «ґрунт-рослина-фітофаг», а також покращення росту та розвитку рослин та підвищення їх врожайності. Вивченню і вирішенню цих проблем було присвячено дослідження В. В. Смірнова, М. В. Кандибіна, Т. І. Патики, Т. Г. Юдіної, Л. К. Каменек, N. Crickmore, A. Bravo, C. Pigott, B. Zhang, S. Gill та ін. [4-7].

Вивчення біологічного потенціалу природних метаболітів ентомопатогенів *Bacillus thuringiensis*, їх метабеному дозволяє створювати серії високоефективних біопрепаратів для контролю чисельності фітофагів, розробляти технологічні способи їх виробництва та застосування в агробіоценозах.

Споруутворюючі бактерії *Bacillus thuringiensis* продукують комплекс біологічно активних метаболітів, ентомотоксинів (δ-ендо-, β-екзотоксини та ін.), тому різноманіття серологічних варіантів всередині виду значно варіює за технологічністю, продуктивністю під час ферментаційних процесів, а також поліфункціональними властивостями щодо цільових об'єктів (наприклад, спектр антифідантних, ентомотоксичних ефектів, антифунгальна дія тощо). Таким чином, це обумовлює високу біологічну, техніко-економічну ефективність мікробних препаратів на основі нових технологічних штамів *Bacillus thuringiensis*. Важливо створювати сучасне мікробіологічне (біотехно-

логічне) виробництво з оптимальними і послідовними технологічними етапами. Безумовно, загальним для всіх виробництв є: стадії підготовки поживного середовища; отримання посівного матеріалу; вирощування виробничої культури в поверхневих або глибинних умовах; виділення кінцевого продукту. У кожному конкретному мікробіологічному виробництві є свої специфічні особливості — склад поживних середовищ, способи їх приготування, умови культивування виробничої культури, методи виділення кінцевого продукту. Однак ці особливості не змінюють загальну схему мікробіологічного виробництва. Отже, важливо науково-обґрунтовано проводити розподіл продуктів мікробного синтезу за такими ознаками: пов'язаний чи не пов'язаний синтез продукту з ростом. А для цього необхідно встановлювати відповідні зв'язки між ростом і біосинтезом продукту та комплексно вивчати стан культури мікроорганізму в умовах періодичного культивування.

### **Аналіз останніх досліджень та публікацій.**

Аналізуючи штами *Bacillus thuringiensis* за технологічним і фізіологічним станом клітин популяції в аспекті властивостей споро- і ендотоксинування за культивування на рідких поживних середовищах показано, що інтенсивність розвитку штамів за рівних умов і за однаковий проміжок часу (до 72 години) має певні особливості [2, 8], що обумовлено показниками швидкості метаболізму, лабільності складу клітин, динамікою росту, розвитку і спороутворення конкретного штам-у-продукенту. Останнім часом

з'явилося ряд публікацій, які висвітлюють дослідження різноманітності біохімічних особливостей різновидів *Bacillus thuringiensis* [9, 10], що визначає спектр їх дії та прояв інфекційних і патогенних властивостей щодо популяцій фітофагів.

У процесі зберігання ендоспорових культур мікроорганізмів, пересівання та інших технологічних процедур можуть змінюватися фізіолого-біохімічні властивості штамів, тому важливо проводити тестування аксенічних культур за ключовими морфолого-культуральними, фізіолого-біохімічними ознаками, токсигенністю. Підбір оптимального складу поживного середовища для культивування штамів *Bacillus thuringiensis* є важливим в аспекті підвищення рівня синтезу ентомотоксинів та біологічно активних речовин. Актуальні дослідження процесу спороутворення та формування  $\delta$ -ендотоксинів (*Cry* токсинів) *Bacillus thuringiensis* та встановлення відповідних залежностей від джерел азотного, вуглецевого живлення, присутності в середовищі необхідних концентрацій мінеральних сполук, цукрів, оскільки використання високих рівнів субстратних компонентів без відповідного коригування концентрацій за джерелами азоту може викликати зміни показників рН середовища, що практично призводить до уповільнення процесів токсинування.

Недостатньо вивчене питання експресії генів синтезу різних класів  $\delta$ -ендотоксинів зі специфічністю інсектицидної дії в тест-системах, а також підбір сконструйованих векторних систем широкого кола хазяїв. Скринінг штамів *Bacillus thuringiensis* та вивчення їх варіабельності з ентоспецифічними токсинами триває

у всьому світі. Вибіркова специфічність патогенів даної групи щодо кола комах безпосередньо пов'язана з функціональними характеристиками ендотоксину та певною біохімічною структурою як самого токсину, так і інфікованої комах. Генетична різноманітність токсинів *Bacillus thuringiensis* відіграє найважливішу екологічну та еволюційну роль: вона сприяє розвитку високої адаптивної можливості та виживанню підвидів ентомопатогенних бактерій у різних біоценозах [4, 11].

**Мета дослідження** – визначити технологічну активність природного ендоспорового штаму *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* ( $H_1$ ) 87-15, ізольованого з інсектарної лінії *Drosophila melanogaster* Meig., для ефективного регулювання мікробного синтезу в процесі ферментації, отримання рідкої препаративної форми біопрепарату.

### **Матеріали і методи дослідження.**

Для досліджень використано ентомопатогенні штами з колекції культур непатогенних мікроорганізмів сільськогосподарського призначення: Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України, м. Чернігів — штам-референт *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* ( $H_1$ ) 98, виробничий біоагент мікробного препарату Бітоксикацилін фітозахисного призначення. Штам *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* ( $H_1$ ) 87-15 із робочої колекції непатогенних мікроорганізмів кафедри екобіотехнології та біорізноманіття Національного університету біоресурсів і природокористування України, ізольований з інсектарної лінії

*Drosophila melanogaster* Meig., яку використовують у стандартних протоколах біотестування на вміст ентомотоксинів.

Вихідні аксенічні культури *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* ( $H_1$ ) 98, 87-15 вирощували на щільних середовищах (м'ясо-пептонний агар, МПА), середовище Лурія-Бертані, LB). Інкубування культур проводили в термостаті при температурі 28-30°C упродовж 7 діб, після чого проводили аналіз морфотипів колоніального різноманіття штамів та мікроскопіювання культур з використанням імерсії на світловому мікроскопі *Axioskop* 40 (*Carl Zeiss, Germany*) з фотофіксацією (збільшення 100х), без імерсії на мікроскопі *Polivar* (збільшення 40х).

Контроль синхронності розвитку та продуктивності штамів *Bacillus thuringiensis* в умовах глибинного культивування за критеріями технологічності проводили прямим методом підрахунку загальної кількості клітин в популяції в камері Горяєва. Паралельно використано метод серійних розведень культуральної рідини (до  $10^{-6}$  і  $10^{-7}$  розведення) з подальшим мікробіологічним посівом на поживні середовища МПА, LB та кількісним аналізом титру колонієутворюючих одиниць (КУО/мл) через 24-72 год. після інкубування культур в термостаті за 30 °C. Динаміку зміни рН, накопичення біомаси та активних метаболітів спорових бактерій, фізіологічний стан культури, титр КУО визначали кожні 24 год. Глибинне культивування штамів *Bacillus thuringiensis* проводили в колбах Ерленмейєра на біотехнологічній качалці з орбітальним рухом роторів і термоплатформною (200 об./хв., температура +30 °C) упродовж 48-72 год. Об'єм середовища від 50, 100 та 1000 мл, кількість інокулюма — не менше 3,0 % від об'єму середовища.

Поживні лабораторно-промислові середовища для ферментації посівного матеріалу *Bacillus thuringiensis* оптимізували за вмістом джерел вуглецевого й азотного живлення, а також за комплексом мікроелементів. Базовими технологічними середовищами слугували дріжджо-полісахаридні середовища з компонентами білково-вітамінного комплексу (не менше 3,0%) і додатково з кукурудзяним борошном — до 1,5%, в окремих варіантах використано м'яса (3,5-4,0%), рослинні складові (капустяний гідролізат, сінний відвар та ін.). Статистичну обробку експериментальних даних проводили загальноприйнятими методами з комп'ютерним опрацюванням отриманих даних за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2017.

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Технологічні процеси отримання ентомопатогенних препаратів на основі штамів бактерій *Bacillus thuringiensis* відрізняються як різноманітним використанням аксенічних культур-ентомопатогенів, так і типом синтезованих токсиновмісних метаболітів, а також умовами культивування, формуванням титру життєздатних спор, способами концентрування культуральної рідини та вихідною формою препарату. Якість препаративних форм на основі *Bacillus thuringiensis*, як відомо, залежить від наявності в них активних споро-кристалічних комплексів (в тому числі ентомоцидних білкових δ-ендотоксинів) та збалансованих співвідношень джерел азотного і вуглецевого живлення в ферментаційному середовищі. Вивчення динаміки росту і розвитку ендоспорового штаму *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*

(*H<sub>1</sub>*) 87-15 у рідких поживних середовищах з капустяним гідролізатом показало, що адаптація до умов глибинного культивування відбувається швидко, що пов'язано з нетривалим періодом проходження лаг-фази. Це, у свою чергу, забезпечує синхронний розвиток і формування технологічної зрілості культури ентомопатогену. В експоненційній фазі росту титр штаму №87-15 зростає від 0,9 до 3,3 млрд./мл впродовж 30 год. з моменту внесення інокуляту. Зафіксовано максимальний титр спор штаму (до 4,5 млрд./мл), який не зменшувався у фазі стаціонарного розвитку впродовж 14 годин, незначне та поступове зниження продуктивності штаму №87-15 зафіксовано після другої доби глибинного культивування (до 4,2 млрд. /мл), — табл. 1.

З позиції строгого регулювання причин зниження швидкості росту клітин і утворення фази уповільненого росту може бути зниження швидкості продукування енергії в умовах ліміту джерелом енергії, а також низька швидкість споживання джерел азоту та деяких факторів росту, особливо при введенні додаткових кількостей джерел вуглецю, енергії та інших факторів, що сприяють збільшенню синтезу АТФ в умовах його низького використання. З метою підтримки високої швидкості росту в процесі періодичного культивування не можна допустити її різкого зниження у разі введення в середовища підвищених концентрацій поживних компонентів, джерел енергії та ін.

Дослідження впливу різних поживних середовищ на продуктивність штаму *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (*H<sub>1</sub>*) 87-15 при глибинному культивуванні показало позитивну динаміку утворення термостійких спор та активного формування ен-

томотоксичних метаболітів, зокрема титр спор не менше 3,0 млрд./мл культуральній рідині.

Аналізуючи розвиток ендоспорової культури *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (H<sub>1</sub>) 87-15 в умовах глибинної ферментації та продукування кінцевих продуктів метаболізму після 72-96 год. встановлено залежність показників технологічності штаму від рН середовища (6,0-8,0), температури (30 °C ± 2 °C), аерації (об'єм середовища 100 мл, 1 л). Суттєве значення має не лише початкова величина рН, але і її коливання в процесі культивування за споживання культурою певних катіонів або аніонів середовища, що підкислює або підлужує культуральну рідину). Ці зміни можуть залежати як від складу середовища, так і від фізіологічних осо-

бливостей штаму. Сильне підкислення або значне підлуження поживного середовища може зупинити розвиток культури та загальмувати утворення ентомоцидних компонентів. Встановлено, що інтенсивний перебіг цього процесу відбувається за рН середовища до 8,0, через 72 години утворюється максимальна кількість спор (849 млн./мл, за мінімальних рН 5,0 титр спор штаму відповідно не перевищував 265-300 млн./мл. Підвищення температури з 26 °C до 32 °C призводить до підвищення активності росту і розвитку ендоспорового штаму №87-15, за показників 36 °C і вище спостерігається уповільнення процесу формування ентомотоксинів у рідкому концентраті. Оптимізація режиму аерації під час формування мікробної маси *Bacillus thuringiensis*

**Характеристика продуктивності та технологічності штаму  
*Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (H<sub>1</sub>) 87-15  
у періодичній культурі в умовах *in vitro*\***

| Поживне середовище / штам<br><i>Bacillus thuringiensis</i> var.<br><i>thuringiensis</i> (H <sub>1</sub> ) | Продуктивність штаму,<br>титр спор млрд./мл |         | Технологічна зрілість<br>культури, мікроскопія стану<br>популяції в рідині |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------|----------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                           | 32 год.                                     | 48 год. |                                                                            |
| Дріжджо-полісахаридне<br>середовище / №87-15                                                              | 2,0-2,8                                     | 3,6-4,0 | 88 % спор, 10 % проспоро                                                   |
| Дріжджо-полісахаридне<br>середовище / референт<br>№98                                                     | 2,0-3,0                                     | 3,5-4,0 | 90 % вільних спор і кристалічних включень білкового δ-ендотоксину          |
| Середовище з рослинним<br>компонентом (капустяний<br>гідролізат) / №87-15                                 | 2,5-3,3                                     | 4,2-4,5 | 95 % вільних спор і кристалічних включень білкового δ-ендотоксину          |
| Середовище з рослинним<br>компонентом (сінний відвар)<br>/ №87-15                                         | 1,9-2,5                                     | 3,0-3,4 | 85 % споро-кристалічного<br>комплексу, 10 % проспоро                       |
| Середовище з рослинним<br>компонентом (капустяний<br>гідролізат) / референт №98                           | 1,9-2,3                                     | 3,5-4,0 | 90 % вільних спор і кристалічних включень білкового δ-ендотоксину          |
| Середовище з рослинним<br>компонентом (сінний відвар)<br>/ референт №98                                   | 2,0-2,2                                     | 3,3-3,8 | 87 % споро-кристалічного<br>комплексу, 5 % проспоро                        |

\*Примітка: співвідношення спора / білковий δ-ендотоксин в культуральній рідині — 1:1 (оптимальний стан)

дає можливість отримувати більшу кількість біоматеріалу (рідкого концентрату) та прискорити процес отримання препаративної форми.

Таким чином, регуляція біотехнологічного виробництва ентомопатогенних препаратів на основі бактерій *Bacillus thuringiensis* пов'язана з вирішенням ряду проблем мікробіологічного синтезу в комплексі з фізіолого-біохімічними, селекційними дослідженнями аксенічних культур і підбором умов культивування. Культивування штамів-продуцентів *Bacillus thuringiensis* в лабораторно-експериментальних або малотоннажних умовах спрямовано на отримання максимального виходу біологічно активних метаболітів (екзо-, ендотоксинів та ін.), що визначає ентомоцидну активність препаратів даної групи відносно широкого спектра чутливих фітофагів.

### Висновки і перспективи.

Обґрунтування складу середовища та умов культивування з позицій фізіології й біохімії продуцента, а також оптимізація регуляції поживних речовин – актуальні завдання для видової та штамової специфічності (в кожному конкретному випадку проводиться ретельний підбір оптимальних складових середовища/субстрату для конкретного продуцента). Одночасно використовують доступні та економічні ресурси для конструювання поживних середовищ, субстратів. Суттєвим показником біотехнологічного виробництва мікробних препаратів залишається варіабельність популяції спорових форм мікроорганізмів, а також автокаталітичний характер процесу (вплив продуктів, що утворюються і біомаси в цілому на швидкість протікання ферментації, формування ентомотоксинів та ін.) А складність біохімічних меха-

нізмів регуляції росту мікроорганізмів і біосинтезу продуктів метаболізму, ферментативний характер регуляції підкреслюють важливість дотримання специфічних умов і вимог виробництва. Отже, процеси ферментації ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis* характеризуються рядом суттєвих відмінностей (залежність від продуцентів, умов, режимів, агрегатного стану ферментаційного середовища, видів використовуваних субстратів тощо), що визначає апаратне оформлення процесів і значно впливає на технологію виробництва в цілому. Перспективні для виробництва штами мікроорганізмів повинні відповідати певним вимогам, а саме: здатністю до росту на дешевих поживних середовищах, високою швидкістю росту й утворення цільового продукту, мінімальним утворенням побічних продуктів, стабільністю продуцента щодо виробничих властивостей, нешкідливістю продуцента і цільового продукту для людини та навколишнього середовища. У зв'язку з цим всі мікроорганізми, що використовуються в промисловості, проходять тривалі випробування на нешкідливість для людей, теплокровних тварин і навколишнього середовища (токсикологічна, гігієнічна, екологічна експертизи). Важливою властивістю продуцента є стійкість до інфекції, що актуально для підтримки стерильності, фагостійкості.

### References

1. Patyka, T.I., Patyka, M.V. (2018). Biotechnologia mikrobnogo syntezu. [Biotechnology of microbial synthesis]. Vinnytsya: TOV «Nilan-LTD», 272.
2. Patyka, T.I., Boyko, M.V., Patyka, M.V. (2017). Biotechnologichna polifunktsional'nist' metabolitnoho sporo-krystalichno-

- ho kompleksu ta osoblyvosti kul'tyuvannya *Bacillus thuringiensis* [Biotechnological polyfunctionality of metabolic spore-crystalline complex and features of cultivation of *Bacillus thuringiensis*]. In: Microbiological journal, Vol. 79, № 2, 78-85.
3. Boyko, M.V., Patyka, N.V., Patyka, T.I. (2017). Estimation of productivity *Bacillus thuringiensis* on different media. In: Microbiology and Biotechnology, № 1 (37), 16-22.
  4. Kandybin, N.V., Patyka, T.I., Yermolova, V.P., Patyka, V.F. (2009). Microbiocontrol of insect numbers and its dominant *Bacillus thuringiensis*. St. Petersburg-Pushkin: Innovative Center for Plant Protection, 254.
  5. Crickmore, N. (2000). The diversity of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application. Kluwer Acad. Publ. The Netherlands, 65-79.
  6. Bravo, A., Gill, S., Soberon, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. In: Toxicon, Vol. 49, 423-435.
  7. Bravo, A., Gomez, I., Porta, H., et al. (2013). Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity. In: Microbial Biotechnol., Vol. 6, 17-20.
  8. Anderson, R. K. I., Jayaraman, K. (2005). Impact of balanced substrate flux on the metabolic process employing fuzzy logic during the cultivation of *Bacillus thuringiensis* var. *Galleriae*. In: World Journal Microbiology and Biotechnology, Vol. 21, 127-133.
  9. Ibrahim, M.A., Griko, N., Junke, M., Bulla, L.A. (2010). *Bacillus thuringiensis*. A genomic and proteomics perspective. In: Bioengineered bugs, 1, 31-50.
  10. Bechet, M., Caradec, T., Hussein, W.M., et al. (2012). Structure, biosynthesis and properties of kurstakins, nonribosomal lipopeptides from *Bacillus* spp. In: Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol. 95 (3), 593-600.
  11. Raymond, B., Johnston, P.R., Nielsen-LeRoux, C., Lereclu, D., Crickmore, N. (2010). *Bacillus thuringiensis*: An impotent pathogen. In: Trends Microbiol., Vol. 18, 189-194.

---

**T. I. Patyka, N. V. Patyka (2019). REGULATION OF TECHNOLOGICAL ACTIVITY OF BACILLUS THURINGIENSIS STRAINS 87-15 IN CONDITIONS OF DEEP CULTIVATION. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 13-21.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13077>

**Abstract.** The scientific substantiation and the decision of the actual tasks of control and regulation of technological activity of the prospective entomopathogenic strain *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (H1) 87-15 natural type as a producer of liquid form of the preparation for the biocontrol of phytophagous. Influence of different nutrient media on the productivity of strain № 87-15 at deep cultivation and the positive dynamics of spore formation and entomotoxic metabolites (titer of spores after 72 hours of fermentation in the range of 3.6-4.5 billion per ml of culture fluid) was established. The optimization of the pH of the medium, the temperature ranges and the aeration regime during the formation of the microbial mass of *Bacillus thuringiensis* makes it possible to obtain more biomaterial (liquid concentrate) and accelerate the process of obtaining the form of the preparation.

**Keywords:** entomopathogenic strain, *Bacillus thuringiensis*, productivity, manufacturability.

---

**Т. И. Патыка, Н. В. Патыка (2019). РЕГУЛИРОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА *BACILLUS THURINGIENSIS* 87-15 В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 27-35. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13077>**

**Аннотация.** Представлено научное обоснование и решение актуальных задач контроля и регуляции технологической активности перспективного энтомопатогенного штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* (H1) 87-15 природного типа как продуцента жидкой формы препарата для биоконтроля фитофагов. Установлено влияние различных питательных сред на продуктивность штамма № 87-15 при глубинном культивировании и положительная динамика образования спор и энтомотоксичных метаболитов (титр спор через 72 часов ферментации в пределах 3,6-4,5 млрд. /мл культуральной жидкости). Оптимизация pH среды, температурного диапазона роста и режима аэрации при формировании микробной массы *Bacillus thuringiensis* дает возможность получать большее количество биоматериала (жидкого концентрата) и ускорить процесс получения формы препарата.

**Ключевые слова:** энтомопатогенный штамм, *Bacillus thuringiensis*, продуктивность, технологичность.

---

## ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ІМНОБІОСЕНСОРІВ НА ОСНОВІ ЗОЛОТА ТА НАНОЧАСТИНОК ZnO ЗА АНАЛІЗУ РІВНІВ СПЕРМІНУ В КУЛЬТУРІ КЛІТИН *IN VITRO*

---

**М. П. ПРИЛУЦЬКИЙ**, провідний спеціаліст кафедри лабораторної  
діагностики біологічних систем  
E-mail: prilutskiy.maxim@gmail.com

Національний університет «Києво-Могилянська Академія», Київ, Україна

**М. Ф. СТАРОДУБ**, завідувач кафедри молекулярної біології, мікробіології  
та біобезпеки, доктор біологічних наук, професор  
E-mail: nfstarodub@gmail.com

**М. І. ФЕДЕЛЕШ-ГЛАДИНЕЦЬ**, кандидат сільськогосподарських наук,  
доцент кафедри молекулярної біології, мікробіології  
та біобезпеки  
E-mail: fedelesh@nubip.edu.ua

Національний університет біоресурсів і природокористування,  
Київ, Україна

**Анотація.** Для діагностики онкологічних захворювань необхідною є розробка новітніх методів, спрямованих передусім на швидкість, точність, мобільність та низьку вартість. Як такі методи можуть виступати розробка і використання імунобіосенсорів для аналізу низькомолекулярних маркерів онкологічних захворювань. Такими маркерами можуть виступати поліаміни – низькомолекулярні речовини присутні у клітинах живих організмів і здатні впливати на широке коло клітинних функцій, однією з яких є проліферація. Підвищені рівні поліамінів нерідко можуть бути ознакою початку процесу малігнізації клітин, а отже можуть бути використані, як маркер для діагностики онкологічних захворювань. Імунобіосенсиори ж, володіючи певними фізичними й біологічними властивостями, здатні специфічно взаємодіяти із відповідними антигенами і виявляти їх у розчині чи біологічних рідинах. У даній статті представлені результати досліджень з порівняння ефективності аналітичних можливостей імунобіосенсорів із різним типом перетворювача, а саме перетворювача, покритого частинками золота, та такого, який покритий наночастинками оксиду цинку. Визначено, що біосенсор вкритий частинками золота здатен краще виявляти наявність та концентрацію поліамінів як у розчині, так і в суспензії клітин раку молочної залози MCF-7, і саме він здатен виявляти спермін в концентраціях від 5 до 100 нг/мл і в концентрації клітин MCF-7 від 100 до 500 кл/мл.

**Ключові слова:** поліаміни, спермін, біосенсиори, наночастинки, перетворювач

### **Актуальність.**

Рак є однією з провідних причин смерті в усьому світі. Смертність від раку може бути знижена, якщо його почнуть діагностувати та лікувати на ранніх стадіях. Отже, прогностичні біомаркери, зареєстровані в ході трансформації клітин, можуть слугувати потенційними діагностичними й терапевтичними засобами. Як такі прогностичні маркери дуже перспективно виглядають поліаміни. Найпоширенішим серед усіх видів раку є рак молочної залози, особливо він поширений у жінок старшого і похилого віку [1]. Це обумовлює актуальність розроблення нових і вдосконалення наявних методів діагностики цієї патології. Надзвичайна складність канцерогенезу і труднощі раннього виявлення захворювання ставлять завдання першорядної важливості – вибір оптимального варіанту діагностики.

### **Аналіз останніх досліджень та публікацій.**

Діагностика раку на ранній стадії розвитку є необхідною умовою ефективності лікування для контролю його прогресування і зниження рівня смертності. Біомаркери є корисними кандидатами для діагностики захворювання, моніторингу прогресування захворювання та наступного прогнозу у відповідь на терапевтичні втручання [3].

Протягом останнього десятиліття зростає інтерес до аналізу різних біологічних рідин для ідентифікації панелей біомаркерів раку. Деякі підходи, такі як аналізи на основі мас-спектрометрії, профілювання на основі гелю і дослідження масивів білків і антитіл, швидко розвиваються як прогресивні

платформи для виявлення біомаркерів і покращують наше розуміння біологічних процесів на функціональному рівні. Однак обмежений динамічний діапазон і низька чутливість є основними проблемами для більшості теперішніх підходів[4].

Більш того, точна діагностика складних захворювань, таких як рак, вимагає одночасного виявлення декількох біомаркерів, обумовлюючи необхідність високопродуктивної діагностичної платформи. Оптичні біосенсиори на основі явища поверхневого плазмонного резонансу (ППР) є одними з найперспективніших чутливих елементів для вивчення молекулярних взаємодій, кінетики зв'язування в реальному часі та поверхневих характеристик молекул. ППР виникає, коли енергія з монохроматичного променя світла падає на межі розділу метал-діелектрик за певного кута відбиття і перетворюється в електромагнітну енергію, що призводить до генерації згасаючої хвилі [2].

Інтенсивність ППР залежить від багатьох факторів, включаючи властивості металевого шару, кут ППР, довжину хвилі падаючого світла, показник заломлення в площині метал-діелектрик тощо, для виявлення дуже низьких концентрацій вмісту біомаркерів у складних біологічних рідинах і потребує подальшого вивчення. [9]

Поліаміни необхідні для нормального росту і розвитку клітин в еукаріотів. У нормальних фізіологічних умовах концентрація внутрішньоклітинних поліамінів жорстко регулюється через динамічну мережу біосинтетичних і катаболічних ферментів і транспортну систему. Внутрішньоклітинна концентрація поліамінів підтримується в чітко визначених ме-

жах. У малігнізованих же клітинах, часто можна спостерігати порушення цих меж [5].

Підвищені рівні поліамінів можуть бути пов'язані з раком молочної залози, товстої кишки, легенів, передміхурової залози та шкіри, а також спостерігається зміна активності ферментів, що обмежують швидкість як біосинтезу, так і катаболізму поліамінів. Беручи до уваги зв'язок пухлин із високим рівнем поліамінів, вони є перспективною мішенню діагностики та лікування [9]. Оскільки поліаміни незамінні для росту клітин, підвищена доступність поліамінів підвищує ріст клітин [11].

Ракові клітини володіють підвищеною здатністю до синтезу поліамінів пов'язаних із продукцією протеїназ, таких як серинова протеїназа, матриксні металопротеїнази, катепсини та активатор плазміногену, які можуть розкласти навколишні тканини [6].

Хоча ракові тканини продукують фактори росту судин, їх нерегульований ріст індукуює гіпоксію, яка, у свою чергу, посилює поглинання поліамінів раковими клітинами для подальшого збільшення міграції клітин і придушення експресії CD44 (Cluster differentiation 44, глікопротеїн, рецептор гіалуронової кислоти). Збільшення поглинання поліамінів імунними клітинами також призводить до зниження продукції цитокінів, необхідної для протипухлинної активності, і знижує експресію молекул адгезії, залучених до протипухлинного імунітету, таких як CD11a (Cluster differentiation 11a, інтегрин-альфа, мембранний білок) і CD56 (Cluster differentiation 56, мембранний білок). Імунні клітини в середовищі з підвищеними рівнями поліамінів втрачають протипухлинну

імунну функцію, таку як активність лімфокінів. Недавні дослідження показали, що підвищена доступність поліамінів підвищує здатність ракових клітин метастазувати в нові тканини, зменшуючи протипухлинну функцію імунних клітин [8].

Вміст поліамінів у крові здорових людей знаходиться на рівні 10,1 нмоль/мл (діапазон 8-12,5). Середнє значення для сперміну становить 4 нмоль/мл (діапазон 3-3 ммоль / мл) [7].

**Мета дослідження.** порівняти ефективність визначення поліамінів біосенсорами з різним типом перетворювачів у модельних розчинах та в культурі клітин в умовах *in vitro*.

### **Матеріали і методи дослідження.**

Для дослідження використовувалися високоспецифічні сироватки проти сперміну та спермідину (Abscam, Кембридж, Англія), розчини поліамінів сперміну (Abscam, Кембридж, Англія), а також клітинна лінія MCF-7, яка була отримана в Інституті експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького. В якості аналітичного пристрою використовувався оптичний біосенсорний прилад «Plasmontest» на основі явища ППР, обладнане датчиком із роздільною здатністю 2048 пікселів і підключеним безпосередньо до комп'ютера для реєстрації і обробки прийнятого сигналу.

Для аналізу використовували пластинки з розчином ZnO, а також пластинки з нанесеним шаром золота (50 нм) на яку наносили розчин білку А в об'ємі 5 мкл і концентрації 20 мкг/мл. Після чого інкубували білок А отриманий із бактерії *Staphylococcus aureus* на поверхні пластинок про-

тягом 40 хв, після чого промивали їх 0,85 % розчином NaCl. Інкубацію проводили в скляній або пластиковій чашці Петрі, на дні якої розміщували фільтрувальний папір, змочений водою, на нього клали спочатку алюмінієву підкладку, а потім пластинку. Чашку Петрі поміщали у холодильну камеру за температури +4 °С. Після модифікації пластинки розчином білка А, на її поверхню наносили розчин специфічних антитіл і проводили інкубацію протягом 40 хв із подальшою промивкою 0,85 % розчином NaCl. Наступним етапом було нанесення на поверхню пластинки розчину БСА в об'ємі 5 мкл і концентрації 10 мкг/мл та інкубація протягом 20 хв із подальшою промивкою 0,85 % розчином NaCl.

Суспензію культури клітин раку молочної залози MCF-7 готували у концентраціях від 100 до 100000 кл/мл в 0,85 % NaCl. Розчин сперміну готували у концентраціях від 10 до 100 нг/мл в 0,85 % NaCl. Використання розчинів сперміну необхідне для перевірки порогу чутливості імунобіосенсора та визначення оптимальної концентрації поліамінів. Використання суспензії культури клітин MCF-7 є необхідним для визначення наявності та концентрації поліамінів у клітинах раку та порівняння зі стандартними концентраціями поліамінів у клітинах.

Далі пластинку промивали дистильованою водою і висушували за кімнатної температури. Інші операції виконували як зазначено вище.

Вимірювання проводили шляхом перенесення модифікованої скляної пластинки у камеру біосенсорного пристрою «Плазмонтест». В камеру поміщали речовини в об'ємі 20 мкл. Спочатку в камеру вносили 0,85% розчин NaCl для калібрування прила-

ду. Вимірювання здійснювали протягом 2-3 хв. Надалі почергово вносили концентрації досліджуваних речовин. Після закінчення вимірювань кожної окремої концентрації проводили промивку камери 0,85 % розчином NaCl. Отримані дані аналізували за кількістю одиниць люмінесценції або кута відбиття лазерного променя, які реєструвалися приладом, і передавалися на комп'ютер. Прилади реєструють кут відбиття лазерного променя в залежності від концентрації та молекулярної ваги речовин, кон'югованих на їх поверхні.

Аналіз даних виконано в програмі Excel 2016. Пораховано стандартну похибку. Також проведено однофакторний дисперсний аналіз ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ).

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

У результаті проведених досліджень можна спостерігати що біосенсор, як на основі наночастинок ZnO так і золота здатний визначати як поліаміни сперміну у розчині в різних концентраціях, так і суспензії культури клітин лінії раку молочної залози людини MCF-7. Сенсорограми отриманих даних дозволяють спостерігати поступове збільшення концентрації сперміну як в розчині, так і в суспензії культури клітин. Можна спостерігати, що діапазон чутливості визначений біосенсором знаходиться в межах від 5 до 1000 нг/мл для сперміну і від 100 до 100 000 кл/мл для суспензії клітин MCF-7 (рис. 1, 2).

У результаті аналізу отриманих даних можна визначити, що концентрації сперміну від 5 до 100 нг/мл краще визначається біосенсором, де як перетворювач сигналу використо-

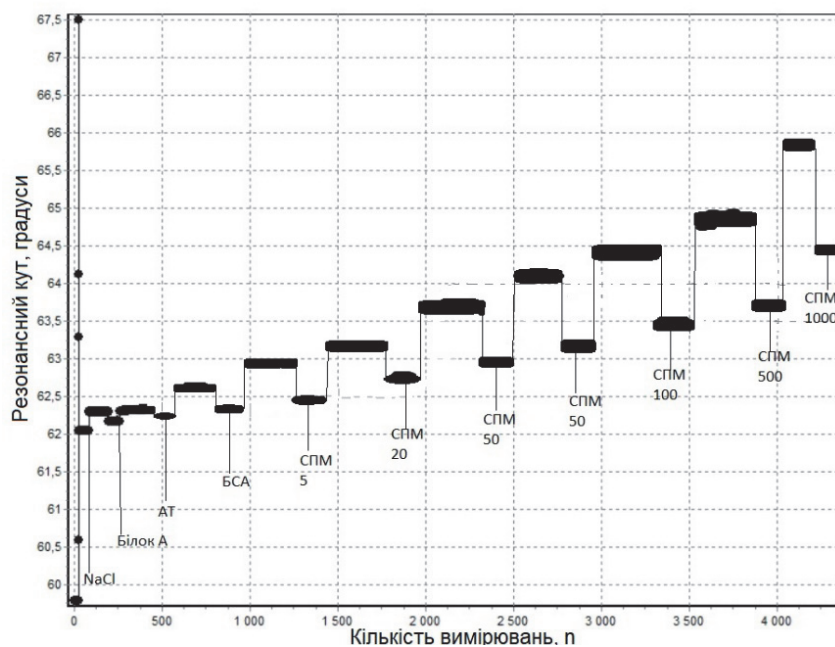


Рис. 1. Сенсорограма зсуву резонансного кута в залежності від концентрації сперміну

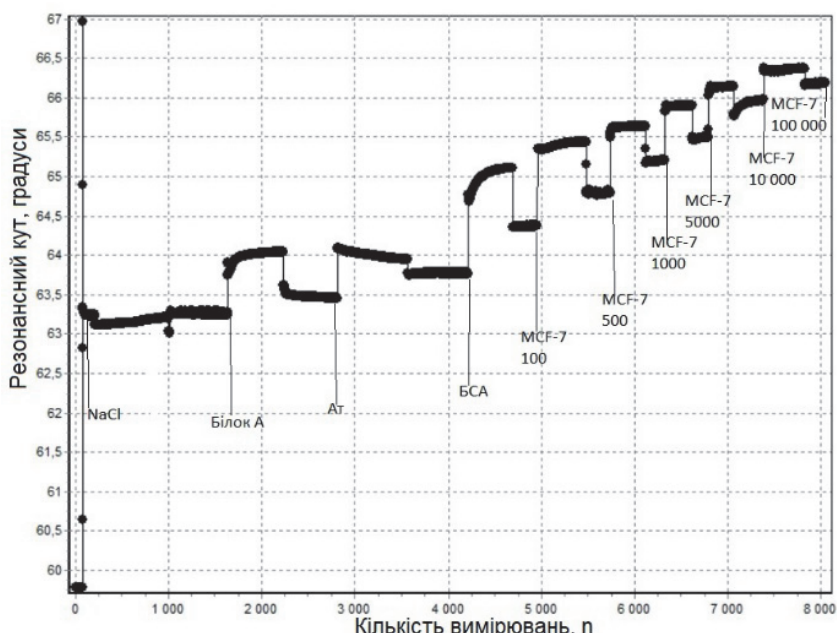
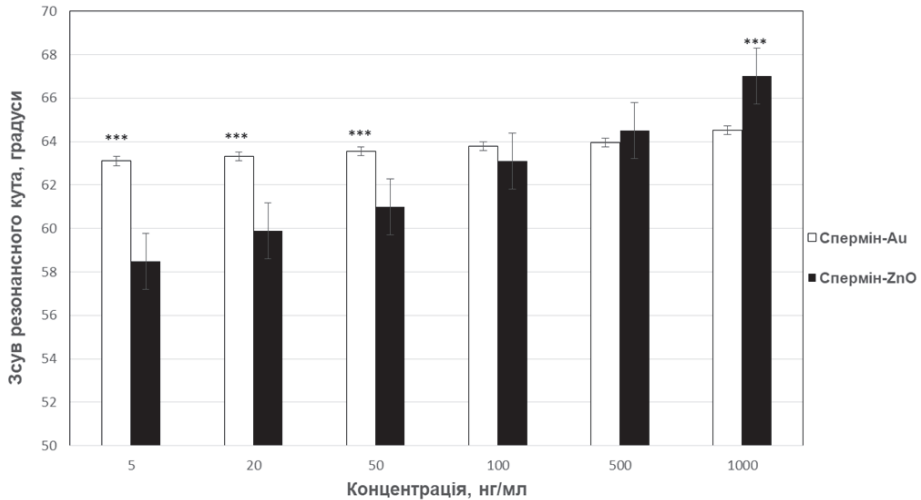
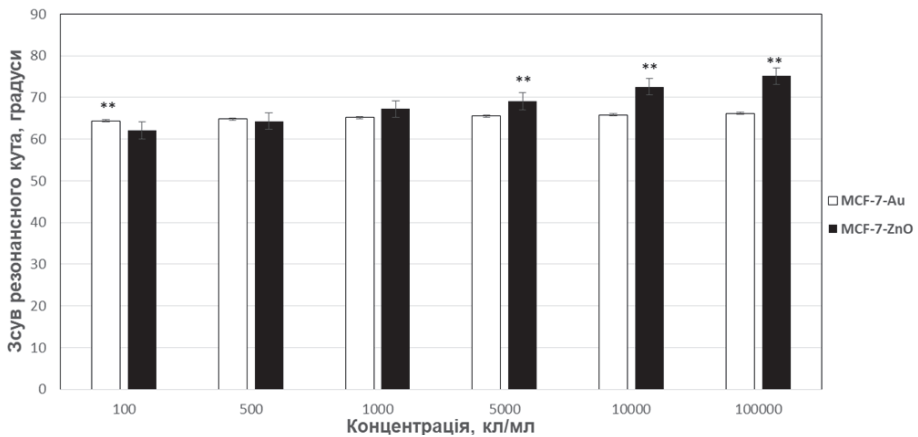


Рис. 2. Сенсорограма зсуву резонансного кута в залежності від концентрації клітин MCF-7



**Рис. 3. Порівняння ефективності визначення поліамінів біосенсорами на основі золота та наночастинок ZnO для визначення концентрації сперміну в розчині. Різниця між групами достовірна (\*\*\*) – рівень значущості  $p < 0,001$ ,  $n = 6$ ).**



**Рис. 4. Порівняння ефективності визначення поліамінів біосенсорів на основі золота та наночастинок ZnO. Різниця між групами достовірна (\*\*) – рівень значущості  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ).**

ується пластинка із золотим напленням. Зсув резонансного кута знаходиться в діапазоні від  $63,11 \pm 0,043$  до  $63,56 \pm 0,049$  градусів, що відповідає концентраціям від 5 до 100 нг/мл і чіткіше від відгуку у разі використан-

ня пластинки з наночастинками ZnO у 1,04-1,10 разів. За концентрації від 500 до 1000 нг/мл можна спостерігати чіткіший відгук у біосенсора з пластинкою, обробленою наночастинками ZnO де відгук біосенсора знахо-

диться в межах від  $64,50 \pm 0,0055$  до  $67,10 \pm 0,0063$  і визначає наявність та концентрацію поліамінів у  $0,96\text{--}0,99$  раза чіткіше (рис. 3).

Під час аналізу ефективності визначення поліамінів у суспензії клітин MCF-7 дослідили, що біосенсор на основі частинок золота визначає наявність поліамінів краще в меншій кількості клітин в діапазоні від 100 до 500 кл/мл і знаходиться в діапазоні від  $64,38 \pm 0,050$  до  $64,82 \pm 0,057$  градусів, що більше у порівнянні з відгуком біосенсора на пластинці з наночастинками ZnO в  $1,03\text{--}1,05$  рази.

Надалі, за зростання кількості клітин спостерігали підвищення чіткості відгуку на пластинці з наночастинками ZnO в діапазоні концентрацій від 1000 до 100 000 кл/мл у  $1,10\text{--}1,13$  раза у порівнянні з біосенсором на пластинці, вкритій шаром золота. (рис. 4). Зсув резонансного кута знаходиться в межах від  $67,20 \pm 0,0069$  до  $75,14 \pm 0,0078$  градусів.

### **Висновки і перспективи.**

Проаналізувавши отримані результати можна сказати, що біосенсор на основі частинок золота показав кращі результати щодо здатності визначати наявність та концентрацію поліамінів у порівнянні з біосенсором на основі наночастинок ZnO як у розчині, так і в суспензії клітин раку молочної залози MCF-7. Тому рекомендованим є надалі застосування біосенсора з перетворювачем, вкритим частинками золота, оскільки саме він здатен виявляти спермін краще в концентраціях від 5 до 100 нг/мл і в концентрації клітин MCF-7 від 100 до 500 кл/мл.

**Подяки.** Прилад “Plasmontest” було люб’язно надано Інститутом кібернетики ім. Глушкова НАН України

ни (Київ, Україна). Зразки сироватки крові були надані діагностичною лабораторією «Альфа-лабсервіс» (Харків, Україна).

### **References**

1. Casero, J. R., Murray, T. S., Pegg, A. E. (2018). Polyamine metabolism and cancer: treatments, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, 18(9), 681–695. doi:10.1038/s41568-018-0050-3
2. Casero R. A (2006). Targeting polyamine metabolism and function in cancer and other hyperproliferative diseases. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 6, 373–390. doi:10.1038/nrd2243.
3. Çelik, V. K. Kapancı S., Kaçan T., Kaçan S. B., Kılıgün H (2017). Serum levels of polyamine synthesis enzymes increase in diabetic patients with breast cancer. *Endocrine Connections*. 6(8). 574–579. doi:10.1530/EC-17-0137.
4. Criss, W. E. A review of polyamines and cancer (2003). *Turkish Journal of Medical Sciences*. 33 (4), 195–205.
5. Gerner, E.W. Meyskens F. L. (2004). Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. *Nature Reviews. Cancer*. 4, 781–789. doi:10.1038/nrc1454.
6. Guerra, G. P., Rubin, M. A., Mello, C. F. (2016). Modulation of learning and memory by natural polyamines. *Pharmacological research*. 112, 99–118. doi:10.1016/j.phrs.2016.03.023.
7. Levêque, J. Foucher F., Bansard R. Havouis R., Grall J-Y, Moulinoux J-P (2000). Polyamine profiles in tumor, normal tissue of the homologous breast, blood, and urine of breast cancer sufferers. *Breast Cancer Research and Treatment*. 60 (2), 99–105. doi:10.1023/A:1006319818530.
8. Nowotarski, S. L. Woster P. M., Casero R. A. (2013) Polyamines and cancer: implications for chemotherapy and chemoprevention. *Expert Reviews in Molecular Medi-*

- cine. 15 (3), 1–21. doi:10.1017/erm.2013.3.
9. Reddy, P. J., Sadhu, S., Ray, S., Srivastava S. (2012). Cancer Biomarker Detection by Surface Plasmon Resonance Biosensors. Clinics in Laboratory Medicine. 32(1), 47–72. doi:10.1016/j.cll.2011.11.002.
10. Soda K. (2011) The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 30 (1), 95–100. doi:10.1186/1756-9966-30-95.
11. Thomas, T., Thomas, T. J. (2003). Polyamine metabolism and cancer. Journal of cellular and molecular medicine. 7(2), 113–126. doi:10.1111/j.1582-4934.2003.tb00210.x
- 

**M. P. Prylutskyi, M. F. Starodub, M. I. Fedelesh-Gladynets (2019). COMPARISON OF EFFICIENCY OF IMMUNOBIOSENSORS BASED ON GOLD AND ZNO NANOPARTICLES FOR ANALYSIS OF SPERMINE LEVELS IN INVITRO CELL CULTURE BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 36–43.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13078>.

**Abstract.** Nowadays, for diagnostics of oncological diseases, it is necessary to develop the newest methods, aimed primarily at fast, accurate, mobile and low cost analysis. The extraordinary complexity of carcinogenesis and the difficulties of early detection of the disease pose a primary concern - the choice of an optimal diagnostic methods. Such methods may include the development and use of immunobiosensors for the analysis of low molecular weight markers of cancer. In a role of such markers could become polyamines which are low molecular weight substances presented in cells of living organisms and can affect a wide range of cellular functions, one of which is proliferation. Increased levels of polyamines can often be a sign of the beginning of the process of malignancy, and therefore can be used as a markers for the diagnostics of oncological diseases. Immunobiosensors possess certain physical and biological properties, and are capable to interact with the specific antigens and detect them in biological fluids. This article presents the results of studies pointed on the comparison of the effectiveness of analytical capabilities of immunobiosensors with different types of transducers, namely, a transducer covered with particles of gold, and that is covered with zinc oxide nanoparticles. The obtained data allow to observe a gradual increase in the concentration of polyamines, both in solution and in suspension of cells. It has been determined that the biosensor which was covered with gold particles detected the presence and concentration of polyamines, both in solution and in the suspension of MCF-7 breast cancer cells better comparing with zinc oxide transducer, and capable to detect spermine in concentrations ranging from 5 to 100 ng/ml and in the concentration of MCF-7 cells from 100 to 500 cells/ml.

**Keywords:** polyamines, spermine, biosensors, nanoparticles, transducer

---

## ГЕНОТОКСИЧНА ДІЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *ATROFACIENS* У *ALLIUM CERA*-ТЕСТІ

**Л. М. БУЦЕНКО**, старший науковий співробітник

**Л. А. ПАСІЧНИК**, старший науковий співробітник

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

**Ю. В. КОЛОМІЄЦЬ**, доцент кафедри екобіотехнології

та біорізнноманіття

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: [plant\\_path@ukr.net](mailto:plant_path@ukr.net)

**Анотація.** Генотоксична активність мікроорганізмів та їхніх біополімерів є об'єктом пильної уваги у зв'язку із кореляцією між нестабільністю геномів макроорганізмів, яка спричинена мікроорганізмами, та канцерогенезом. Інформація щодо мутагенної активності фітопатогенних бактерій та їхніх біополімерів вкрай обмежена, що робить дослідження генотоксичної дії ліпополісахаридів широко розповсюдженого виду *P. syringae* pv. *atrofaciens* актуальним завданням. Визначення генотоксичної активності отриманих екстрагуванням розчином хлориду натрію ліпополісахаридів збудника базального бактеріозу пшениці *P. syringae* pv. *atrofaciens* здійснено в *Allium cera*-тесті. Встановлено, що ліпополісахариди фітопатогенних бактерій виду *P. syringae* pv. *atrofaciens* пригнічують мітотичну активність у клітинах апікальної меристеми *A. cera* та у дозі 5.0 мг/мл виявляють деструктивний вплив на генетичний апарат тест-об'єкта.

**Ключові слова:** фітопатогенні бактерії, ліпополісахарид, мутагенна активність, мітотичний індекс

### Актуальність.

Мутагенні властивості інфекційних агентів є об'єктом посиленої уваги дослідників вже впродовж декількох десятиліть. Мутагенну дію відмічено у багатьох патогенних бактерій та їхніх токсинів [1, 2, 3, 4]. Проте механізми такої активності патогенних бак-

терій часто залишають невідомими. Досить часто мутагенна активність грамнегативних бактерій асоціюється із їхніми ліпополісахаридами (ЛПС). Зокрема, дослідження останніх років дозволили встановити, що мутагенна активність інактивованих нагріванням патогенних та непатогенних штамів *E. coli*, які є причиною геномної неста-

більності в клітинах кишківника, печінки та селезінки мишей, пов'язана із ЛПС цих бактерій [4]. Саме розчини ЛПС, а не бактеріальної ДНК, РНК чи білків, спричинювали зміни кількості фосфорильованих гістонів H2AX, що є маркерами дволанцюгових розривів ДНК, та білків, що беруть участь у проліферації (PCNA), метилуванні ДНК (MeCP2, DNMT1, DNMT3A і 3B) чи репарації ДНК (APE1 і KU70), у клітинах печінки та селезінки мишей [3]. ЛПС виявилися компонентами бактеріальних клітин, які відповідають за індукцію геномних змін у хазяїні, впливають на проліферацію клітин і механізми внутрішньоклітинної передачі сигналів [5]. Вважають, що ЛПС здатні індукувати пошкодження геному використовуючи в основному два механізми [3]:

1) ЛПС спричинює запальну реакцію, наслідком якої є утворення активних форм кисню, що характеризуються пошкоджуючою дією на ДНК. Було продемонстровано, що дія навіть малих доз ЛПС призводить до значного збільшення рівня АФК [6].

2) Оброблення клітин ЛПС прискорює їх проліферацію. Проліферація клітин може бути індукована цитокінами, утворення яких є імунною відповіддю клітини, яка індукована завдяки сигнальній функції ЛПС. Відомо, що індуковані ЛПС цитокіни відіграють важливу роль у проліферації клітин спричинені запаленням при гіперплазії.

Тобто, ЛПС індукують пошкодження ДНК через вільнорадикальний механізм або спричинюючи високий рівень проліферації. Залишається не з'ясованим питання щодо необхідності прямого фізичного контакту клітин хазяїна з молекулами ЛПС бактерій задля індукції пошкоджень ДНК, надмір-

ної проліферації чи генетичної нестабільності. Можливо індуковані ЛПС ефекти опосередковані сигнальними молекулами, що утворюються на рівні слизової оболонки кишківника [3].

Відомо, що ін'єкція щуром ЛПС у дозі 5 мг/кг спричинює збільшення вмісту 8-гідроксидезоксигуанозину, який є маркером оксидативного пошкодження ДНК, у клітинах печінки в 4 рази [7]. Дослідження інших вчених вказують на посилення синтезу активних форм кисню у клітинах тварин і людини за участю ЛПС, одержаних із клітин бактерій різних видів [8]. Наприклад, зростання частоти мутацій у культурі клітин RAW264.7, яку спостерігали після оброблення препаратами ЛПС та  $\gamma$ -ІФН, автори пов'язують зі стимуляцією утворення оксиду азоту [9]. Крім того, ЛПС може виявляти генотоксичну активність щодо клітин крові та кісткового мозку щурів [9].

Отже, накопичені значні експериментальні дані, які підтверджують мутагенний вплив ліпополісахаридів патогенних мікроорганізмів на макроорганізм. Однак, ці дані стосуються переважно патогенних для ссавців бактерій. Разом із тим у попередніх наших дослідженнях було встановлено, що ліпополісахаридам двох штамів збудника базального бактеріозу пшениці притаманна антимутагенна активність у бактеріальній тест-системі та мутагенна активність у рослинній тест-системі [10, 11].

Зважаючи на велику кількість даних щодо мутагенної активності ЛПС патогенних для ссавців бактерій та неоднозначні дані отримані нами, щодо мутагенної дії ЛПС фітопатогенних бактерій, метою роботи стало вивчення генотоксичної дії ЛПС *Pseudomonas syringae* pv. *atrophicus* у *Allium cepa*-тесті.

## Матеріали та методи досліджень.

Для здійснення роботи нами використано два штами *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978: UKM B-1011 (PDDCC 4394) – неопатотиповий штам, ізольований із листка пшениці та 9780, який було ізольовано нами з ураженої базальним бактеріозом пшениці сорту Подольнка у Полтавській області України. Штами зберігаються у колекції живих культур відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології НАН України.

Фітопатогенні бактерії культивували в картопляному бульйоні (КБ). ЛПС отримували за екстрагування розчином хлориду натрію [12].

Для виділення ЛПС 10 г вологих бактеріальних клітин заливали 100 мл 0,85 % розчину хлориду натрію та перемішували протягом 4–5 год на магнітній мішалці за температури 4 °С. Клітини осаджували центрифугуванням, надосадову рідину, яка мала слабку опалесценцію, збирали та для позбавлення від низькомолекулярних речовин діалізували 24 год проти дистильованої води (періодично перемішуючи та змінюючи воду). Екстракти ліофільно висушували. Для очищення ЛПС готували їхні 3 % водні розчини. ЛПС із таких розчинів осаджували ультрацентрифугуванням за 30000 об/хв протягом трьох годин за температури 4 °С. Процедуру осадження здійснювали двічі. Осади розчиняли в невеликій кількості дистильованої води та ліофільно висушували.

У ЛПС визначали вміст основних компонентів: вуглеводів, жирних кислот; та вміст речовин, які є супутніми компонентами препаратів ЛПС: білків та нуклеїнових кислот [12].

Для вивчення фітотоксичності ЛПС насіння цибулі ріпчастої сорту Халцедон пророщували у вологій камері з розчином ЛПС відповідної концентрації (у контролі використовували стерильну дистильовану воду) 4 доби. Враховували кількість пророслого насіння та довжину корінців у проростків.

Генотоксичну дію ЛПС щодо *Allium cepa* L. (цибуля ріпчаста сорту Халцедон) тестували за методикою J. Rank [13]. Насіння *A. cepa* пророщували у розчинах ЛПС продовж 48 год до появи корінців довжиною 0,5–0,7 мм. Як контроль використовували корінці, які утворилися у насінні, що пророщували в дистильованій воді. Фіксували корінці у суміші етанолу і оцтової кислоти у співвідношенні 3 : 1 впродовж протягом доби. Корінці відмивали від фіксатора у 80 % етанолі тричі по 2 год. Мацерацію здійснювали у 1н розчині соляної кислоти 30 хв. Забарвлювали корінці 2 год у 1 % розчині ацетоорсеїну. Відмивали корінці у 45 % розчині оцтової кислоти протягом 10 хв. Для цитогенетичного аналізу готували тимчасові давлені препарати апікальної меристеми корінців [12]. Мікроскопіювання здійснювали за збільшення у 400 або 1000 разів за допомогою мікроскопу Sigeta MB-201.

Аналізували 10 корінців *A. cepa* та не менше 100 анафаз і телофаз у кожному варіанті досліду [12]. Для визначення мітотичної активності (МІ) підраховували кількість клітин у різних фазах мітозу у 10 випадково вибраних полях зору у кожному препараті. Мітотичний індекс виражали як відношення кількості клітин у стадії мітозу до загальної кількості обстежених клітин у відсотках.

Визначали також кількість клітин із порушенням хромосомного апарату за показником частота аберантних анафаз і телофаз (ЧААТ) [12]. ЧААТ виражали як відношення кількості клітин з аберациями в анафазі та телофазі до загальної кількості клітин, які перебували в ана- та телофазі, у відсотках. Результати обчислення ЧААТ представляли як середнє  $\pm$  стандартне відхилення. Для оцінки даних використали t-критерій Стюдента для виявлення статистично значущих відмінностей між групами даних ( $p < 0,05$ ).

### Результати дослідження та їх обговорення.

На відміну від більшості грамнегативних бактерій *P. syringae* характеризуються доволі слабким закріпленням ЛПС у зовнішній мембрані. Тому вже тривалий час для отримання ЛПС бактерій цього виду використовують метод екстрагування розчином хлориду натрію (0,85%) [14]. Цей метод дозволяє отримувати препарати ЛПС, які зберігають свою біологічну активність, що є важливим для подальшого вивчення властивостей ЛПС [14, 15]. Саме тому для здійснення досліджень ми отримували ЛПС методом екстрагування розчином хлориду натрію (0,85 %). Препарати мали типовий для ЛПС цього виду хімічний склад. ЛПС *P. syringae*

рв. *atrofaciens* УКМ В-1011 містив 31,8 % вуглеводів, 20,0 % білків, 3,6 % нуклеїнових кислот та 1,5 % 2-кето-3-дезоксиктонової кислоти (КДО). ЛПС *P. syringae* рв. *atrofaciens* 9780 містив 37,5 % вуглеводів, 23,4 % білків, 5,1 % нуклеїнових кислот та 1,9 % КДО (табл. 1). Необхідно зазначити, що схожий склад ЛПС спостерігали за вивчення цих біополімерів у інших ізолюваних із пшениці штамів *P. syringae* рв. *atrofaciens* (табл. 1).

У ЛПС *P. syringae* рв. *atrofaciens* містилася значна кількість вуглеводів, що відрізняє фітопатогенні види бактерій роду *Pseudomonas* від інших досліджених представників роду, які часто характеризуються О-антигенними комплексами з низьким вмістом вуглеводів.

У отриманих ЛПС *P. syringae* рв. *atrofaciens* міститься значна кількість білка. За даними літератури кількість білка у препаратах ЛПС залежить від способу їхнього виділення і може коливатись від 6,7 до 24,5 % [14]. Відомо, що молекули ЛПС у клітині знаходяться в комплексі одна з одною та з речовинами іншої хімічної природи, наприклад, білками.

2-кето-3-дезоксиктонова кислота (КДО) завжди присутня в ЛПС майже усіх грамнегативних бактерій. Вона зв'язує ліпід А з полісахаридною частиною молекули. Наявність КДО може бути своєрідним маркером, який

### 1. Хімічний склад ЛПС *P. syringae* рв. *atrofaciens*

| № | ЛПС штаму                                            | Середній вміст, % |        |                    |     |
|---|------------------------------------------------------|-------------------|--------|--------------------|-----|
|   |                                                      | вуглеводів        | білків | нуклеїнових кислот | КДО |
| 1 | <i>P. syringae</i> рв. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1011 | 31,8              | 20,0   | 3,6                | 1,5 |
| 2 | <i>P. syringae</i> рв. <i>atrofaciens</i> 9780       | 30,7              | 27,7   | 2,3                | 1,7 |
| 3 | <i>P. syringae</i> рв. <i>atrofaciens</i> 9417 [11]  | 37,5              | 23,4   | 5,1                | 1,9 |
| 4 | <i>P. syringae</i> рв. <i>atrofaciens</i> 9400 [10]  | 30,7              | 27,7   | 2,3                | 1,7 |

свідчить про ліпополісахаридну природу виділеної речовини. В інших полімерах клітин КДО не виявляється.

Раніше нами встановлено здатність впливати на частоту хромосомних аберацій у рослинній тест-системі ЛПС штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400 та авірулентного *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9417 [10, 11], які було ізолювано нами із рослин пшениці. Задля розширення уявлення про мутагенні властивості ЛПС збудника базального бактеріозу пшениці *P. syringae* нами вивчено цитотоксичну дію та здатність індукувати пошкодження хромосом ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780, який є вірулентним і належить, як і попередньо досліджуваний штам *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, до серогрупи II за схемою серогруповання бактерій виду *P. syringae*, та неопатотипового штаму *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011, який належить до серогрупи IV. Відомо, що ЛПС є важливим фактором патогенності фітопатогенних грамнегативних бактерій [16, 17], а важливе значення для вияву багатьох біологічних активностей цього біополімеру (особливо тих, що пов'язані із впливом на макроорганізми) відіграють О-специфічні полісахариди (О-ПС). О-ПС ЛПС *P. syringae* є найбільш вивченими серед фітопатогенних бактерій. Вона корелює з серологічними властивостями штамів *P. syringae* і не має кореляції з приналежністю до патовару. Наприклад, різні штами *P. syringae* pv. *atrofaciens* мають різну будову О-ПС [17]. Тому для дослідження нами було обрано представника тої самої серогрупи, що і раніше досліджений ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, та іншої серогрупи, яка є найбільш поширеною в агрофітоценозах України.

Встановлено, що ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 та ЛПС неопатотипового штаму *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 є фітотоксичними для *Allium cepa* сорту Халцедон у концентрації 5 мг/мл та 10,0 мг/мл (табл. 2). Так, ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780, у концентрації 10 мг/мл зменшує довжину корінців цибулі на 44 %, а у концентрації 5 мг/мл – на 25 %. Водночас у концентрації 2,5 мг/мл цей біополімер достовірно не впливає на ріст корінців цибулі. ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 інгібує також схожість насіння цибулі у концентраціях 10,0 та 5,0 мг/мл. Таку саму активність виявив і ЛПС неопатотипового штаму *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011. У концентрації 10,0 мг/мл він інгібує ріст корінців проростків цибулі на 39 %, а у концентрації 5,0 мг/мл на 20 % (табл. 2). Необхідно зазначити, що фітотоксичну активність ми відмічали й у ЛПС інших штамів збудника базального бактеріозу пшениці [18].

Важливим показником впливу ЛПС на тест-об'єкт *A. cepa* сорту Халцедон є мітотичний індекс (МІ). ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 у концентраціях 10,0 і 5,0 мг/мл інгібував мітотичну активність клітин апікальної меристеми корінців цибулі ріпчастої сорту Халцедон на 65 і 42 % відповідно у порівнянні з контролем (рис. 1). ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 виявився здатним інгібувати мітотичну активність у цих концентраціях на 44 та 27 %. Порівнюючи отримані щодо інгібування мітотичної активності клітин апікальної меристеми цибулі за дії ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 із раніше досліджуваними нами ЛПС представ-

## 2. Вплив ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* на проростання насіння *A. сера* сорту Халцедон

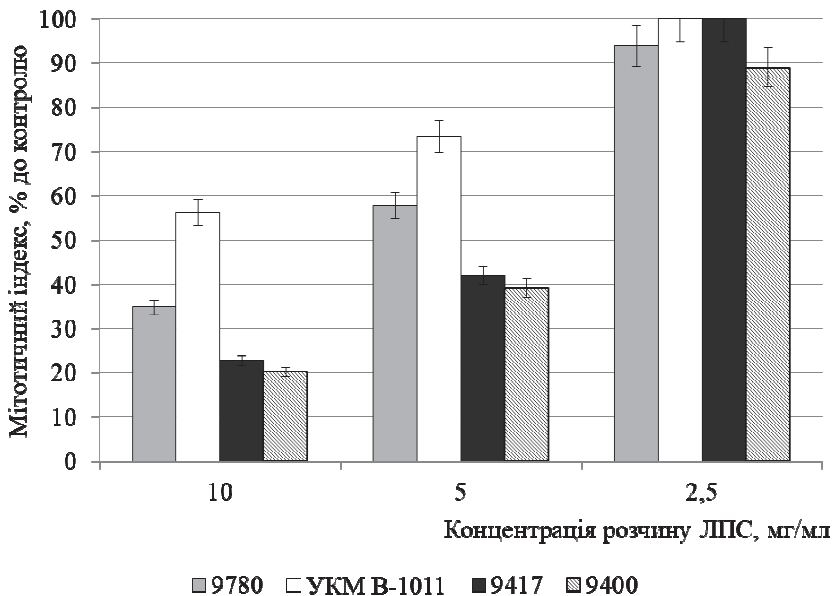
| Досліджений ЛПС                                      | Концентрація ЛПС, мг/мл | Схожість насіння, % | Інгібування схожості насіння за оброблення ЛПС, %* | Середня довжина корінця, мм | Інгібування росту корінців, %* |
|------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9780       | 10,0                    | 78                  | 15                                                 | 4,2                         | 44                             |
|                                                      | 5,0                     | 86                  | 7                                                  | 5,6                         | 25                             |
|                                                      | 2,5                     | 90                  |                                                    | 7,2                         |                                |
| <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1011 | 10,0                    | 69                  | 25                                                 | 4,6                         | 39                             |
|                                                      | 5,0                     | 83                  | 10                                                 | 6,0                         | 20                             |
|                                                      | 2,5                     | 93                  |                                                    | 6,9                         |                                |
| Контроль                                             |                         | 92                  |                                                    | 7,5                         |                                |

**Примітка.** \* – статистично значущі відмінності ( $t < 0,05$ ).

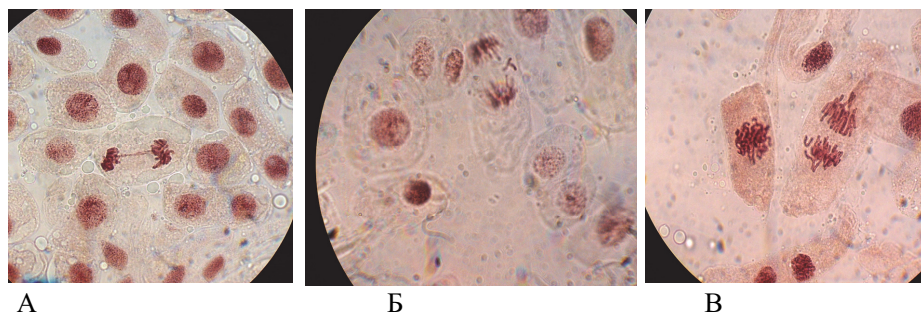
ників цього патовару фітопатогенних бактерій виду *P. syringae* можна констатувати, що досліджувані ЛПС є менш токсичними для цибулі (рис. 2). Однак, ми можемо стверджувати, що цитотоксична дія стосовно *A. сера* у концентраціях 10,0 і 5,0 мг/мл є загальною властивістю ЛПС

бактерій *P. syringae* pv. *atrofaciens*. У концентрації 2,5 мг/мл ЛПС збудника базального бактеріозу пшениці не виявляють цитотоксичного впливу на клітини апікальної меристеми корінців *A. сера* (рис. 1).

У клітинах апікальної меристеми корінців цибулі за дії ЛПС *P.syringae*



**Рис. 1.** Мітотична активність клітин апікальної меристеми корінців цибулі ріпчастої сорту Халцедон за дії ЛПС *P.syringae* pv. *atrofaciens*.



**Рис. 2.** Клітини апікальної меристеми корінців цибулі, у яких виявили пошкодження хромосом за дії ЛПС *P.syringae* pv. *atrofaciens* 9780: А – міст, Б – фрагмент хромосоми, В – відстаюча хромосома.

pv. *atrofaciens* відмічали наявність клітин з такими типами пошкоджень хромосомного апарату як фрагменти хромосом, мости і іноді втрату хромосом (рис. 2).

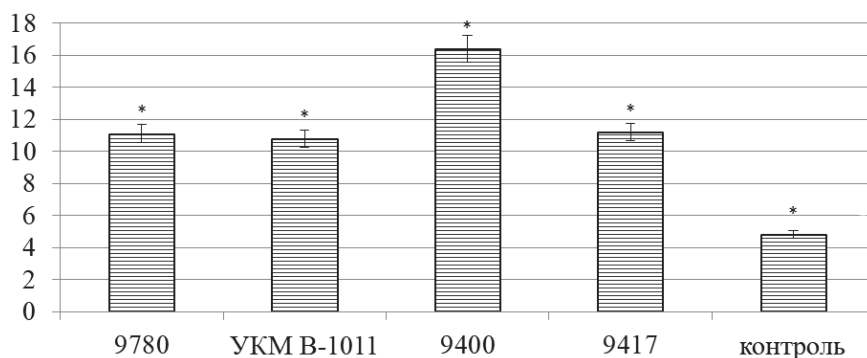
Аналіз мутагенного впливу ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 здійснювали за вирощування проростків цибулі у розчинах ЛПС концентрацією 5,0 мг/мл.

Встановлено, що за дії ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 ЧААТ становила  $11,1 \pm 0,6$  %, за дії ЛПС

*P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011  $10,8 \pm 0,5$  % (рис. 3). У контролі цей показник становив  $4,8 \pm 0,2$  %. Отже, нами встановлено, що ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 спричинюють збільшення кількості хромосомних аберацій в *A. sepa*-тесті.

Слід зауважити, що раніше проаналізовані нами ЛПС збудника базального бактеріозу пшениці [10, 11] у концентрації 5,0 мг/мл спричинювали підвищення ЧААТ у даному тесті. Таким чином, ЛПС фітопатогенних

ЧААТ, %



**Рис. 3.** Кількість клітин із пошкодженнями хромосомного апарату в апікальній меристемі за цибулі ріпчастої сорту Халцедон за дії ЛПС *P.syringae* pv. *atrofaciens*: \* – наявність статистично значущих відмінностей від контрольних показників ( $p < 0,05$ )

бактерій *P. syringae* pv. *atrofaciens* проявляють мутагенну активність в *A. сера*-тесті у концентрації 5,0 мг/мл незалежно від вірулентних властивостей і серологічної приналежності штамів, із яких було виділено ЛПС. Подальші дослідження мають бути сконцентровані на встановленні механізму мутагенної активності ЛПС *P. syringae* pv. *atrofaciens* та виявленні мутагенної активності у представників інших патогенів цього виду бактерій.

### Висновки та перспективи.

Ліпополісахариди фітопатогенних бактерій патогену *P. syringae* pv. *atrofaciens*, які були ізольовані із агрофітоценозу пшениці, у концентраціях 10,0 і 5,0 мг/мл характеризуються цитотоксичною активністю стосовно клітин *A. сера* зменшуючи мітотичний індекс в середньому на 60 – 40%. Встановлено, що ЛПС всіх досліджених штамів збудника базального бактеріозу пшениці виявляють генотоксичну дію в *A. сера*-тесті. За дії ЛПС у концентрації 5,0 мг/мл в середньому у два рази збільшується частота хромосомних аберацій, серед аберацій спричинених дією ЛПС на клітини *A. сера* відмічено відстаючі хромосоми, фрагменти хромосом та мости. Деструктивна активність ЛПС у *A. сера*-тесті не залежала від вірулентних властивостей і серологічної приналежності штамів, із яких було виділено ЛПС. Подальші дослідження мають бути зфокусовані на встановленні механізмів впливу ЛПС на хромосомний апарат рослинних клітин..

### References

1. Parsonnet, J. (1995) Bacterial infection as a cause of cancer. *Environmental Health Perspectives*, 103(8), 263–268.
2. Masrou-Roudsari, J. & Ebrahimpour, S. (2017) Casual role of infectious agents in cancer: An overview. *Caspian J. Intern. Med*, 8(3), 153–158.
3. Kovalchuk, O., Walz P. & Kovalchuk, I. (2014) Does bacterial infection cause genome instability and cancer in the host cell? *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 761, 1–14.
4. Koturbash, I., Thomas, J.E., Kovalchuk, O. & Kovalchuk, I. (2009) Heat-killed bacteria induce genome instability in mouse small intestine, liver and spleen tissues. *Cell Cycle*, 8(12), 1935–1939.
5. Luderitz, O., Freudenberg, M.A., Galanos, C. & Lehmann, V. (1982) Lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria. *Current Topics in Membrane Transport*, 17, 79–134.
6. Yamada, H., Arai, T., Endo, N., Yamashita K., Fukuda, K. & Sasada, M. (2006) LPS-induced ROS generation and changes in glutathione level and their relation to the maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Life Sciences*, 78, 926–933.
7. Abd-Allah, A.R.A. (2006) Alpha-lipoic acid counteracts the promoted oxidative DNA damage in the liver of septic rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 14(2), 89–99.
8. Suliman, H.B., Carraway, M.S. & Piantadosi, C.A. (2003) Postlipopolysaccharide Oxidative Damage of Mitochondrial DNA. *American J Respiratory and Critical Care Medicine*, 167, 570–579.
9. Sewerynek, E., Ortiz, G.G., Reiter, R.J., Pablos, M.I., Melchiorri, D. & Daniels, W.M. (1996) Lipopolysaccharide-induced DNA damage is greatly reduced in rats treated with the pineal hormone melatonin. *Mol Cell Endocrinol*, 117(2), 183–188.
10. Bohdan, Yu. M., Butsenko, L. M., Pasichnyk, L. A. & Hvozdiak R. I. (2008). Antymutagenic activity of the *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* 9400 [The antimutagenic activity of the *Pseudomonas syringae* pv. *lipopolysaccharide. atrofaciens*].

- faciens 9400] Антимутагенна активність ліпополіцукриду *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* 9400. *Naukovyi visnyk UzhU* [Scientific Herald Uzh]. 24, 110–113.
11. Bohdan, Yu. M., Butsenko, L. M., Pasichnyk, L. A. & Hvozdiak R. I. (2010). Vplyv lipopolisakharydu *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* 9417 na protsesy mutahenezu v pro- ta eukariotnii systemakh [Effect of lipopolysaccharide *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* 9417 on mutagenesis processes in pro- and eukaryotic systems] *Biopolimery i klityna* [Biopolymers and Cell]. 26(1), 23–28.
  12. Patyka, V. P. (Ed) (2017) Fitopatohenni bakterii. Metody doslidzhennia. [Phytopathogenic bacteria. Research methods] Vinnytsia: TOV Vindruk, 432 p.
  13. Rank, J. (2003) The method of *Allium* anaphase–telophase chromosome aberration assay. *Ekologija*. Vilnius, 1, 38–42.
  14. Zdorovenko, G.M., Yakovleva, L.M., Gvozdyak, R.I., Zakharova, I.Ya. & Koshechkina, L.P. (1982) Vydelenie, khimicheskii sostav i serologicheskaya kharakteristika polisakharida *Pseudomonas wieringae* [The selection, chemical composition and serological characteristics of the polysaccharide *Pseudomonas wieringae*]. *Mikrobiologichnyi zhurnal* [Microbiological journal], 44(4), 65–70.
  15. Shylina, Yu.V., Hushcha, M.I., Molozhava, O.S. & Shevchenko, Yu.I. (2017) Imunomoduliuvalni vlastyvoli bakterialnykh lipopolisakharydiv u roslyn *Arabidopsis thaliana* ta yikh modyfikatsiia [Immunomodulatory properties of bacterial lipopolysaccharides in *Arabidopsis thaliana* plants and their modification] *Fiziologiya rasteniy i genetika* [Plant physiology and genetics], 49(2), 121–128.
  16. Dow, M., Newman, M.A. & von Roepenack E. (2000). The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. *Annual Review of Phytopathol*, 38, 241–261.
  17. Zdorovenko, G.M., Zdorovenko, E.L. & Varbanets, L.D. (2007) Osobennosti sostava, stroeniya i biologicheskie svoystva lipopolisakharydiv iz razlichnykh shtamov *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* [Features of the composition, structure and biological properties of lipopolysaccharides from different strains of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*] *Mikrobiologiya* [Microbiology], 76(6), 774–789.
  18. Butsenko, L. M. (2016). Vplyv lipopolisakharydiv *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* na fiziolohe-biokhimichni protsesy u klitynakh *Allium cepa* [Effect of lipopolysaccharides of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* on the physiological and biochemical processes in *Allium cepa* cells] *Mikrobiologichnyi zhurnal* [Microbiological journal], 78 (5), 65–74.

---

**L.M. Butsenko, L.A. Pasichnyk, Y.V. Kolomiets (2019). GENOTOXIC EFFECT OF PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. ATROFACIENS LIPOPOLYSACCHARIDE IN ALLIUM CEPA-TEST . BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 44-53.**  
<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13079>

**Annotation.** The genotoxic activity of microorganisms and their biopolymers is closely monitored due to the correlation between microorganism instability of macroorganisms and carcinogenesis. Information about the mutagenic activity of phytopathogenic bacteria and their biopolymers is extremely limited, which makes the study of the genotoxic action of lipopolysaccharides of the widespread species *P. syringae* pv. *atrofaciens* urgent task. Determination of genotoxic activity of lipopolysaccharides obtained by extraction with sodium chloride solution of the causative agent of basal bacteriosis of wheat *P. syringae* pv. *atrofaciens* were performed in *Allium cepa*-test. It has

been established that lipopolysaccharides of phytopathogenic bacteria of the species *P. syringae* pv. *atrophaciens* suppress mitotic activity in the cells of the *A. cepa* apical meristem and, at a dose of 5.0 mg / ml, exhibit a destructive effect on the genetic apparatus of the test object.

**Keywords:** phytopathogenic bacteria, lipopolysaccharide, mutagenic activity, mitotic index

---

---

**Л. Н. Буценко, Л.А. Пасичник, Ю.В. Коломиец (2019). ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. ATROFACIENS В ALLIUM СЕРА-ТЕСТЕ** BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 44-53. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13079>

**Аннотация.** Генотоксическая активность микроорганизмов и их биополимеров является объектом пристального внимания в связи с корреляцией между нестабильностью геномов макроорганизмов, вызванной микроорганизмами, и канцерогенезом. Информация о мутагенной активности фитопатогенных бактерий и их биополимеров крайне ограничена, что делает исследование генотоксического действия липополисахаридов широко распространенного вида *P. syringae* pv. *atrophaciens* актуальной задачей. Определение генотоксической активности полученных экстрагированием раствором хлорида натрия липополисахаридов возбудителя базального бактериоза пшеницы *P. syringae* pv. *atrophaciens* осуществляли в *Allium cepa*-тесте. Установлено, что липополисахариды фитопатогенных бактерий вида *P. syringae* pv. *atrophaciens* подавляют митотическую активность в клетках апикальной меристемы *A. cepa* и в дозе 5.0 мг/мл проявляют деструктивное влияние на генетический аппарат тест-объекта.

**Ключевые слова:** фитопатогенные бактерии, липополисахарид, мутагенная активность, митотический индекс

---

## ЕКОЛОГІЗАЦІЯ КОНТРОЛЮ ЧИСЕЛЬНОСТІ ПОПЕЛИЦІ КАПУСТЯНОЇ (*BREVICORINE BRASSICAE* L.) ЗА ВИКОРИСТАННЯ ШТАМІВ *BACILLUS THURINGIENSIS* В АГРОЦЕНОЗАХ

**М. М. ЛІСОВИЙ**, доктор сільськогосподарських наук, професор;  
**В. М. ЧАЙКА**, доктор сільськогосподарських наук, професор  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
E-mail: [lisova106@ukr.net](mailto:lisova106@ukr.net)

**Анотація.** Розглянуто екологічно безпечні методи контролю чисельності попелиці капустианої (*Brevicorine brassicae* L.) і перспективність пошуку нових штамів *Bacillus thuringiensis*.

У природних умовах визначено новий штам *Bacillus thuringiensis* 0376, який проявляв інсектицидні властивості. Показано, що ефективність даного штаму проти личинок колорадського жука (L1-L2) в лабораторних умовах становила 100 %.

Встановлено, що обробка ентомопатогенними штамами *B. thuringiensis* 994 (еталонний штам) і 0376 (новий штам) рослин капусти зменшує заселеність попелицею капустианою на 10-26 і 30-34 % і підвищує врожайність капусти відповідно на 118 і 90 % у порівнянні з контролем (обробка водою).

**Ключові слова:** капуста, попелиця капустианої, *Bacillus thuringiensis*, штам, чисельність, ефективність

### Актуальність.

Враховуючи дедалі більшу потребу у безпечних харчових продуктах за передкризового екологічного стану агросфери України, біологічний метод регулювання динаміки чисельності фітофагів повинен бути прі-

оритетним напрямом захисту сільськогосподарських рослин, що буде сприяти розв'язанню проблеми підвищення продуктивності агроценозів за умов збереження екологічної стабільності довкілля і біорізноманіття.

На сьогодні надто важливим є отримання екологічно безпечної

продукції, особливо в овочівництві, оскільки овочі є невіддільною складовою харчових продуктів людини й, зокрема, дитячого і дієтичного харчування. Одне з головних місць у структурі посівних площ овочевих культур в Україні займає капуста [1], яка, завдяки своїм цінним харчовим властивостям, часто використовується в їжу у свіжому вигляді. Ця культура має широкий спектр фітофагів, що обумовлює інтенсивне використання не тільки агротехнічних методів, але й хімічних засобів захисту рослин. Наприклад, попелиця капустяна (*Brevicorine brassicae* L.) за літо може дати до 16 поколінь. Шкода, що наноситься попелицею, виражається у виснаженні рослин і їх загибелі на ранніх стадіях розвитку. Листя пошкоджених рослин знебарвлюється і скручується, припиняється розвиток качана [2]. Для контролю чисельності цього фітофага пропонуються агротехнічні заходи та застосування хімічних засобів захисту – Золон 350 к.е. (д.р. фузалон – 350 г/л), Децис Профі 25WG, в.г. (д.р. дельтаметрин, 250 г/кг), Актара 25WG, в.г. (д.р. тіаметоксам, 250 г/кг) та ін.

Втрат урожаю капусти можна уникнути, використовуючи систему захисних заходів. Проте захист рослин від фітофагів останнім часом в Україні втратив комплексність і планомірність і переважно зводиться до застосування хімічних пестицидів, які впливають не тільки на об'єкт регуляції чисельності, але і на біорізноманіття корисних видів комах. Пестициди, маючи високу токсичність, швидко знижують чисельність і водночас збіднюють видовий склад ентомофауни, є чинником штучного відбору резистентних рас у популяціях фітофагів і створюють небезпеку

довготривалої негативної дії на живу природу [3-7].

На сьогодні відома велика група біологічних агентів, які здатні істотно впливати на динаміку чисельності різних видів комах, в тому числі й на попелицю капустяну [8,9]. Оскільки основними компонентами мікрофлори травного тракту комах є бактерії, великий інтерес для мікробіологічного контролю мають патогенні бактерії, що проникають до організму хазяїна і викликають патологічні зміни та його загибель [10]. Личинки попелиці капустяної дуже сприйнятливі до бактерій групи *Bacillus thuringiensis* var. *kenyae* і *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* [11]. Бактерії *Bacillus thuringiensis* мають яскраво виражену екологічну пріоритетність, оскільки дія *B. thuringiensis* на комах-фітофагів складається не тільки з летального й антифідантного ефектів, що проявляються на організмовому рівні, а також метатоксичного та епізоотичного ефектів на популяційному рівні [12, 13]. Водночас доведено відсутність негативного впливу спор, кристалічних комплексів та інших продуктів метаболізму штамів *B. thuringiensis* на хребетних (риб, птицю, ссавців, людину) [14].

Застосування мікробіологічних препаратів на основі ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis* не отримало широкого розповсюдження у контролі чисельності попелиці капустяної унаслідок як невисокої ефективності досліджених препаратів (33-55 %), так, можливо, і через відсутність едативних штамів саме до цього фітофага [15].

На жаль, в сучасних умовах, за зростаючої потреби в біологічних засобах захисту рослин від фітофагів, в Україні можливості мікробіологіч-

ного методу не реалізовані. У „Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні” [6], відсутні препарати на основі *B. thuringiensis*, їх промисловий випуск не здійснюється. Біологічні препарати застосовують на 5,3 % всіх площ, де здійснюються заходи захисту проти фітофагів. Для порівняння, в Росії біологічний захист упродовження приблизно на 15 % площі всіх сільськогосподарських угідь, а в цілому у світі цей показник складає 10 % [5].

Таким чином, в сучасних умовах найбільш екологічно виправданим і перспективним методом контролю чисельності *Brevicoryne brassicae* L. та ін. є біологічний.

**Мета досліджень** – вивчити нові ефективні штами *B. thuringiensis* і розробити на їх основі мікробні препарати для захисту рослин від фітофагів.

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

Дослідження проводили в господарстві “Бехтери”, (с. Бехтери Голлопристанського району Херсонської області) впродовж 2014 – 2017 рр.). Об’єктом досліджень були штами *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*: 0293 – аналог штаму основи біопрепарату Лепідоцид, *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 – аналог штаму основи біопрепарату Бітоксипацилін, новий штам *B. thuringiensis* 0376, личинки жука колорадського (*Leptinotarsa decemlineata* Say), рослини картоплі, рослини капусти білокачанної (*Brassica oleracea* L. var. *capitata spherica alba*) сорту Дітмаршер фрюер. Вивчення морфологічних ознак штаму та ідентифікацію проводили згідно з методикою Бурцева Л.І. [16].

Рослини капусти оброблялися одноразово за вегетації робочими розчинами штамів з титром 400 млн спор/мл. Контрольний варіант обробляли водою.

Збір і зберігання хворих і мертвих комах проводили за загальноприйнятою методикою Лескова А.Я. зі співавт. [17].

Первинне визначення патогенності нового штаму *B. thuringiensis* 0376 досліджували в лабораторних дослідах на личинках жука колорадського молодшого віку. Гілочки картоплі обробляли методом обприскування суспензією з титром спор  $2 \times 10^8$  в 1 мл. Об’єм витраченої суспензії складав 5 мл на повторення. Ефективність визначали протягом 10 діб.

Облік заселеності рослин популяцією капустяною проводили перед обробкою, а також після обробки на 3, 5, 10, 15 і 20 добу за методиками Лебедева С.Н. та Доспехова Б.А., [15, 18]. Польовий дослід проводили на чорноземі південному у восьми повтореннях, по 16 облікових рослин у кожному, площа одного повторення – 3,35 м<sup>2</sup>.

Проведення лабораторних дослідів в садках, облік одержаних результатів проводили за методиками [5].

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Із загинувших імаго і личинок картопляної молі, зібраних в агроценозах картоплі півдня України було виділено 24 штами мікроорганізмів, серед яких один за первинними ознаками спороутворення був віднесений до бактерій групи *B. thuringiensis* та зареєстрований за номером 0376.

Результати первинного визначення патогенності нового штаму *B. thuringiensis* 0376 наведено в таблиці 1. Встановлено, що загибель личинок

### 1. Ефективність штаму *B. thuringiensis* 0376 проти личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say (лабораторний дослід, L1-2 )

| Варіант досліджу                     | Загибель личинок на добу, % |            |            |            |
|--------------------------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|
|                                      | 3                           | 5          | 7          | 10         |
| Контроль (вода)                      | 0,0                         | 0,0        | 2,3 ± 0,1  | 2,3 ± 0,1  |
| <i>B. thuringiensis</i> 994 (еталон) | 10,7 ± 0,3                  | 69,7 ± 0,1 | 91,7 ± 0,1 | 98,3 ± 0,3 |
| <i>B. thuringiensis</i> 0376         | 20,0 ± 0,3                  | 76,7 ± 0,7 | 95,0 ± 1,0 | 100        |

колорадського жука складала 100 % на 10 добу дослід у порівнянні з етальонним штамом *B. thuringiensis* 994 (98 %) та контролю (2 %).

Первинний рівень заселення рослин капусти фітофагом *Brevicorine brassicae* L. перед обробкою складав 1,7-1,9 бала (до 25 % листової поверхні рослин було заселено фітофагом).

Вірогідної різниці за варіантами дослід у спостерігалось (табл. 2). На третю добу заселеність рослин капусти в контролі досягала 2,6 бала, тоді як у варіантах з обробкою ентомопатогенними штамами складала від 1,9 до 2,3 бала. На п'яту добу після обробки заселеність рослин у контрольному варіанті продовжувала зростати до 3,1 бала, у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 0293 складала 2,8 бала і була достовірно нижче у варіантах зі штамами *B. thuringiensis* 994 і 0376 – відповідно 2,5 і 2,2 бала. На десятю і п'ятнадцяту добу після обробки не спостерігалось достовірної різниці у дії штамів *B. thuringiensis* 994 і 0376, проте, заселеність рослин в цих варіантах була вірогідно нижчою, ніж в контролі, а у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 0293 заселеність фітофагом знаходилася на рівні контрольного варіанту і складала 2,6 бала. На двадцяту добу заселеність рослин капустиною попелицею складала 2,1-2,5 бала, вірогідної різниці між варіантами дослід у спостерігалось.

Підвищення заселеності рослин капусти фітофагом на двадцяту добу проведення дослід до рівня третьої доби після обробки – 2,1-2,5 бала та максимальне підвищення чисельності фітофага в контролі на п'яту-десяту добу свідчить про необхідність вивчення строків проведення повторних обробок.

Аналіз динаміки заселеності рослин капусти капустиною попелицею показує, що в контрольному варіанті цей показник був максимальним на п'яту добу – 164 % в порівнянні з початком дослід (див. рис.). Максимальна заселеність фітофагом в контролі знижувалася на п'ятнадцяту добу після обробки (130 %) в порівнянні з початком дослід, а на двадцяту добу знову відбувалося зростання до 137 %. Ймовірно, що динаміка заселеності рослин капустиною попелицею в контролі показує популяційні ритми розвитку фітофага.

Хід заселеності рослин фітофагом у всіх варіантах був подібним, водночас відмічено зменшення меж зростання заселеності у варіантах із застосуванням ентомопатогенних штамів. Так, на третю добу після обробки у варіанті з *B. thuringiensis* 994 заселеність складала 121 % в порівнянні з початком дослід, у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 0376 – 96 %, що вірогідно нижче, ніж в контролі.

## 2. Вплив штамів *Bacillus thuringiensis* на заселеність рослин капусти білокачанної сорту Дітмаршер фрюер капустиною попелицею (польовий дослід)

| Варіант досліджу                  | Заселеність рослин попелицею за днями обліку, бали |               |       |        |        |        |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------|---------------|-------|--------|--------|--------|
|                                   | До обробки                                         | Після обробки |       |        |        |        |
|                                   |                                                    | 3 доби        | 5 діб | 10 діб | 15 діб | 20 діб |
| Контроль (вода)                   | 1,93                                               | 2,64          | 3,09  | 2,87   | 2,43   | 2,50   |
| штам <i>B. thuringiensis</i> 0293 | 1,87                                               | 2,33          | 2,79  | 2,61   | 2,45   | 2,49   |
| штам <i>B. thuringiensis</i> 994  | 1,72                                               | 2,06          | 2,50  | 1,90   | 1,99   | 2,11   |
| штам <i>B. thuringiensis</i> 0376 | 1,92                                               | 1,85          | 2,19  | 1,90   | 1,98   | 2,32   |
| НІР <sub>05</sub>                 | 0,26                                               | 0,30          | 0,39  | 0,36   | 0,37   | 0,46   |

На п'яту-десяту добу після обробки у варіанті зі штамом *B. thuringiensis* 994 заселеність рослин складала 147 і 113 % в порівнянні з початком дослідження, у варіанті з *B. thuringiensis* 0376 – відповідно 114 і 99 %. На п'ятнадцяту добу у варіанті зі штамми *B. thuringiensis* 994 і 0376 заселеність в порівнянні з початком дослідження складала відповідно 118 і 103 %.

Таким чином, найбільш ефективними були штами *B. thuringiensis*

994 і 0376. Відмічено вірогідну відмінність в дії цих штамів на фітофага: найбільша активність штаму *B. thuringiensis* 994 спостерігалася на десяту-п'ятнадцяту добу, штаму *B. thuringiensis* 0376 – із третьої доби після обробки. У нашому досліді не виявлено вірогідного впливу штаму *B. thuringiensis* 0293 на заселеність рослин капусти капустиною попелицею.

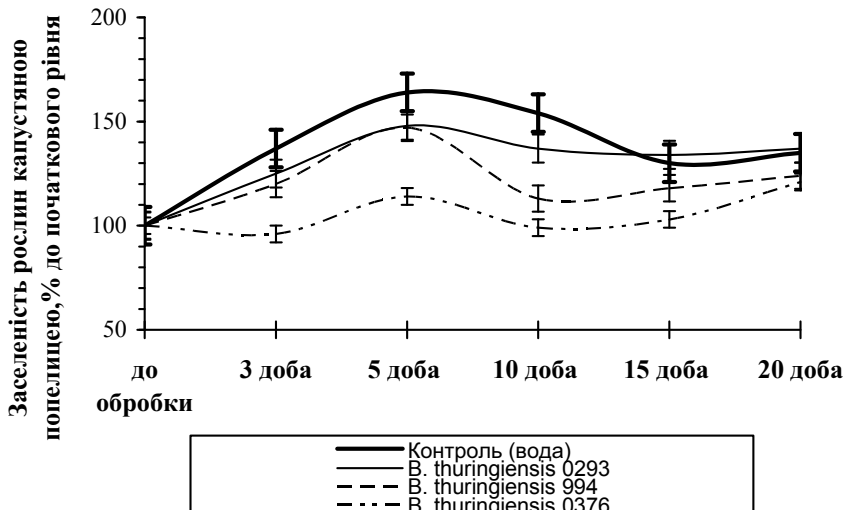


Рис. Динаміка заселеності рослин білокачанної капусти сорту Дітмаршер фрюер капустиною попелицею (*Brevicoryne brassicae* L.) за обробки штамами *B. thuringiensis* (польовий дослід).

### 3. Вплив обробки ентомопатогенними штамми на врожайність рослин капусти сорту Дітмаршер фрюер, (польовий дослід)

| Варіант досліджу                  | Врожайність   |               |
|-----------------------------------|---------------|---------------|
|                                   | середня, ц/га | % до контролю |
| Контроль (вода)                   | 65,67         | 100           |
| штам <i>B. thuringiensis</i> 0293 | 78,36         | 119,3         |
| штам <i>B. thuringiensis</i> 994  | 142,91        | 217,6         |
| штам <i>B. thuringiensis</i> 0376 | 125,00        | 190,3         |
| НІР <sub>05</sub>                 | 38,7          | 37,58         |

Інтегральним показником застосування ентомопатогенних мікроорганізмів для біологічного контролю фітофагів є врожайність культури. Так, в контрольному варіанті, де заселеність рослин капустяною попелицею досягала 3,1 бала (близько 50 % поверхні листя), врожайність була дуже низькою – 65,7 ц/га. У варіанті з використанням штаму *B. thuringiensis* 0293 врожайність мала тенденцію до підвищення – 19 % (12 ц/га). У варіантах з обробкою робочими розчинами рідких спорових культур штамів *B. thuringiensis* 994 і 0376, де заселеність фітофагом знаходилася на рівні 2 балів (до 25 % заселеності листя), врожайність капусти достовірно підвищувалася відповідно на 117,6 % (77 ц/га) і 90,3 % (59 ц/га) у порівнянні з контролем (табл. 3).

Таким чином, заселеність капусти капустяною попелицею призводить до значної втрати урожаю, а зниження заселеності з 50 % до 25 % дозволяє вдвічі підвищити врожайність культури.

Нам не вдалося за допомогою вищезгаданих штамів знизити заселеність рослин капустяною попелицею до 0-1 бала, тому вважаємо за необхідне продовжити пошук ефективних штамів і оптимізації технології їх застосування.

### Висновки

1. Загибель личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say ( $L_{1-2}$ ) в лабораторії у разі оброблення новим штамом *B. thuringiensis* 0376 становила 20,0 % на третю добу, а на 10 добу – 100 %, у той час як в контролі (обробка водою) ці показники становили відповідно 0,0–2,3 %.

2. Відмічено, що після обробки ентомоцидна дія штаму *B. thuringiensis* 0376 на попелицю капустяну проявилася на 7 діб раніше, ніж у штаму *B. thuringiensis* 994.

3. Встановлено, що використання штамів *B. thuringiensis* 994 і 0376 проти попелиці капустяної вірогідно підвищувало врожайність капусти на 118 % (77 ц/га) і 90 % (59 ц/га) у порівнянні з контролем.

4. Необхідні подальші дослідження з оптимізації технології застосування ентомопатогенних штамів *B. thuringiensis* проти попелиці капустяної за вирощування капусти.

### References

1. Khareba V.V. Vplyv strokiv i sposobiv pikirovannya na nasinnyevu produktyvnist' ta yakist' nasinnya kapusty biloholovoyi // Visnyk ahrarnoyi nauky. [Khareba V.V. Influence of terms and methods of dictation

- on seed productivity and quality of seeds of cabbage of a whitehead // Bulletin of agrarian science.] - 2002. – №3 - S. 31-32. [in Ukrainian].
2. Slavgorodskaya-Kurpiyeva L.Ye. Zashchita sel'skokhozyaystvennykh kul'tur ot vreditel'ey i bolezney [Slavgorod-Kurpiev L.E. Protection of crops from pests and diseases] Slavgorodskaya-Kurpiyeva L.Ye., Slavgorodskiy V.Ye., Alpeyev A.Ye. - Donetsk: izdatel'stvo «Donechchina», 2003. – 480 s. [in Russian].
  3. Zashchita rasteniy ot vreditel'ey/ I.V. Gorbachev, V.V. Grishchenko, YU.A. Zakhvatkin i dr.; Pod red. prof. V.V.Isaicheva. [Plant protection from pests / I.V. Gorbachev, V.V. Grishchenko, Yu.A. Zakhvatkin et al.; Ed. prof. V.V. Isaicheva.] M.: Kolos, 2002. - 472s. [in Russian].
  4. Fedorov L.A. Pestitsidy - toksicheskiy udar po biosfere i cheloveku / Fedorov L.A., Yablokov A.V. - M.: Nauka [Fedorov L.A. Pesticides - toxic impact on the biosphere and man / Fedorov L.A, Yablokov A.V-M.: Science] 1999. - 462 p. [in Russian].
  5. Dovidnyk iz zakhystu roslyn. / [L.I.Bublyk, H.I.Vasechko, V.P.Vasyl'yev ta in.] ; pid red. M.P. Lisovoho. - K.:Urozhay [Plant protection guide. / [L.I.Bublik, G.I.Vasechko, V.P. Vasiliev and others]; ed. MP Forestry - K.: Harvest] 1999. - 744 pp. [in Ukrainian].
  6. Dovidnyk iz pestytsydiv / [ M.P. Sekun, V.M. Zharebko, O.M. Lapa ta in. ]. - K.: Kolobih [Handbook on pesticides / [MP Secun, V.M. Zharebko, O.M. Lap and others. ] - K.: Kolobig] 2007. - 360 p. [in Ukrainian].
  7. Ahroekolohichna otsinka mineral'nykh dobryta pestytsydiv: Monohrafiya / [Patyka V.P., Makarenko N.A. Moklyachuk L.I. ta in.]: za red. V.P.Patyky. – K.: Osnova [Agroecological assessment of mineral fertilizers and pesticides: Monograph / [Patty V.P., Makarenko N.A. Moklyachuk L.I. et al.]: ed. VPPatika - K.: Basis] 2005. - 300 p. [in Ukrainian].
  8. Zeddarn, J.-L., Vasquez Soberon, R.M., Vargas Ramos, Z., Lagnaoui, A., 2003. Producciyn viral y tasas de aplicaciyn del granulovirus usado para el control biolgyico de las polillas de la papa Phthorimaea operculella y Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae). Bol. Sanidad Vegetal Plagas. 29, 659–667. [in English].
  9. Das, G.P., Magallona, E.D., Raman, K.V., Adalla, C.B., 1992. EVects of diVerent components of IPM in the management of the potato tuber moth, in storage. Agr. Ecosyst. Environ. 41, 321–325. [in English].
  10. Patyka V.F. Ekologiya Bacillus thuringiensis / V.F.Patyka, T.I. Patyka – K.: Izd-vo PDAA. [Patyka V.F. Ecology of Bacillus thuringiensis / VF Patyka, T.I. Patyka - K.: Publishing House PDAA.] - 2007. - 216s. [in Russian].
  11. Misra H. S., Khairnar N. P., Mathur M., Vijayalakshmi N., Hire R. S., Dongre T. K. and Mahajan S. K. 2002 Cloning and characterization of an insecticidal crystal protein gene from Bacillus thuringiensis subspecies kenyae. Journal of Genetics, Vol. 81, No. 1, April 2002 , P. 5–11. [in English].
  12. Kandybin N.V. Bakterial'nyye sredstva bor'by s gryzunami i vrednymi nasekomyimi: teoriya i praktika / N.V. Kandybin - M.: Agropromizdat [Kandybin N.V. Bacterial means of rodent and pest control: theory and practice / N.V. Kandybin - M.: Agropromizdat] 1989. - 172 p. [in Russian].
  13. B.A.Federici. Bacillus thuringiensis in Biological Control / B.A.Federici // Handbook of Biological Control. Principles and Applications of Biological Control. – 1999., P. 575-593. [in English].
  14. Environmental Health Criteria 217 Microbial Pest Control Agent BACILLUS THURINGIENSIS Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization, and produced within the framework of the Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. World Health Organization Geneva, 1999.- 109 P. [in English].

15. Lebedev S.N. Primeneniye mikrobiologicheskikh preparatov v bor'be s grozvoy listovetkoy v usloviyakh predgornogo Kryma. Nauchnyye trudy uchenykh Krymskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. Vypusk 75 [Lebedev S.N. The use of microbiological preparations in the fight with a moth leafworm in the conditions of the piedmont Crimea. Scientific works of scientists of the Crimean State Agrarian University. Issue 75.] - Simferopol, 2002 - p. 43 - 46. [ in Russian].
16. Burtseva L. I. Metody vydeleniya i biotestirovaniya entomopatogennykh bakteriy. //Patogenny nasekomykh: strukturnyye i funktsional'nyye aspekty /Pod red. V.V. Glupova. M.: Kruglyy god [Burtseva L. I. Methods for the isolation and biotesting of entomopathogenic bacteria. // Insect pathogens: structural and functional aspects / Ed. V.V. Foolov. M. : All year] 2001. 736 p. [ in Russian].
17. Leskova A.Ya., Rybina L.M., Stroyeva I.A. Identifikatsiya kul'tur Bacillus thuringiensis i otsenka ikh patogennykh svoystv. (Metodicheskiye ukazaniya). L.: Izd. Vsesoyuz.NII Zashchity rasteniy. [Leskova A.Ya., Rybina L.M., Stroyeva I.A. Identification of Bacillus thuringiensis cultures and assessment of their pathogenic properties. (Methodical instructions). L. : Izd. Vsesoyuz.NII Institute of Plant Protection.] - 1984. - 21s. [ in Russian].
18. Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy ). 5-ye izd. M.: Agropromizdat. [Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results). 5th ed. M. : Agropromizdat.] - 1985. - 352 s. [ in Russian].

---

**M. Lisovyy, V. Chayka (2019). ECOLOGIZATION OF BREVICORINE BRASSICAE L. QUANTITY CONTROL DURING THE USE OF BACILLUS THURINGIENSIS AGENTS IN AGROCOENOSIS. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 54-62.**  
<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13080>

**Abstract.** Eco-friendly methods for control of cabbage aphid (*Brevicorine brassicae* L.) and promising use of microbial preparations based on strains of *Bacillus thuringiensis* are considered.

In the natural environment, a new strain of *Bacillus thuringiensis* 0376, which showed insecticidal properties, was determined. It was shown that the efficiency of this strain against the larvae of the Colorado potato beetle (L1-L2) in the laboratory was 100%.

It was established that the treatment with entomopathogenic strains *B. thuringiensis* 994 and 0376 of cabbage plants reduces the population by aphids by cabbage by 10-26 and 30-34% and increases the yield of cabbage by 118 and 90%, respectively, compared with the control (treatment with water).

**Key words:** cabbage, cabbage aphid, *Bacillus thuringiensis*, strain, number, efficiency.

---



---

**Н. М. Лесовой, В. Н. Чайка (2019). ЭКОЛОГИЗАЦИЯ КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ ТЛИ КАПУСТНОЙ (BREVICORINE BRASSICAE L.) ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ШТАММОВ BACILLUS THURINGIENSIS В АГРОЦЕНОЗАХ. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 54-62.**  
<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13080>

**Аннотация.** Рассмотрены экологически безопасные методы контроля численности тли капустной (*Brevicorine brassicae* L.) и перспективность применения микробных препаратов на основе штаммов *Bacillus thuringiensis*.

В естественных условиях определен новый штамм *Bacillus thuringiensis* 0376, который проявлял инсектицидные свойства. Показано, что эффективность данного штамма против личинок колорадского жука (L1-L2) в лабораторных условиях составляла 100 %.

Установлено, что обработка энтомопатогенными штаммами *B. thuringiensis* 994 и 0376 растений капусты уменьшает заселенность тлей капустной на 10-26 и 30-34 % и повышает урожайность капусты на 118 и 90 % соответственно по сравнению с контролем (обработка водой).

**Ключевые слова:** капуста, тля капустная, *Bacillus thuringiensis*, штамм, численность, эффективность

---

## INFLUENCE OF ANALCIME ON THE GROWTH OF SEEDLINGS OF NON-TRADITIONAL BERRY CROPS

---

**N.V. SKRYPCHENKO**, PhD in Biology, senior researcher,

**V.F. LEVON**, PhD in Chemistry, senior researcher,

**G.V. SLYUSAR**, lead engineer

Department of Fruit Plants Acclimatization

M. Grishko National Botanical Garden of National Academy of Sciences of Ukraine

E-mail: [actinadiia@gmail.com](mailto:actinadiia@gmail.com)

**Abstract.** *Analcime is a natural mineral of volcanic origin, which in accordance with previous studies has a positive effect on the functional state of living organisms, stimulates the growth and development of plants, increases their productivity and resistance to biotic and abiotic factors. The influence of the analcime on morphological, biometric and biochemical parameters of seedlings of *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill., *Actinidia arguta* Planch., *Lonicera caerulea* L., *Elaeagnus multiflora* Thunb. and *Viburnum opulus* L. when it is adding to the soil. It is shown that the exogenous use of the mineral contributes to the growth and development of the root and aboveground system of plants, increases their resistance to adverse abiotic environmental factors. A significant increase of shoots have *V. opulus* and *E. multiflora* (38% and 76.8% respectively) compared to the control plants. At the same time, the greatest increase in roots was observed among *L. caerulea* plants (47.1%). The greatest effect of analcime on growth of roots was noted in the variant with *V. opulus*, the weight of which was more than 77.6% compared with the control. The addition of mineral into the soil contribute to the increase in the flavonoid content in the leaves of experimental plants and reduce the proline content. The study of the content of flavonoids in the leaves of experimental plants, as one of the indicators of non-specific stress response to drought, has showed that the addition of 50 g/m<sup>2</sup> of analcime to soil lead to the increasing of the total content of flavonoids by 33–45 % in the leaves of all studied objects. The increasing of the dose of analcime in the soil to 100 g/m<sup>2</sup> area almost did not cause a further increasing of the amount of flavonoids in the leaves of the studied objects, but on the contrary, there was a slight recession of this indicator by 2–9 %.*

*While soil application of 100 g for the analcime square meter, the content of proline decreases 1 mmol/g, which indicates a positive anti-stress action of analcime on the seedlings *V. opulus*. At the same time, species specificity and dose dependence of the mineral action on experimental plants were noted.*

*The analysis of the results indicates the perspectivity of using analcime to increase the resistance of berry plants to negative environmental factors and stimulate their growth and development for the cultivation of planting material.*

**Keywords:** *zeolite, analcime, non-traditional berry plants, *S. chinensis*, *A. arguta*, *L. caerulea*, *E. multiflora*, *V. opulus*, stress tolerance, flavonoids, proline*

## Introduction.

In connection with global climate changes, the urgency of the issue of increasing stress resistance of plants, in particular the drought-tolerance of plants, has become the matter of current interest now. Drought, which has been observed more and more recently, is increasingly endangering the harvest of many agricultural and garden crops, impedes their successful reproduction and introduction to agrocenosis. The important problems of gardening include improving of the technology of obtaining high-quality berry plant seedlings by vegetative propagation and the use of biologically active drugs that would increase the adaptive properties of plants and, as a result, the output of standard high quality seedlings.

One of the ways to solve this problem is the use of natural minerals, in particular, zeolites. It is known that silicon is involved in counteracting plant stress caused by excessive amounts of magnesium, aluminum and heavy metals, salinity, water deficit, frost and reduced positive temperatures. A number of mechanisms of counteracting to stress in plants, which, probably, are stimulated with silicon, have been identified: 1) promoting the work of antioxidant systems; 2) formation of complex with ions of toxic metals, as well as co-precipitation due to silicon compounds; 3) immobilization of ions of toxic metals in the external environment of growth; 4) influence on the processes of absorption (and assimilation); 5) compartmentation of metal ions in a plant organism (Liang et al., 2007). Many studies have reported that Si mitigates the effects of abiotic stresses such as salinization and drought (Guntzer, 2012, Zhu & Gong, 2014).

Zeolite are ecologically safe natural meliorants, the use of which contributes

to resource conservation, improvement of soil properties and aeration, increase productivity and systemic stability of cultivated plants. The positive effect of zeolites on the growth and development of plants is associated with increasing of plant resistance to stress factors, more intense absorption of water along with nutrients (Zaimenko, 2016).

Zeolites are especially widespread in areas of young volcanism: in the United States in new Jersey; in India, Russia, Armenia, Bulgaria, Hungary, Iceland, Cuba, Mongolia, New Zealand, Japan and Ukraine (Crimea and the Carpathians).

Analcime  $\text{Na}[\text{AlSi}_2\text{O}_6] \cdot \text{H}_2\text{O}$  is a mixture of minerals (mostly zeolite group), in which the clay component represented by montmorillonite. The analcime contains more than 30 biogenic elements in the form available for plants, including silicon (13–15%). This natural mineral of volcanic origin, which according to many studies has a positive effect on the functional state of living organisms, stimulates the development of root and aboveground mass of plants, improving the mechanical properties of plant tissues, increasing their productivity, ensuring plant resistance to biotic and abiotic factors (Martynenko, 2014, Zaimenko 2016, 2017).

Intruders of the Far East flora – species of the genus *Actinidia* L., *S. chinensis*, *L. caerulea* – are the plants of moist climate. Therefore, creating the optimal conditions for their growth and development in relation to the requirements for external factors is a very important issue. Plant resistance to soil and air drought during the summer period (drought tolerance) is important under the plant introduction in the Forest-steppe of Ukraine. Under conditions of water supply, Kyiv-city refers to a zone of inadequate moistening - during the year there are

500–590 mm precipitation, distributed unevenly, the average relative humidity is 76%. Arid conditions adversely affect on the growth and development of those plants, complicate the process of growing of planting material.

The ***purpose of the study*** - to research the effect of a natural silicon containing mineral analcime on the growth and development of seedlings of fruit crops for growing of planting material under Right Bank Forest-steppe of Ukraine conditions.

### ***Materials and methods.***

Experimental work was carried out in M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine. The object of the study was analcime - natural silicon-containing mineral; one year old seedlings of *S. chinensis*, *A. arguta*, *L. caerulea*, *E. multiflora* та *V. opulus* served as test-plants.

Natural mineral analcim was added into the soil before planting in concentrations of 50 and 100 g/m<sup>2</sup>. Biometric parameters of plants, namely the intensity of growth of roots and shoots of plants, as well as their weight were investigated.

The content of flavonoids was determined by a technique based on their ability to form a colored complex with an alcohol solution of aluminum chloride, which causes a long-wavelength absorption band shift and gives the main absorption maximum at a wavelength of 400 nm. A similar maximum absorption at a wavelength of 400 nm was observed for the complex of the state standard sample luteolin-7-glycoside (cinaroside), used by us in the technique as a standard sample (Андреева, 2000). The stress state of the plants was also analyzed according to the content of proline, which was determined by

the method (Bates *et al.*, 1993). Plant material (0.5 g) was homogenized in 10 ml of 3% aqueous solution of sulfosalicylic acid, homogenate was filtered. After that, 2 ml of filtrate was added to the mixture of ninhydrin and glacial acetic acid and kept in a test tube for 1 hour at 100°C. The reaction mixture was extracted with toluene. The stained solution was investigated by spectrophotometric method at a wavelength of 520 nm, using toluene as a control. The proline concentration was determined by the standard curve and calculated in terms of the mass of the raw material.

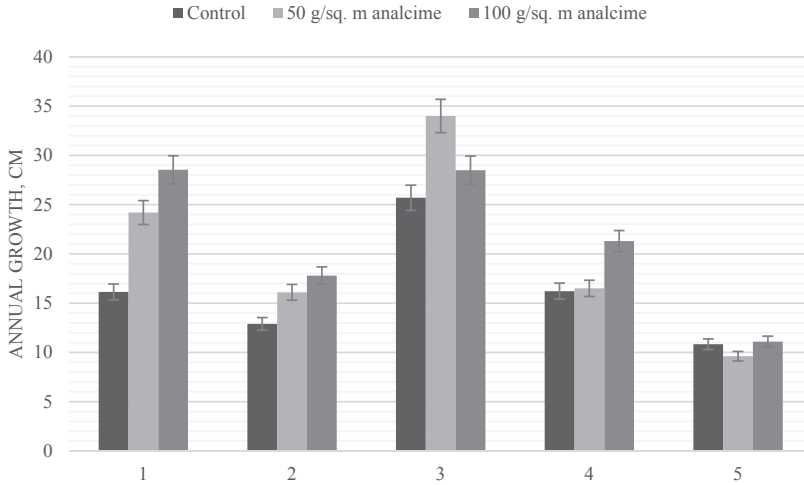
Statistical processing of the research results was performed by methods of descriptive statistics and univariate analysis of variance using Statistica 10.0 and Microsoft Office Excel.

### ***Results and discussion.***

The results of studies have shown that the use of silicon-containing mineral stimulated the growth of one year old shoots and roots of experimental plants. A significant increase of shoots has *V. opulus* and *E. multiflora* (38.0% and 76.8% respectively compared to the control) plants. At the same time, the greatest increase in roots was observed among *L. caerulea* plants (47.1%) (Fig. 1, 2).

The greatest effect of analcime on growth of roots was noted in the variant with *V. opulus*, the weight of which was more than 77.6% compared with the control (Fig. 3).

At the same time, it was noted species-specific and dose-dependent effect of the mineral. So, the highest increase of shoots, length and weight of root system of the *L. caerulea* plants were recorded in the variant with the addition of 100 g/m<sup>2</sup> of the analcime. However, the dose of 50 g/m<sup>2</sup> turned out to be more effective

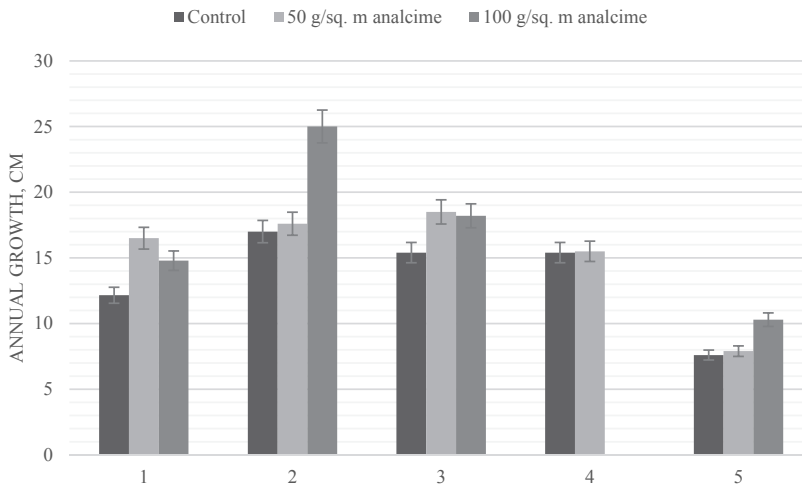


**Fig. 1. The influence of the analcime on growth of shoots of berry crops:**  
1 – *V. opulus*; 2 – *L. caerulea*; 3 – *E. multiflora*; 4 – *A. arguta*; 5 – *S. Chinensis*

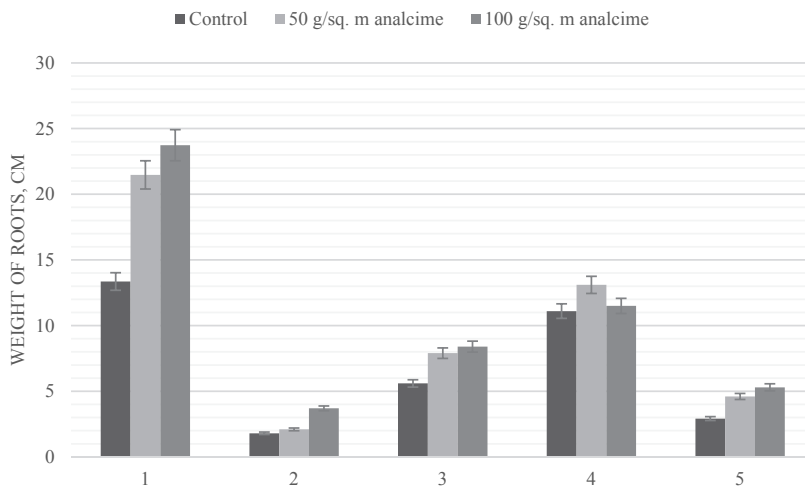
for *E. multiflora*. The addition of 50 g/m<sup>2</sup> of analcime to *A. arguta* have led to a slight increase of the root mass, while a significant increase in the growth of shoots was noted in the variant with the addition of 100 g/m<sup>2</sup> of the mineral. The stimulating action of the analcime in the growth and development of seedlings of

*S. chinensis* was noted in both versions of the investigation.

The positive impact of the analcime was established at cultivation of planting material of *V. opulus* ordinary, especially in drought conditions. There was a significant increase in all biometric parameters of plants and especially the



**Fig. 2. The influence of the analcime in the length of roots:**  
1 – *V. opulus*; 2 – *L. caerulea*; 3 – *E. multiflora*; 4 – *A. arguta*; 5 – *S. chinensis*



**Fig. 3. Weight of roots of berry crops under the adding of analcime:**

1 – *V. opulus*; 2 – *L. caerulea*; 3 – *E. multiflora*; 4 – *A. arguta*; 5 – *S. chinensis*

mass of roots when applied to the soil 50 g/m<sup>2</sup> analcime. The concentration of 100 g/m<sup>2</sup> for this species was the most effective-the mass of roots increased almost 2 times compared to the control, and the length of sprouts - by 45%.

Significant increase of all biometric parameters was observed for *V. opulus* plants, when 50 g/m<sup>2</sup> of analcium was added to soil. The analcium concentration of 100 g/m<sup>2</sup> for this species proved to be most effective: the mass of the roots increased almost twice compared to control, and the length of the shoots - by 45%.

Thus, the use of the analcime in the cultivation of planting material of investigated berry plants may be considered as an important factor in increasing the efficiency of the process.

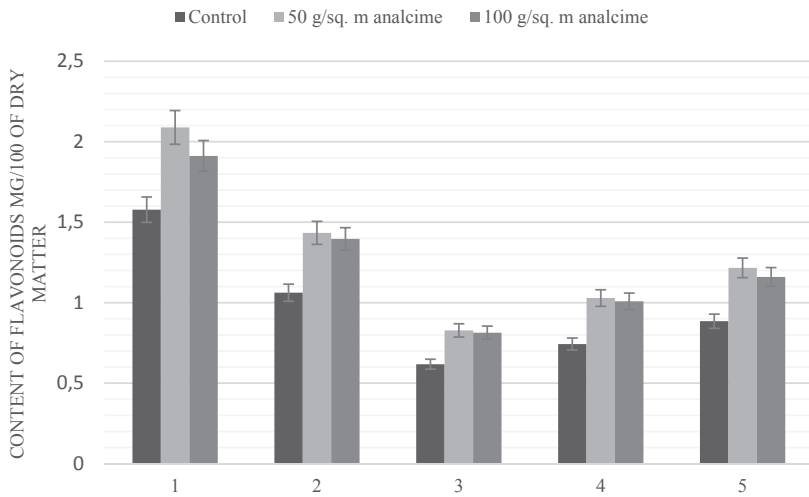
The study of the content of flavonoids in the leaves of experimental plants, as one of the indicators of non-specific stress response to drought, has showed that the addition of 50 g/m<sup>2</sup> of analcime to soil lead to the increasing of the total content of flavonoids by 33–45% in the leaves of all studied objects (Fig. 4). It may be

assumed that this is due to the processes of chemisorption of flavonoids, which are contained in the rhizosphere layer of the soil on the surface of the analcime. Insufficient amount of flavonoids in the root layer of the soil leads to increased biosynthesis in the plant organism.

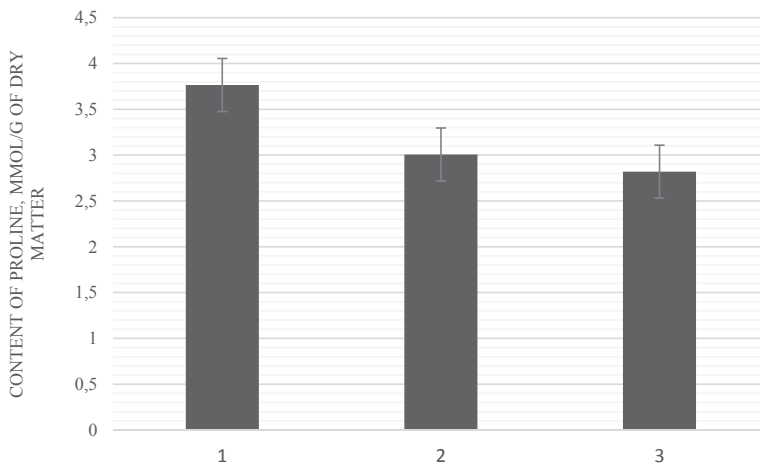
It should be noted that increasing of the dose of analcime in the soil to 100 g/m<sup>2</sup> area almost did not cause a further increasing of the amount of flavonoids in the leaves of the studied objects, but on the contrary, there was a slight recession of this indicator to 9%.

The indicators of non-specific stress reaction on the drought include the synthesis of proteins, in particular, proline. Studies of the leaves of *V. opulus* on the content of proline (Fig. 5) showed that adding of the analcime to the soil in an amount of 50 g/m<sup>2</sup>, a decrease of its content in comparison with control.

Under adding of 100 g analcime for the square meter, the content of proline decreases 1 mmol/g, which indicates a positive anti-stress action of analcime on the seedlings of *V. opulus*.



**Fig. 4. The content of flavonoids in the leaves of berry crops under the adding of analcime: 1 – *V. opulus*; 2 – *L. caerulea*; 3 – *E. multiflora*; 4 – *A. arguta*; 5 – *S. chinensis***



**Fig. 5. The content of proline in the leaves of *V. opulus* under the adding of analcime: 1 – control; 2 – 50 g/m² analcime; 3 – 100 g/m² analcime**

### Conclusions.

As a result of the research, it was found that the using of analcime in the cultivation of berry seedlings is a powerful stimulant of the ontogenesis of plants, which increases their adaptive

and protective potential, demonstrating resistance to stress over a long period. Analcim contributes to the growth of plants, significantly increasing the mass of roots and above ground organs. In order to improve the agrotechnics of growing berry planting material and in-

creasing of this process efficiency, the optimum concentration of the use of natural mineral is 50 g/m<sup>2</sup>.

The adding to the soil of analcime helps to increase the stress resistance of plants, which is accompanied with a decreasing of the proline and an increasing of the flavonoids content of in the vegetative organs of plants.

### References.

1. Andreeva, V. YU., Kalinkina, G. I. (2000). Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredeleniya flavonoidov v manzhetke obyknovennoj Alchemilla vulgaris L.S.L. [Development of methods for the quantitative determination of flavonoids in the cuff ordinary Alchemilla vulgaris L.S.L.]. Chemistry of plant materials, 1, 85-88.
2. Zaimenko, N. V., Ellanska, N. E., Didyk, N. P., Pavliuchenko, N. A., Yunosheva, O. P., Ivanytska, B. O., Zakrasov, O. V., Rositska, N. V. (2016). Vplyv analysymu ta ekzometabolitiv hryba Penicillium roseopurpureum na stiikist tomativ do fuzariozu, mikrobiolohichni ta alelopatychni vlastyvyosti gruntu [Effect of analcime and exometabolites of fungus Penicillium roseopurpureum on the stability of tomatoes to fusariosis, microbiological and allelopathic properties of soil]. Dopovidi Natsionalnoi akademii nauk Ukrainy, 11, 93-98. doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2016.11.093>
3. Zaimenko, N. V., Pavliuchenko, N. A., Ellanska, N. E., Yunosheva, O. P., Ivanytska, B. O., Kharytonova, I. P., Didyk, N. P., Rositska, N. V. (2017). Perspektyvy zastosuvannya kremniievmisnoi orhano-mineralnoi sumishi dlia znyzhennia gruntovtomy v plodovykh sadakh [Prospects for the use of silicon-containing organo-mineral mixture for the reduction of soil fatigue in fruit gardens]. Dopovidi Natsionalnoi akademii nauk Ukrainy, 11, 76-82.
4. Martynenko, O. I., Kirilenko, T. K., Zaimenko, N. V., Antonyuk, M. N., Stepanyugin, A. V., Plodnik, D. P., Govorun, D. N. (2014). Vzaimosvyaz' mezhdu sootnosheniem RNK/DNK, skorost'yu rosta i akumulatsiei selena v kletkah list'ev pshenicy pod vozdeystviem mineralov anal'cima i trepela [The relationship between the ratio of RNA / DNA, growth rate and accumulation of selenium in the cells of wheat leaves under the influence of the minerals analcime and trepel]. Ukr. Biochem. J., 86(5), 89-94. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj86.05.089>
5. Bates, L. S., Valdren, R. R., Theare, G. D. (1993). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 1, 205-207.
6. Guntzer, F., Keller, C., Meunier, J. (2012). Benefits of plant silicon for crops: a review. Agron. Sustain. Dev., 15, 8933-8952. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules15128933>
7. Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y. G., Christie, P. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. Environmental Pollution, 147(2), 422-428.
8. Zhu, Y. Gong, H. (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. Agronomy for Sustainable Development, 34(2), 455-472. doi: 10.1007/s13593-013-0194-1.

**Н. В. Скрипченко, В. Ф. Левон, Г. В. Слюсар (2019). ВПЛИВ АНАЛЬЦИМУ НА РІСТ І РОЗВИТОК СІЯНЦІВ НЕТРАДИЦІЙНИХ ЯГІДНИХ КУЛЬТУР.**

*BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION*, 10(3): 63-70.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13081>

**Анотація.** Анальцим – це природний мінерал вулканічного походження, який відповідно до попередніх досліджень позитивно впливає на функціональний стан живих

організмів, стимулює ріст та розвиток рослин, підвищує їх продуктивність та резистентність до дії біотичних та абіотичних факторів. Досліджено вплив анальциму на морфологічні та біохімічні показники саджанців *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill., *Actinidia arguta* Planch., *Lonicera caerulea* L., *Elaeagnus multiflora* Thunb. та *Viburnum opulus* L. за внесення його в ґрунт. Показано, що екзогенне застосування мінералу сприяє росту та розвитку кореневої і надземної системи рослин, підвищує їх стійкість до несприятливих абіотичних факторів середовища. Значний приріст пагонів мали *V. opulus* і *E. multiflora* (відповідно 38 % і 76,8 %) порівняно з контрольними рослинами. У той же час найбільший приріст коренів спостерігалось у рослин *L. caerulea* (47,1 %). Найбільший вплив анальциму на ріст коренів відзначений у варіанті з *V. opulus*, вага яких збільшилась на 77,6 % у порівнянні з контролем. Додавання мінералу до ґрунту сприяє збільшенню вмісту флавоноїдів у листках дослідних рослин та зменшенню вмісту проліну. Дослідження вмісту флавоноїдів у листках дослідних рослин, як одного з показників неспецифічної реакції стресу на посуху, показало, що додавання 50 г/м<sup>2</sup> анальциму до ґрунту призводить до збільшення загального вмісту флавоноїдів на 33-45 % у листках усіх досліджуваних об'єктів. Збільшення дози анальцима в ґрунті до 100 г/м<sup>2</sup> практично не призвело до подальшого збільшення кількості флавоноїдів у листках досліджуваних об'єктів, а навпаки, спостерігався невеликий спад цього показника на 2-9 %. За внесенні в ґрунт 100 г анальциму на один квадратний метр вміст проліну зменшується на 1 ммоль/г, що свідчить про позитивну антистресову дію анальциму на саджанці *V. opulus*. У той же час, відзначена видова специфічність і дозозалежність дії мінералу на дослідних рослинах.

Аналіз отриманих результатів свідчить про перспективність використання анальциму для підвищення стійкості ягідних рослин до негативних факторів навколишнього середовища, стимулювання їх росту та розвитку для вирощування посадкового матеріалу.

**Ключові слова:** цеоліт, анальцим, нетрадиційні ягідні рослини, *S. chinensis*, *A. arguta*, *L. caerulea*, *E. multiflora*, *V. opulus*., стресостійкість, флавоноїди, пролін

---

## ПАТОГЕНЕЗ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ ЗА УМОВ ЗМІШАНОЇ ІНФЕКЦІЇ

---

**К. В. ГРИНЧУК**, кандидат біологічних наук, кафедра молекулярної  
біології, мікробіології та біобезпеки

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: blackgrampus@ukr.net

**Анотація.** Показано, що за умов інфікування цукрових буряків вірусом некротичного пожовтіння жилок буряка, у клітинах флоеми провідних пучків листків уміст пероксидаз, що пов'язані із клітинними стінками, зменшується на фоні нагромадження вільних ізоферментів у протопластах ситоподібних трубок і клітин-супутниць. Перерозподіл молекул пероксидази в компартментах клітин супроводжується значним підвищенням їхньої активності. За змішаної інфекції у паренхімі коренеплодів цукрових буряків також виявлено специфічні середньополярні терпеноїдні сполуки, які є потенційними біохімічними маркерами вірусного патогенезу.

**Ключові слова:** вірус некротичного пожовтіння жилок буряка, вірус мозаїки буряка, вірус жовтяниці буряка, полімеразна ланцюгова реакція, патогенез, пероксидаза

---

### Актуальність.

Цукрові буряки схильні до різноманітних захворювань. Усе більшої актуальності набуває боротьба з хворобами листків для розроблення ефективних систем захисту. До того ж на цукрових буряках досить часто трапляються змішані інфекції, як вірусні, так і грибні захворювання. Хвороби листового апарату, що викликаються патогенними грибами роду *Alternaria*, значно знижують якість коренеплодів, а відповідно і врожай. На території України основними небезпечними патогенами є вірусні інфекції, що спричиняють виникнення мозаїки та жовтяниці. Най-

більш розповсюдженими збудниками цих захворювань є вірус мозаїки (Beet mosaic virus) та вірус жовтяниці буряків (Beet yellows virus) [3, 7, 9, 10]. Вірус некротичного пожовтіння жилок буряка (ВНПЖБ) є збудником вірусної хвороби ризоманія, яка завдає значних негативних наслідків за вирощування цукрових буряків і є найбільш поширеною вірусною хворобою даної культури. Передача вірусу відбувається плазмодіофороміцетом *Polymyxa betae*, це дозволяє вірусу виживати десятиліттями на забруднених ґрунтах. Ризоманія одна з найбільш поширених хвороб цукрового буряка у світі і є карантинним об'єктом [6, 7, 9].

Важливе значення має вивчення патогенезу рослин за наявності змішаної інфекції та дослідження реакцій рослин для подальшого дослідження вірусів буряків і розроблення ефективних технологій та шляхів попередження виникнення й розповсюдження епіфітотій.

**Мета дослідження** – дослідити патогенез цукрових буряків за умов змішаної інфекції з можливістю її ідентифікації за біохімічними маркерами.

### **Матеріали і методи дослідження.**

Матеріалом для дослідження слугували листки та коренеплоди рослин цукрових буряків із чіткими симптомами та без симптомів вірусного ураження, які відбирали в польових умовах під час вегетації.

Для виявлення одночасно декількох вірусів цукрових буряків, а саме: ВНПЖБ, ВМБ, ВЖБ, було проведено ПЛР-аналіз, використовуючи пари праймерів: BNYVV1 5'-ttcggacgtcgtgagtgtta-3', BNYVV2 5'-cccagatccacattaattcc-3' з розміром продукту ампліфікації 419 п. н.; BtMV-1 5'-ggccatacatgcctctgttat-3', BtMV-2 3'-gtgagcgttgacatctgttg-5' – 239 п. н. [2] та BYV-1 5'-tcgcgttaggactttgttg-3', BYV-2 3'-gtgtgagtggcgttttcg-5' – 392 п. н. [1]. ПЛР здійснювали за наступних параметрів: початкову денатурацію кДНК проводили за температури 94 °C упродовж 5 хв; денатурацію кДНК 94 °C – 30 с, відпал праймерів 60 °C – 30 с, елонгацію 72 °C – 30 с; кінцеву елонгацію 72 °C – 7 хв. Кількість циклів становила 30 [5].

Дослідження локалізації і активності пероксидаз у тканинах цукрових буряків.

Локалізацію пероксидази визначали стандартними гістохімічними методами. Зрізи тканин листкових пластинок цукрових буряків поміщали в суміш перекис бензидину (750 мг + 0,7 мл 3 %  $H_2O_2$ , попередньо розчиненої в 500 мл 40 % етилового спирту) на 30 с за кімнатної температури, після чого промивали 40 % спиртовим розчином [4, 11, 12]. Отримані нативні препарати вивчали за допомогою мікроскопу Nikon Eclipse E-200. Фотодокументацію отриманих даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Camera Control Pro 2.

Активність пероксидази визначали спектрофотометричним методом за Бояркіним. Метод ґрунтується на визначенні швидкості реакції окислення бензидину до утворення синього продукту його окиснювання в присутності перекису водню й пероксидази.

Наважку рослинного матеріалу (листіків, коренеплодів) цукрових буряків масою 200–300 мг гомогенізували в холодному ацетатному буфері (pH 5,0), до якого додавали фенілметилсульфонілфторид (ФМСФ) із розрахунку 20 мкл 100 мМ розчину ФМСФ на 2 мл буферу. Гомогенат витримували на холоді 10 хв і центрифугували (5 хв, 6 тис об/хв). Для вимірювань використовували стандартні кварцові кювети (10 м).

Реакційна суміш складалась із послідовного додавання: 500 мкл витяжки, 500 мкл 0,2 М На-ацетатного буфера (pH 5,0), 500 мкл 0,01 % розчину солянокислого бензидину і 500 мкл 0,3 % перекису водню. У контрольну кювету замість екстракту вносили 500 мкл 0,2 М На-ацетатного буфера. Вимір оптичної густини проводили щосекунди впродовж 120 с за довжини хвилі 590 нм [4].

Активність пероксидази у відносних одиницях на 1 г сирової ваги розраховували за формулою:

$$A = (\Delta D \times V \times X) / (T \times L \times m),$$

де А – активність ферменту;

$\Delta D$  – зміна оптичної густини;

V – загальний об'єм отриманої витяжки, мл;

X – кінцеве розведення витяжки в кюветі;

T – час реакції (с);

L – товщина шару, см, m – маса наважки, г.

Визначення активності вільних і слабкозв'язаних пероксидаз проводили в трьох повторностях.

#### **Визначення вмісту фенольних сполук.**

Уміст розчинних поліфенолів визначали за методом Folin Ciocalteu в модифікації Singleton Rossi, який базується на реакції фенолів із реактивом Фоліна-Чокальтеу. Реактив складається із суміші фосфорно-вольфрамової й фосфорно-молібденової кислот, які відновлюються за реакції окиснювання фенолів до суміші оксидів. Водночас утворюється блакитне забарвлення суміші, яке пропорційне кількості фенольних речовин. Сумарний уміст фенольних сполук визначали в метанольних екстрактах (MeOH – 100 %) із листків і коренеплодів цукрових буряків із використанням стандартних кювет (10 мм) на скануючому спектрофотометрі Optizen Pop (Південна Корея). Калібрувальний графік будували за галою кислотою. Для визначення концентрації фенолів у тканинах рослин цукрових буряків до 100 мкл екстракту послідовно додавали 400 мкл етилового спирту, 2,5 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, який розводили дистильованою водою (1 : 10). У контрольні пробірки додавали 0,5 мл 80 % етанолу. До отриманої сумі-

ші через 3 хв додавали 2 мл водного розчину  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 г/л). Пробірки із сумішшю змішували і залишали на 2 год. Вимірювання оптичної густини проводили за довжини хвилі 765 нм.

Уміст внутрішньоклітинних фенольних сполук у зразках розраховували за формулою:

$$\Phi = (C \times V \text{ екстракту}) / (m \times 1000),$$

де  $\Phi$  – загальний вміст внутрішньоклітинних фенольних сполук,  $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$ ;

C – концентрація фенольних сполук, л;

V екстракту – загальний об'єм екстракту, мл;

m – маса наважки, г;

1000 – коефіцієнт переведення л в мл (об'єму екстракту).

Кількісний вміст флавоноїдів визначали в метанольних екстрактах при  $\lambda = 419$  нм. До 300 мкл екстракту послідовно додавали 200 мкл 0,1 М розчину хлориду алюмінію ( $\text{AlCl}_3$ ) і 300 мкл 1 М ацетату натрію ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ). Як стандарт використовували кверцетин (Sigma, Німеччина) [8]. Повторність фітохімічних досліджень п'ятиразова.

#### **Фітохімічне профілювання вторинних метаболітів листків цукрових буряків.**

Фітохімічне профілювання листків рослин виконували методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках сілікагель 60 (Sorbfil F<sub>254</sub>) і високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ, Merck). Розділення терпенових сполук і сапонінів проводили в системі розчинників: хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (v/v/v/v – 60/32/12/8). Для виявлення індивідуальних сполук та їхньої хімічної природи хроматограми обробляли розчином анісового альдегіду.

### Статистична обробка даних.

Рослинні тканини досліджували на мікроскопі Nikon Eclipse E-200 (Japan). Фотодокументацію й опрацювання отриманих даних гістохімічного аналізу виконували в спеціалізованій програмі для аналізу цифрових зображень Image-Pro Premier 9.0 (USA). Показники Rf індивідуальних сполук визначали фотоденситометрично з використанням комп'ютерної програми Sorbfil TLC. Статистичну обробку даних виконували за допомогою програми Statistica 7.0 (USA). Регресійний аналіз проводили у програмі Sigma Plot 12.0 (USA). Достовірність відмінностей середніх визначали за найменшою істотною різницею (HIP) за  $p > 0,05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення.

За умов змішаної вірусно-грибної інфекції в рослин цукрових буряків виявлялися типові симптоми патогенезу: пожовтіння центральної й бічних жилок з адаксиальної поверхні листків, порушення геометрії метамерів (збільшення індексу співвідношення довжини до ширини листових пластинок, їхня асиметричність, порушення типової форми тощо), мозаїчна депігментація, некротичні плями й перфорації, які утворювалися на завершальних стадіях реакції надчутливості рослини (RHR).

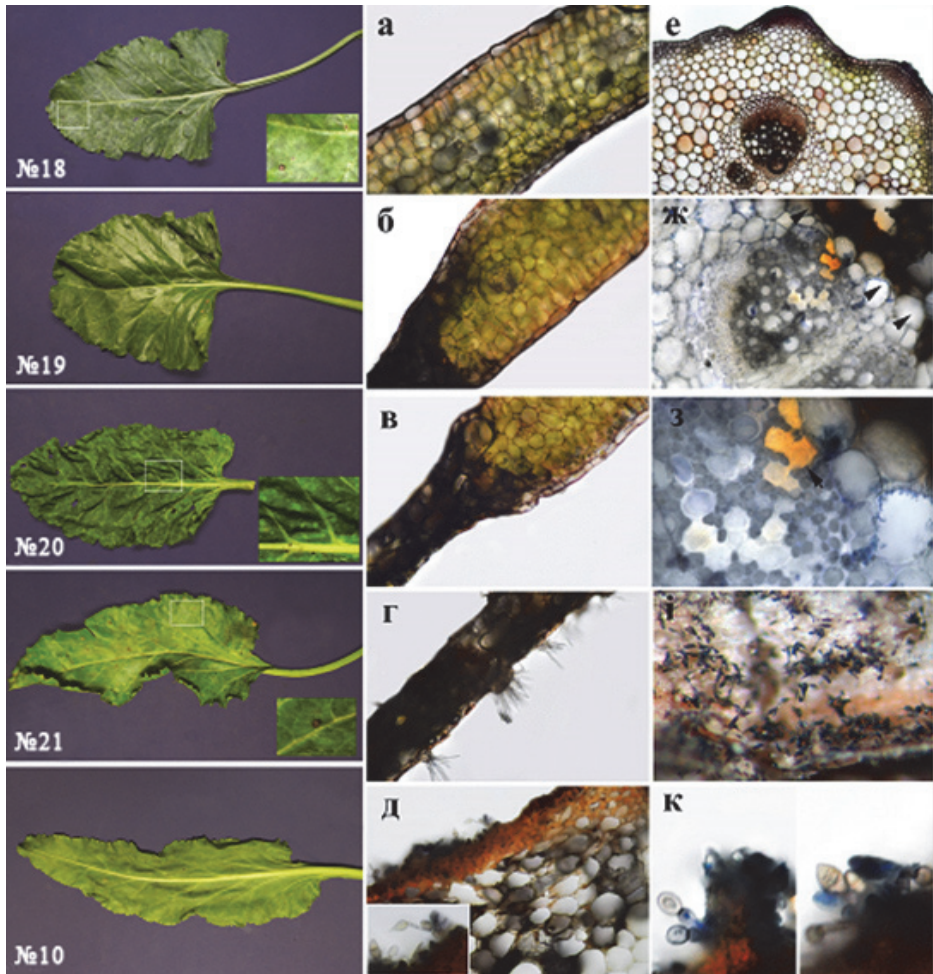
Наявність у тканинах листка гіф фітопатогенних грибів, зокрема *Alternaria tenuissima*, супроводжувалася характерним протеолітичним руйнуванням клітинних стінок, особливо інтенсивно деструкція тканин спостерігалась у провідних пучках черешків листків. Гіфи виявлялись у судинах ксилеми й за характером їх

просторової орієнтації на серії зрізів, очевидно, що гриби поширюються в тканинах листа переважно провідними пучками. Показано також, що за грибних уражень покривних тканин черешка в клітинах інтенсивно розвивається реакція надчутливості рослин, яка супроводжується лігніфікацією і опробковінням клітинних стінок основної паренхіми (рис. 1).

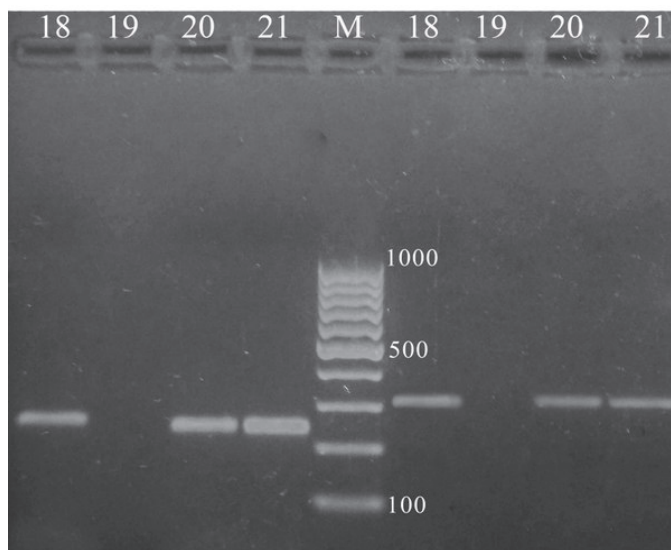
Із 21 зразка відібраних рослин цукрових буряків встановлено наявність ВНПЖБ у зразках під номерами 1, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 16, 17, 18, 20, 21 (рис. 2).

Рослини цукрових буряків під номерами 18, 19, 20, 21 були обрані для проведення ПЛР-аналізу коренеплідів, а саме, кДНК була отримана із тканин провідних пучків коренеплідів і встановлено наявність ВНПЖБ у зразку під номером 18, а ВМБ був присутній у зразках 18, 20, 21. У зразках під номерами 4, 17, 18, 20, 21 було встановлено присутність змішаної інфекції, а саме ВНПЖБ та ВМБ. ВЖБ в аналізованих зразках був відсутній (рис. 3).

У листових пластинках запрограмована клітинна смерть (ЗКС) має певні специфічні ознаки, що пов'язані з особливостями анатомічної будови і просторового розподілу метаболітів. Листкова пластинка цукрового буряка уніфациального типу. Клітини верхнього епідермісу дещо крупніші за нижній епідерміс. Втім, виражених мікоморфологічних відмінностей у структурі мезофілу адаксиальної й абаксиальної поверхні не виявляється. У зовнішніх клітинних стінках верхнього й нижнього епідермісу безвірусного листка виявлено порівняльно високий уміст аніонних пероксидаз (рис. 1, а), які є активним складником неспецифічного імунітету рослин. У тканинах листків цукро-



**Рис. 1 Трансформація тканин листків цукрових буряків в умовах змішаної інфекції:** № 18, 20, 21, 10 – листки, в яких виявлено віруси ВНПЖБ і ВМБ; № 19 – листок в якому не виявлено вірусів; № 18, 21 – листки рослин, що уражені грибами; анатомічна будова листків цукрових буряків з ознаками ушкоджень тканин: а – будова листка без симптомів патогенезу; б, в – реакція надчутливості рослин, яка викликана фітопатогенними грибами; г – ознаки ураження грибами; д – реакція надчутливості рослин, яка викликана альтернаріозом, з опробковінням коленхіми, облітерацією клітин паренхіми кори; д, к – спороношення *Alternaria tenuissima*; е – фрагмент поперечного зрізу центральної жилки листка безсимптомної рослини; ж, з – лізис клітинних стінок клітин ксилеми під впливом екзоферментів грибів; і – спори альтернарії на поверхні центральної жилки листка



**Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ПЛР-аналізу визначення ВНПЖБ, ВМБ, ВЖБ у зразках листків цукрових буряків: М (O'GeneRuler™ DNALadder, #SM 0241) – маркер довжин фрагментів (пар нуклеотидів).**

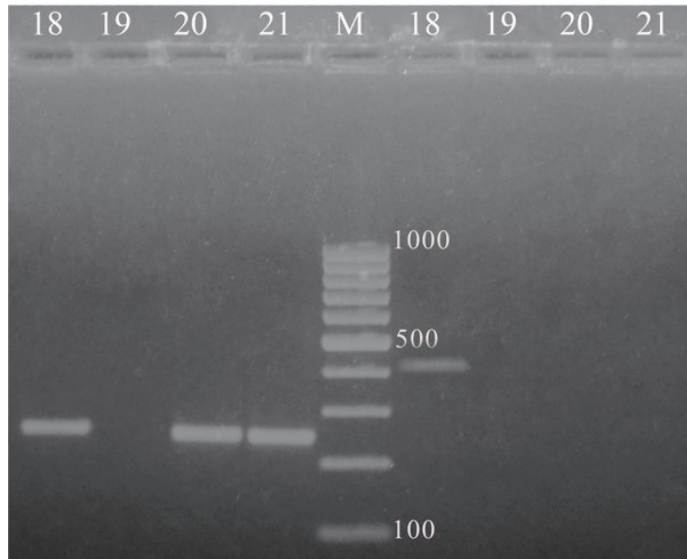
вих буряків, де нами виявлено віруси ВНПЖБ і ВМБ вміст зв'язаних із клітинними стінками пероксидаз візуально був значно меншим (рис. 1, б).

Пероксидаза є поліфункціональним ферментом. Важливим процесом, який пов'язаний із каталітичним розкладенням перекису водню, є процес окислення поліфенольних сполук, після чого вони набувають нових властивостей, зазвичай токсичних щодо клітин потенційних патогенних організмів.

Інтенсивність і характер поширення РНР тканинами листка також виявляли тісний зв'язок з активністю аніонних пероксидаз. Реакція надчутливості активніше поширювалась у морфологічно нижньому мезофілі. За даними гістохімічного аналізу було з'ясовано, що пожовтіння жилок листків цукрових буряків пов'язаний з інтенсивною лігніфікацією й суберинізацією клітин коленхіми й частково основної

паренхіми. Значні відкладення біополімерів на поверхні змінюють світлопоглинальні властивості тканин, які зумовлюють їхній колір.

Детальний гістохімічний аналіз провідних пучків жилок листків показав, що в безсимптомних рослин до основної фракції пероксидаз належать аніонні форми ферментів, зв'язані з клітинними стінками. Значна їхня кількість виявлена в зоні диференціації трахеальних елементів метаксилеми. У цілком сформованих клітинах провідної системи пероксидаза не виявляється. У жилках більшості безсимптомних рослин, у яких за використання ПЛР-діагностикумів досліджували віруси не виявлено, у клітинах основної паренхіми спорадично формуються окремі клітини з високим вмістом пероксисом. Останні є важливим ланцюгом кисневого метаболізму клітини й пероксидзалежних процесів у клітині.



**Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ПЛР-аналізу визначення ВНПЖБ, ВМБ, ВЖБ у зразках коренеплодів цукрового буряка: М (O'GeneRuler™ DNALadder, #SM 0241) – маркер довжин фрагментів (пар нуклеотидів)**

За реакцією окиснення бензидину такі клітини на зрізах виділялися значною інтенсивністю забарвлення (рис. 4). Захисні реакції рослин проти фітопатогенів супроводжувались активацією вільних і слабкозв'язаних аніонних і катіонно-аніонних пероксидаз, які беруть участь у розвитку реакцій індукованого неспецифічного імунітету, формуванні тканинних бар'єрів через полімеризацію фенольних сполук і лігніфікацію клітинних стінок. У провідних пучках листків фермент нагромаджувався в матриці клітинних стінок ендокортексу, а також камбіальних клітин відкритих колатеральних пучків. Розвиток патогенної трансформації тканини супроводжувався вивільненням пероксидази, яка розподілялася дифузно протопластами клітин флоєми, а також активно нагромаджувалася в клітинних стінках обкладинки провідних пучків.

Активність пероксидази коренеплодів цукрових буряків за умов змішаної інфекції також мала прямий зв'язок зі ступенем ураження тканин. Виділені слабкозв'язані з клітинними стінками і вільні аніонні пероксидази характеризувалися високою активністю в рослин зі змішаною вірусною і вірусно-грибною інфекціями.

Кінетика ферментативного процесу окиснення бензидину продуктами розкладання перекису водню описувалася рівнянням:

$$y = \frac{B_{\max} \times x}{K_d + x},$$

де  $y$  – оптична густина;  $B_{\max}$  – межа насиченості логісти;  $K_d$  – час, в який швидкість ферментативної реакції складає половину від максимальної;  $x$  – час протікання ферментативного процесу.

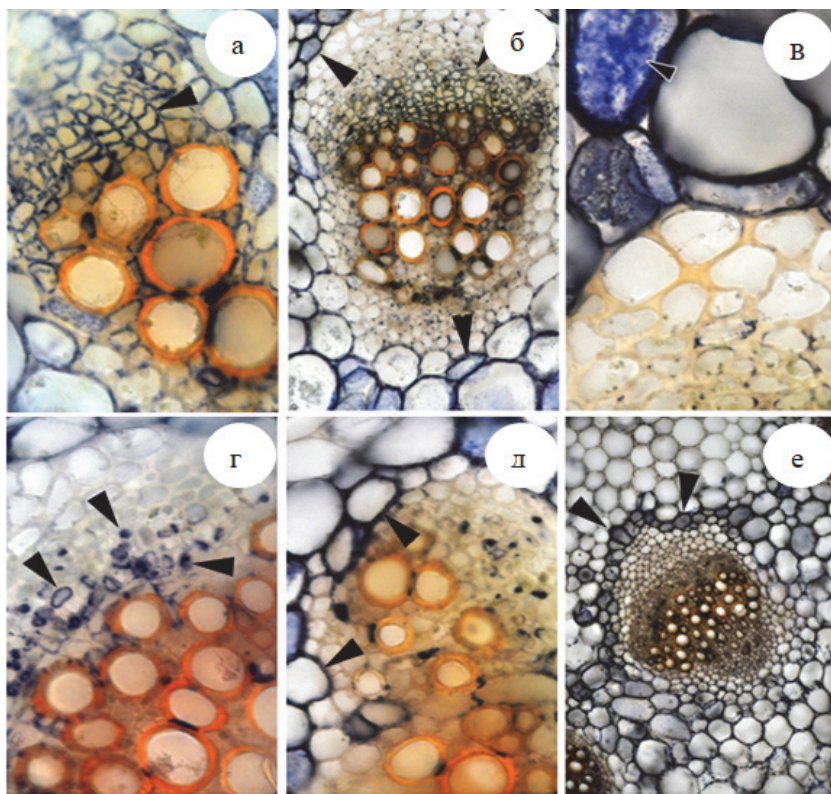
Визначені коефіцієнти рівнянь характеризують пероксидазну систему ко-

ренеплідів цукрових буряків (табл. 1). Так, за умов інфікування рослин цукрових буряків лише ВНПЖБ у екстрактах коренеплідів показник  $B_{\text{max}}$ , який прямо пов'язаний із концентрацією й активністю пероксидази в екстракті, був максимальним. Порівнюючи з контролем даний коефіцієнт був у 2,74 рази більшим.

Рослини зі змішаною інфекцією, а саме ВНПЖБ і ВМБ, також характери-

зувалися підвищеним значення коефіцієнту, втім, його значення було майже вдвічі нижчим, ніж у рослин, які виявили позитивний результат ПЛР-аналізу лише на ВНПЖБ (табл. 1).

Важливим показником кінетики ферментативного каталізу є швидкість досягнення системою найвищої швидкості. За даним показником максимальної швидкості реакції до-



**Рис. 4. Локалізація пероксидази в тканинах провідних пучків і паренхіми центральних жилок листків безсимптомних (а-в) і інфікованих (г-е) рослин цукрових буряків:** а, б – провідний пучок у якому пероксидаза виявляється у клітинних стінках флоєми і в паренхімі, що його оточує (стрілками позначено локалізацію пероксидази); в – клітина паренхіми кори з високим вмістом ферменту; г – фрагмент провідного пучка (стрілками позначено підвищений вміст пероксидаз у ситоподібних трубках); д – підвищена активність пероксидази, яка зв'язана з клітинними стінками паренхіми (стрілками позначено пероксидазу, що зв'язана з клітинними стінками); е – локалізація пероксидази в клітинних стінках перициклу

**Таблиця 1. Коефіцієнти рівняння кінетики окислення бензидину в процесі розкладання перекису водню пероксидазою коренеплідів цукрових буряків**

| Зразок, № | Вірус      | Коефіцієнти |         |       |
|-----------|------------|-------------|---------|-------|
|           |            | $V_{\max}$  | $K_d$   | $R^2$ |
| 18        | ВНПЖБ, ВМБ | 2,9057      | 29,6947 | 0,991 |
| 19        | -          | 1,2157      | 31,5741 | 0,991 |
| 20        | ВНПЖБ, ВМБ | 1,7020      | 32,5833 | 0,994 |
| 21        | ВНПЖБ, ВМБ | 2,0426      | 32,4554 | 0,997 |
| 10        | ВНПЖБ      | 3,3205      | 15,8687 | 0,973 |

сягали також рослини, які інфіковані виключно ВНПЖБ (рис. 5).

Дослідження загального вмісту фенольних сполук показало, що за ознаками ураження рослин грибами, на фоні вірусних інфекцій, спостерігалася значна перебудова процесів вторинного метаболізму. Інфекційні процеси супроводжувались активацією фенілпропанового синтезу, унаслідок якого майже в 1,5-2 рази підвищувався вміст фенолів (табл. 2).

Уміст флавоноїдів у інфікованих рослин, навпаки, дещо зменшувався. Виявлена особливість, можливо, пов'язана з індукованою фітопатогенами фізіологічною перебудовою рослинного організму. Вона, ймовірно, пов'язана з частковою дерегуляцією біоорганічного синтезу, у якому активність ферментів фе-

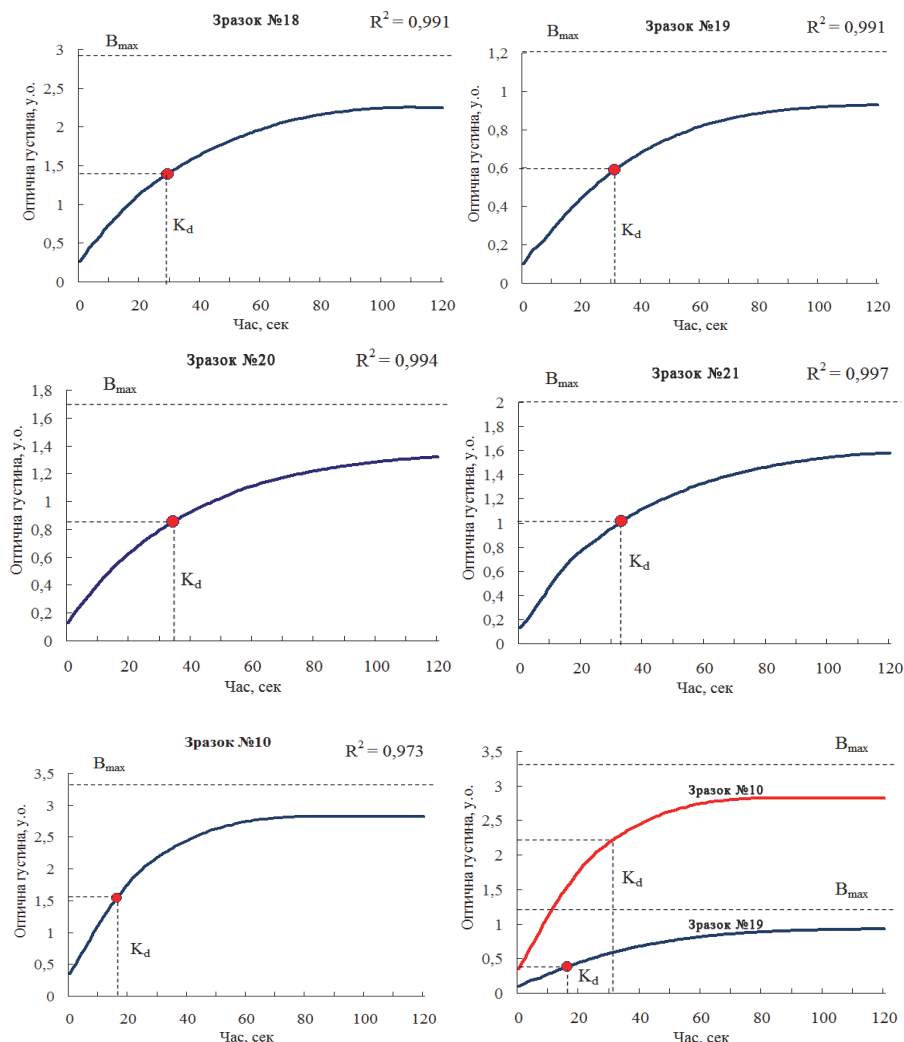
нілпропанового синтезу (у тому числі фенілаланін-аміак-ліази) зростає, а халконсинтази спадає. Зменшення загального пулу флавоноїдів ослаблює регуляторні можливості рослинного організму, певна їхня частина вступає в реакції нейтралізації вільних радикалів і захищає фосфоліпіди мембран від окислення. Отже, індекс співвідношення загального вмісту фенольних сполук до флавоноїдів є високоінформативним показником загального стану рослини, органу або тканини і їхньої здатності до активного захисту проти стресових чинників, у тому числі викликаних інфекцією.

Окрім фенольних сполук важливе місце у формуванні системи захисту рослини займають терпеноїди й сапоніни. Під час біохімічного профі-

**Таблиця 2. Вміст фенольних сполук у листках цукрових буряків у нормі та за умов змішаної інфекції (n = 4,  $\bar{x} \pm SE$ )**

| Зразок | Вірус      | ФН, МГ/Г    | НІР <sub>05</sub> | ФЛ, МГ/Г    | НІР <sub>05</sub> | ФН/ФЛ      |
|--------|------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|------------|
| №18    | ВНПЖБ, ВМБ | 52,6 ± 2,10 | 7,88              | 8,6 ± 0,32  | 1,78              | 6,1 ± 0,21 |
| №19    | -          | 34,1 ± 1,31 | -                 | 11,2 ± 0,46 | -                 | 3,1 ± 0,13 |
| №20    | ВНПЖБ, ВМБ | 60,7 ± 2,35 | 8,56              | 9,2 ± 0,32  | 1,78              | 6,6 ± 0,22 |
| №21    | ВНПЖБ, ВМБ | 40,4 ± 1,56 | 6,48              | 7,4 ± 0,27  | 1,70              | 5,5 ± 0,19 |
| №10    | ВНПЖБ      | 41,6 ± 1,62 | 6,63              | 9,5 ± 0,35  | 1,84              | 4,4 ± 0,14 |

*Примітка:* ФН – Феноли, ФЛ – флавоноїда, НІР<sub>05</sub> – найменша істотна різниця

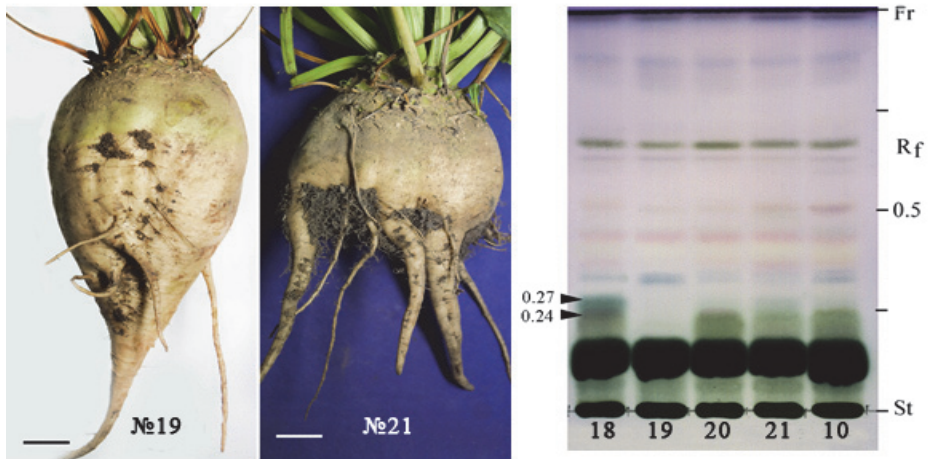


**Рис. 5. Кінетика окиснення бензидину продуктами пероксидазного розкладання перекису водню: зразки № 10, 18, 20, 21; порівняльний графік безсимптомної (№ 19) і вірусифікованої (№ 10) рослини**

лювання нам вдалося встановити, що під дією фітопатогенів у запасючих тканинах коренеплодів цукрових буряків виявляються специфічні середньополярні сполуки (рис. 6).

У безсимптомних рослин виділені речовини не накопичувались. Отже, дані вторинні метаболіти, ймовірно, системно пов'язані з

патогенезом і потенційно є біохімічними маркерами інфекційних процесів у рослинному організмі. За результатами фотоденситометричного аналізу встановлено, що найактивніше терпеноїдні сполуки ( $R_f \sim 0,17-0,27$ ) синтезуються в коренеплодах за ураження запасючих тканин грибами.



**Рис. 6. Біохімічне профілювання екстрактів коренеплодів цукрових буряків за умов змішаної інфекції:** № 18 – рослина, що уражена грибом *Alternaria tenuissima*, ВНПЖБ та ВМБ; № 19 – безсимптомна рослина; № 20, 21, 10 – рослини, які уражені ВНПЖБ та ВМБ (система: хлороформ-оцтова кислота-метанол-вода, v/v/v – 32/12/8/4; обробка хроматограми анісовим альдегідом)

Оцінка кількісного співвідношення речовин за показниками площі піків на хроматограмі, після обробки розчином анісового альдегіду, показала, що в рослин, які були інфіковані ВНПЖБ і ВМБ (зразки № 10, 21) уміст речовини з  $R_f \sim 0,24$  у порівнянні з рослинами, які уражені вірусно-грибною інфекцією, менший в 1,3–1,4 рази. Для коренеплодів цукрових буряків, які

уражені і грибами і вірусами, найінформативнішим із визначених є метаболіт із  $R_f \sim 0,17, 0,27, 0,39$ . Певний зв'язок із відповідними реакціями рослин на присутність фітопатогенів є також сполуки з  $R_f \sim 0,36, 0,50$ . У рослин, у коренеплодах яких не виявлені віруси і грибні патогени, дані речовини не утворювались або їхній синтез був значно уповільнений (табл. 3).

**Таблиця 3. Розподіл вторинних терпеноїдів та тритерпенових глікозидів за площами піків ( $S \times 10^5$ ) на фотоденситограмі**

| Зразки | Площа піків за показниками Rf, S × 10 <sup>5</sup> |      |     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       |
|--------|----------------------------------------------------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
|        | 0,12                                               | 0,17 | 0,2 | 0,24 | 0,27 | 0,33 | 0,36 | 0,39 | 0,44 | 0,5  | 0,63 | 0,66 | 0,88 | Σ     |
| № 18   | 10,3                                               | 5,8  | 2,7 | 2,7  | 1,7  | 0,41 | 0,23 | 0,14 | 0,43 | 0,44 | 0,41 | 1,52 | 1,06 | 27,87 |
| № 19   | 24,8                                               | -    | -   | -    | -    | 0,46 | -    | -    | 0,02 | -    | 0,16 | 1,29 | 2,08 | 28,86 |
| № 20   | 23,1                                               | -    | 4,9 | -    | -    | 0,16 | -    | -    | 0,21 | -    | 0,13 | 1,58 | 1,54 | 31,66 |
| № 21   | 26,5                                               | -    | -   | 2,1  | -    | 0,21 | 0,5  | -    | 0,43 | 0,43 | 0,21 | 1,54 | 1,4  | 33,37 |
| № 10   | 31,8                                               | -    | -   | 1,9  | -    | 0,75 | 0,88 | -    | 0,92 | 0,7  | 0,35 | 1,82 | 2,26 | 41,4  |

За вибором системи для хроматографічного профілювання і хромогенним реактивом виявлені сполуки належать до тритерпенових сапонінів і терпеноїдів. Дані речовини характеризуються високою біологічною активністю. Тритерпенові сапоніни здатні впливати на селективність мембран, що є важливим складником системи противірусного захисту рослинних клітин. Факт наявності даних специфічних сполук у тканинах інфікованих рослин має перспективи в аспектах визначення їхньої ролі у формування конституціональної й набуті стійкості рослин, а також у якості потенційного маркеру їхньої чутливості до фітопатогенів.

### **Висновки і перспективи.**

Встановлено, що в клітинах флоєми провідних пучків листків цукрових буряків, які інфіковані ВНПЖБ, концентрація зв'язаних із клітинними стінками пероксидаз зменшується на фоні нагромадження вільних ізоферментів у протопластах. Перерозподіл молекул пероксидази в компартментах клітин супроводжується значним підвищенням їхньої активності.

За умов змішаної інфекції в паренхімі коренеплодів цукрових буряків виявлено специфічні середньополярні речовини вторинного метаболізму, які можуть слугувати потенційними біохімічними маркерами вірусного патогенезу.

Висловлюю щиро подяку І. О. Антипову (Національний університет біоресурсів і природокористування України) за цінні консультації та допомогу в роботі під час розробленні ПЛР систем для ідентифікації вірусів буряка та А. Ф. Ліханову (Інститут еволюційної екології НАН України) за навчання та надання допомоги під час проведення біохімічних та гістологічних досліджень.

### **References**

1. Andrusyk, I. M., Antipov, I. O., A. M., Kyrychenko (2013) [Diagnostic and identification of beet yellows virus] *Visnyk Sums'koho natsional'noho ahroarohoho universytetu*, 11, 42-46. [in Ukrainian]
2. Andrusyk, I. M., Antipov, I. O., Bohach, YE. M. (2014) PCR diagnostic and identification of beet mosaic virus. *Bioresursi y pryrodokorystuvannya*, 5-6, 11-13 [in Ukrainian]
3. Chiba, S., Kondo, H., Miyanishi, M., Andika, I. B., Han, C., Tamada, T. (2011). The evolutionary history of Beet necrotic yellow vein virus deduced from genetic variation, geographical origin and spread, and the breaking of host resistance. *Mol. Plant Microbe Interact.* 24, 207–218. doi: 10.1094/MPMI-10-10-0241 [in English]
4. Furst, G. G. (1979) *Methods of anatomical and histochemical study of plant tissues* M.: Nauka [in Russian]
5. Hrynchuk, K, Antipov, I. (2015) Molecular diagnostics and identification of the beet necrotic yellow vein virus: methodical recommendations. *Metodical recommendations*, 24 [in Ukrainian]
6. Hrynchuk, K.V., Antipov, I.O., Kyrychenko, A.M. Krayeva, H.V., Likhanov, A.F. (2018) Diagnosis of beet necrotic yellow vein virus circulating in Ukraine *Mikrobiol. zhurn.*, 80 (1), 67-77 [in Ukrainian]
7. Koenig, R., Kastir, U., Hotschulte, B., Deml, G., Varrelmann, M. (2008). Distribution of various types and P25 subtypes of Beet necrotic yellow vein virus in Germany and other European countries. *Arch. Virol.*, 153, 2139–2144. doi: 10.1007/s00705-008-0234-3 [in English]
8. Kovalev, V. N., Popova N. V., Kislichenko, V. S. (2003) *Pharmacognosy guide*. Kh.: IZD-VO NFaU «Zolotyie strannitsy» [in Russian]
9. McGrann, G.R.D., Grimmer, M.K., Mutsa-Göttgens, E.S., Stevens, M. (2009) Progress towards the understanding and control of sugar beet rhizomania disease. *Mol. Plant Pathol.*, 10, 129–141 [in English]

10. Nurmammedov, A. K. (2006) Increasing the stability of sugar beets to pathogens of rhizomania, rotten root crops and coronet stains. Doctor's thesis. Kiev: National University of life and environmental sciences [in Ukrainian]
11. Pausheva, Z. P. (1988) Plant cytology guide. M.: Agropromizdat [in Russian]
12. Sibgatullina, G. V., Khayertdinova, L. R. and Gumerova, Ye. A. (2011) Methods for determining the redox status of cultivated plant cells. Kazan': Kazanskiy (Privolzhskiy) Federal'nyy universitet [in Russian]

**K. Hrynychuk (2019). PATHOGENESIS OF SUGAR BEETS WITH MIXED INFECTIONS.**

**BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 71–83.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13082>

**Abstract.** Sugar beet plantations were monitored in agroecosystems of Cherkasy region with both symptoms and no symptoms of viral diseases. Plant diagnostics by polymerase chain reaction was performed. The presence of beet mosaic virus, beet yellows virus, beet necrotic yellow vein virus and the presence in the tissues of leaf hyphae of phytopathogenic fungi, in particular *Alternaria tenuissima*. The lesion of the fungal disease was accompanied by the characteristic proteolytic destruction of the cell walls, especially intensive destruction of the tissues was observed in the conductive bundles of leaf petioles. The hyphae were found in the xylem vessels and by the nature of their spatial orientation in a series of sections, it is evident that the fungi spread in the tissues of the leaf mainly by conducting bundles. It is also shown that when fungi lesions of the covering tissues of the petiole in cells intensively develops a hypersensitivity reaction of plants, which is accompanied by lignification and probing of the cell walls of the main parenchyma. It has been shown that under conditions of infection of sugar beet virus with necrotic yellowing of beet veins, in the phloem cells of conductive leaf bundles, the content of peroxidases bound to cell walls decreases against the background of accumulation of free isoenzymes in protoplasts of sieve tubules and cell tubules. The redistribution of peroxidase molecules in cell compartments is accompanied by a significant increase in their activity. In the case of mixed infections in the parenchyma of the sugar beet root, specific middle polar terpenoid compounds have also been identified. It can be a potential biochemical markers of viral pathogenesis.

**Keywords:** beet necrotic yellow vein virus, beet mosaic virus, beet yellows virus, polymerase chain reaction, pathogens, peroxidase.

**Гринчук К.В. (2019). ПАТОГЕНЕЗ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ В УСЛОВИЯХ СМЕШАННОЙ ИНФЕКЦИИ. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 71–83.**

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13082>

**Аннотация.** Показано, что в условиях инфицирования сахарной свеклы вирусом некротического пожелтения жилок свеклы, в клетках флоэмы проводящих пучков листьев содержится пероксидаз, связанное с клеточными стенками, уменьшается на фоне накопления свободных изоферментов в протопластах ситовидных трубок и клеток-спутниц. Перераспределение молекул пероксидазы в компартментах клеток сопровождается значительным повышением их активности. При смешанной инфекции в паренхиме корнеплодов сахарной свеклы также выявлены специфические среднеполярные терпеноидные соединения, которые являются потенциальными биохимическими маркерами вирусного патогенеза.

**Ключевые слова:** вирус некротического пожелтения жилок свеклы, вирус мозаики свеклы, вирус желтухи свеклы, полимеразная цепная реакция, патогенез, пероксидаза

## ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ЙОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ЗАНУРЕНІ ВИЩІ ВОДЯНІ РОСЛИНИ ТА ЗЕЛЕНІ НИТЧАСТІ ВОДОРОСТІ

**О. О. ПАСІЧНА**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут гідробіології НАН України

E-mail: [ecopasichna@gmail.com](mailto:ecopasichna@gmail.com)

**О. М. АРСАН**, доктор біологічних наук, професор, провідний науковий співробітник, Інститут гідробіології НАН України

E-mail : [ecotoxhydrobiol@gmail.com](mailto:ecotoxhydrobiol@gmail.com)

**О. О. ГОДЛЕВСЬКА**, кандидат фізико-математичних наук, доцент кафедри фізики, Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: [godlevok@ukr.net](mailto:godlevok@ukr.net)

**Л. О. ГОРБАТЮК**, кандидат технічних наук, старший науковий співробітник, Інститут гідробіології НАН України

E-mail: [ludmila.horbatiuk@gmail.com](mailto:ludmila.horbatiuk@gmail.com)

**Т. В. ВІТОВЕЦЬКА**, кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімії, Київський національний університет будівництва і архітектури

E-mail: [vitovetskaya@ukr.net](mailto:vitovetskaya@ukr.net)

**Анотація.** Проведено дослідження короткочасного (тривалістю 1 доба) і хронічного (14 днів) впливу йонів купруму (II) і мангану (II) на фотосинтез, дихання, вміст хлорофілів *a*, *b* та каротиноїдів у зануреній вищій водянній рослині *Ceratophyllum demersum* L. і зелених нитчастих водоростях *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. Встановлено закономірності накопичення металів макрофітами за зростання концентрацій  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у водному середовищі та часу експозиції. Виявлено зв'язок між чутливістю газообмінних функцій та пігментної системи макрофітів до впливу йонів металів та рівнем їх накопичення у рослинних організмах. Проведено оцінку адаптивної здатності досліджуваних макрофітів до підвищеної концентрації  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у водному середовищі.

**Ключові слова:** купрум, манган, занурені вищі водяні рослини, зелені нитчасті водорості, фотосинтез, дихання, пігменти, адаптація

### Актуальність.

Основними джерелами забруднення прісноводних екосистем важкими металами є промислові підприємства (в т.ч. металургійної та електротехнічної промисловості), транспорт, сільське господарство (внаслідок застосування металовмісних пестицидів і добрив), спалювання нафти і вугілля. Всі важкі метали мають загальну властивість: вони можуть бути біологічно активними. Внаслідок цього метали, потрапивши у водні екосистеми, так чи інакше включаються в біологічний колообіг і за певних біогеохімічних умов і концентраціях здатні виявляти токсичну дію на живі організми [5]. Продукційною основою водних екосистем є фотосинтезуючі організми, серед яких значна роль належить зануреним макрофітам (вищим водяним рослинам і макроводоростям), які накопичують значну кількість металів (Cu, Zn, Mn, Fe, Co, Pb, Cd, Cr, Ni та ін.), що в подальшому мігрують по харчових ланцюгах. В основі участі водяних макрофітів у формуванні первинної продукції і якості води лежать такі фізіологічні функції як фотосинтез, дихання, поглинання біогенних елементів, а також їх виділення в процесі відмирання і розкладу рослинних організмів.

### Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Як відомо, деякі важкі метали, в тому числі купрум і манган, є життєво необхідними для рослин елементами („біометалами”), оскільки у мікрокількостях беруть участь у функціонуванні багатьох ферментних систем і відіграють важливу роль у життєвих

процесах [9]. У той самий час надлишок цих металів у навколишньому середовищі може призвести до порушень процесів життєдіяльності рослинних організмів. Результати експериментального дослідження залежності накопичення металів у гідрофітах від їх концентрації у водному середовищі, механізмів акумуляції та детоксикації йонів металів в рослинних клітинах, умов виникнення токсичного ефекту висвітлено низкою робіт [1, 2, 6–8, 10–13, 15].

**Мета дослідження** – виявити зв'язок між чутливістю занурених вищих водяних рослин і зелених нитчастих водоростей до впливу йонів важких металів (на прикладі йонів купруму (II) і мангану (II)) та рівнем їх накопичення у рослинних організмах, а також провести оцінку адаптивної здатності макрофітів. Для цього було проведено дослідження короточасного (тривалістю 1 доба) і хронічного (протягом 14 діб) впливу  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  на газообмінні функції та пігментну систему представників занурених вищих водяних рослин і зелених нитчастих водоростей, а також встановлено закономірності накопичення металів макрофітами при зростанні концентрації їх йонів у водному середовищі.

### Матеріали і методи дослідження.

Об'єктами досліджень слугували занурена вища водяна рослина кушир занурений *Ceratophyllum demersum* L. і зелені нитчасті водорості *Cladophora glomerata* (L.) Kütz., поширені у водоймах України.

Макрофіти вирощували на розведеному у 20 разів середовищі Успенського № 1 [4] за температури

20 ± 2 °C і комбінованому освітленні лампами розжарювання і денного світла протягом 14 год/добу; рН середовища вимірювали за допомогою іоніміра ЭВ-74.

Для дослідження впливу йонів металів (на прикладі  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$ ) на макрофіти їх поміщали у скляні акваріуми з водним середовищем (без додавання фосфатів і карбонатів, з якими йони металів утворюють нерозчинні солі, та мікроелементів), приготуванням на основі відстояної водопровідної води з розрахунку: 2 г сирової маси : 3 дм<sup>3</sup> води. У водне середовище додавали купрум ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) у концентрації 0,5, 2, 5, 10 і 20 мкг/дм<sup>3</sup> (за йонами  $\text{Cu}^{2+}$ ) і манган ( $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) – 5, 20, 50, 100 і 200 мкг/дм<sup>3</sup> (за йонами  $\text{Mn}^{2+}$ ). Фоновий уміст  $\text{Cu}^{2+}$  у воді становив  $0,14 \pm 0,05$  мкг/дм<sup>3</sup>,  $\text{Mn}^{2+}$  –  $0,24 \pm 0,02$  мкг/дм<sup>3</sup>.

Експериментальні дослідження тривали 1 та 14 діб (зі зміною розчину на 7 добу). Контрольними були макрофіти, витримані в ідентичних умовах, проте, без додавання йонів металів.

Хлорофіли і каротиноїди екстругували 80 % розчином ацетону; їх концентрацію у рослинах визначали за максимумами поглинання світла спектрофотометричним методом і розраховували за формулами, наведеними у роботі [14].

Інтенсивність фотосинтезу і темнового дихання макрофітів визначали полярографічним (амперометричним) методом [3].

Для визначення накопичення металів макрофітами рослинний матеріал промивали дистильованою водою і 0,02 М розчином ЕДТА (для видалення адсорбованих на поверхні металів), потім озольяли сумішшю концентрованої азотної й сірчаної кислот під час нагрівання [5]. Уміст

металів у рослинному матеріалі визначали методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії та розраховували в мікрограмах на 1 г сухої маси.

Всі досліди проводили у 4-5 повторностях. Статистичну обробку одержаних даних проводили в MS Excel 2016.

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Результати проведених досліджень показали, що вплив купруму і мангану на *C. demersum* і *Cl. glomerata* залежить від концентрації  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у водному середовищі, експозиції, а також від накопичення металів у рослинному організмі та від функціонування його адаптивних механізмів. У більшості випадків зі збільшенням концентрації йонів металів у воді, часу їх дії та накопичення у рослинах токсичний ефект зростає.

Одержані дані свідчать про те, що вплив  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  на функціональні показники макрофітів має двофазний характер як за часом, так і за концентрацією. Так, у разі внесення у водне середовище йонів металу в концентраціях, що викликають пригнічення процесів газообміну та зменшення вмісту пігментів вже за короткотермінових досліджень (за дії 5–20 мкг/дм<sup>3</sup>  $\text{Cu}^{2+}$  на *C. demersum*), через два тижні токсичний ефект посилюється, що супроводжується кількісною кумуляцією купруму в рослинних організмах. Це свідчить про те, що відгук фізіолого-біохімічних процесів макрофітів на зростання концентрації йонів металів у водному середовищі слід оцінювати за результатами тривалих (14-добових) досліджень, після проходження організмом усіх фаз інтоксикації та адаптації.

Наслідки двотижневого впливу  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  на занурену вищу водяну рослину *C. demersum* і зелені нитчасті водорості *Cl. glomerata* показані у таблиці. 1. У хронічних дослідках було виявлено, що за  $0,5 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Cu}^{2+}$  або  $5\text{--}20 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Mn}^{2+}$  у водному середовищі відбувається зростання інтенсивності фотосинтезу, темного дихання, а також збільшення вмісту хлорофілів а і b та каротиноїдів у *C. demersum*, а за  $0,5\text{--}5 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Cu}^{2+}$  або  $5\text{--}50 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Mn}^{2+}$  – у *Cl. glomerata*, що спричиняє зростання продуктивності макрофітів. Це підтверджується і результатами робіт [6, 7]. Перевищення таких концентрацій металів у воді призводить до пригнічення процесів газообміну та зменшення вмісту пігментів у досліджуваних водяних макрофітах.

У таблиці 1 показано, що у разі підвищення концентрації  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у

водному середовищі пригнічення деяких із досліджуваних процесів може супроводжуватися стимуляцією інших. Так, за дії  $2\text{--}5 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Cu}^{2+}$  або  $50 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Mn}^{2+}$  на *C. demersum*, а також  $10 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Cu}^{2+}$  або  $100 \text{ мкг/дм}^3 \text{ Mn}^{2+}$  на *Cl. glomerata* поряд зі зниженням інтенсивності фотосинтезу і концентрації хлорофілу а відбувається збільшення інтенсивності темного дихання і зростання відносного вмісту хлорофілу b та каротиноїдів. Це свідчить про напруження адаптивних механізмів рослинних організмів, що протидіють інтоксикації йонами металів, оскільки активація поглинання  $\text{O}_2$  є захисною реакцією на нестачу енергетичних запасів, що виникає в результаті пригнічення фотосинтезу [8], а підвищення вмісту каротиноїдів спрямоване проти фотодеструкції і пероксидного окиснення хлорофілів [2].

### 1. Результати впливу $\text{Cu}^{2+}$ і $\text{Mn}^{2+}$ (протягом 14 діб) на газообмінні функції й пігментну систему водяних макрофітів

| Йон металу | Концентрація йонів у водному середовищі, мкг/дм³ | Макрофіти                                          | Наслідки впливу                                                                                                                                            |
|------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cu²⁺       | 0,5                                              | Занурена вища водяна рослина<br><i>C. demersum</i> | Зростання інтенсивності фотосинтезу і темного дихання, збільшення вмісту хлорофілів а і b та каротиноїдів                                                  |
| Mn²⁺       | 5–20                                             |                                                    |                                                                                                                                                            |
| Cu²⁺       | 0,5–5                                            | Зелені нитчасті водорості<br><i>Cl. glomerata</i>  |                                                                                                                                                            |
| Mn²⁺       | 5–50                                             |                                                    |                                                                                                                                                            |
| Cu²⁺       | 2–5                                              | Занурена вища водяна рослина<br><i>C. demersum</i> | Зменшення інтенсивності фотосинтезу, збільшення інтенсивності темного дихання; зменшення вмісту хлорофілу а, збільшення вмісту хлорофілу b та каротиноїдів |
| Mn²⁺       | 50                                               |                                                    |                                                                                                                                                            |
| Cu²⁺       | 10                                               | Зелені нитчасті водорості<br><i>Cl. glomerata</i>  |                                                                                                                                                            |
| Mn²⁺       | 100                                              |                                                    |                                                                                                                                                            |
| Cu²⁺       | 10–20                                            | Занурена вища водяна рослина<br><i>C. demersum</i> |                                                                                                                                                            |
| Mn²⁺       | 100–200                                          |                                                    |                                                                                                                                                            |
| Cu²⁺       | 20                                               | Зелені нитчасті водорості<br><i>Cl. glomerata</i>  |                                                                                                                                                            |
| Mn²⁺       | 200                                              |                                                    |                                                                                                                                                            |

## 2. Накопичення металів водними макрофітами за зростання концентрації $\text{Cu}^{2+}$ і $\text{Mn}^{2+}$ у водному середовищі

| Макрофіти                     | Купрум                                                                |                                                                                  |                                                                                  | Манган                                                                |                                                                                  |                                                                                  |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|                               | Концентрація $\text{Cu}^{2+}$ у водному середовищі, $\text{мкг/дм}^3$ | Накопичення Cu через 1 добу, $\text{мкг/г}$ сухої маси ( $M \pm m$ , $n = 4-5$ ) | Накопичення Cu через 14 діб, $\text{мкг/г}$ сухої маси ( $M \pm m$ , $n = 4-5$ ) | Концентрація $\text{Mn}^{2+}$ у водному середовищі, $\text{мкг/дм}^3$ | Накопичення Mn через 1 добу, $\text{мкг/г}$ сухої маси ( $M \pm m$ , $n = 4-5$ ) | Накопичення Mn через 14 діб, $\text{мкг/г}$ сухої маси ( $M \pm m$ , $n = 4-5$ ) |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Контроль                                                              | $8,1 \pm 0,2$                                                                    | $8,0 \pm 0,3$                                                                    | Контроль                                                              | $83,2 \pm 1,6$                                                                   | $81,5 \pm 1,8$                                                                   |
|                               | 0,5                                                                   | $8,8 \pm 0,1$                                                                    | $11,1 \pm 0,6$                                                                   | 5                                                                     | $90,0 \pm 2,0$                                                                   | $133,1 \pm 11,0$                                                                 |
|                               | 2                                                                     | $9,9 \pm 0,2$                                                                    | $12,9 \pm 0,7$                                                                   | 20                                                                    | $99,3 \pm 2,5$                                                                   | $211,7 \pm 23,8$                                                                 |
|                               | 5                                                                     | $19,2 \pm 0,6$                                                                   | $16,2 \pm 1,07$                                                                  | 50                                                                    | $103,4 \pm 3,6$                                                                  | $394,5 \pm 49,3$                                                                 |
|                               | 10                                                                    | $18,0 \pm 0,3$                                                                   | $25,2 \pm 2,2$                                                                   | 100                                                                   | $148,1 \pm 7,1$                                                                  | $542,1 \pm 36,5$                                                                 |
|                               | 20                                                                    | $23,9 \pm 0,5$                                                                   | $40,6 \pm 4,4$                                                                   | 200                                                                   | $201,9 \pm 12,4$                                                                 | $775,6 \pm 72,6$                                                                 |
| <i>Cladophora glomerata</i>   | Контроль                                                              | $12,2 \pm 0,9$                                                                   | $12,1 \pm 0,6$                                                                   | Контроль                                                              | $73,2 \pm 2,5$                                                                   | $78,0 \pm 3,1$                                                                   |
|                               | 0,5                                                                   | $14,5 \pm 0,3$                                                                   | $16,4 \pm 0,5$                                                                   | 5                                                                     | $93,7 \pm 5,1$                                                                   | $144,8 \pm 9,5$                                                                  |
|                               | 2                                                                     | $19,9 \pm 1,2$                                                                   | $28,7 \pm 2,3$                                                                   | 20                                                                    | $147,2 \pm 8,3$                                                                  | $290,0 \pm 13,8$                                                                 |
|                               | 5                                                                     | $30,3 \pm 2,5$                                                                   | $49,8 \pm 3,9$                                                                   | 50                                                                    | $273,9 \pm 8,9$                                                                  | $623,5 \pm 14,9$                                                                 |
|                               | 10                                                                    | $49,0 \pm 3,4$                                                                   | $88,6 \pm 3,7$                                                                   | 100                                                                   | $407,8 \pm 13,1$                                                                 | $1043,2 \pm 27,2$                                                                |
|                               | 20                                                                    | $75,6 \pm 5,6$                                                                   | $149,9 \pm 7,0$                                                                  | 200                                                                   | $737,0 \pm 23,6$                                                                 | $1874,2 \pm 71,9$                                                                |

Результати визначення вмісту купруму і мангану у досліджуваних макрофітах за умов гострого і хронічного експериментів показали накопичення значної кількості металів як у зануреній вищій водній рослині *C. demersum*, так і в зелених нитчастих водоростях *Cl. glomerata* (табл. 2). Одержані дані свідчать про те, що зменшення інтенсивності процесів газообміну та вмісту пігментів у *Cl. glomerata* виявляється при значно більшому накопиченні металів ( $> 50 \text{ мкг Cu/г}$  сухої маси і  $> 1000 \text{ мкг Mn/г}$  сухої маси), ніж у *C. demersum* ( $> 16 \text{ мкг Cu/г}$  сухої маси та  $> 300 \text{ мкг Mn/г}$  сухої маси). Таким чином, у зелених нитчастих водоростях *Cl. glomerata* накопичення значної кількості металів відбувається без порушення фізіологічних функцій.

### Висновки і перспективи.

Результати досліджень, які показали накопичення значної кількості металів в зелених нитчастих водоростях *Cl. glomerata* без порушення фізіологічних функцій свідчать про відносну стійкість цих водоростей до надлишку  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у водному середовищі, що забезпечується механізмами адаптації. На основі аналізу шляхів адаптації гідрофітів до збільшення концентрації важких металів у воді можна зробити висновок, що у нитчастих водоростей вона здійснюється внаслідок інактивації  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у клітинах шляхом утворення комплексів або ізоляції.

Менше накопичення купруму і мангану *C. demersum* можна пояс-

нити наявністю у вищих водяних рослин захисних гомеостатичних механізмів, які підтримують таку концентрацію металів у клітинах, що не призводить до порушення метаболізму, тобто контролюють рівновагу між процесами їх накопичення і виведення [11] та функціонують при невеликих концентраціях  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  у водному середовищі (в межах 0,5–2 ГДК). У разі перевищення таких концентрацій, очевидно, відбувається порушення цих механізмів, внаслідок чого в тканини занурених вищих водяних рослин проникає значна кількість металів. Одночасно високий ступінь накопичення купруму і мангану нитчастими водоростями свідчить про недостатній розвиток систем регуляції вмісту металів. Це, ймовірно, пов'язано з нижчим рівнем організації зелених нитчастих водоростей у порівнянні з вищими водяними рослинами.

Такі дослідження щодо виявлення більш та менш чутливих видів гідрофітів є важливими для оцінки стійкості водної екосистеми в цілому до забруднення важкими металами. Це пов'язано з тим, що стійкі види рослинних організмів можуть витримувати досить високі концентрації важких металів і сприяти формуванню стійкого угруповання. Чутливі ж гідрофіти гинуть, що призводить до зменшення видового різноманіття в екосистемі, зниження біопродуктивності водойми. Тому, базуючись на наших даних, можна стверджувати, що у разі потрапляння у водойми надлишкових кількостей йонів купруму та мангану, в першу чергу, пригнічуватиметься життєдіяльність занурених вищих водяних рослин і в угрупованнях будуть домінувати нитчасті водорості.

## References

1. Burdin K.S., Krupina M.V., Saveliev I.B. (1990). Fiziologicheskiye mekhanizmy regulirovaniya soderzhaniya tyazhelykh metall-ov v morskikh makrovodoroslyak [Physiological mechanisms of regulation of heavy metals content in marine macroalgae] // Vestnik Mosk. University. Ser. 16, 2, 35–42.
2. Zolotukhina, Ye.Yu., Gavrilenko, Ye.Ye., Burdin, K.S. (1987). Vliyaniye ionov tsinka i medi na fotosintez i dykhaniye morskikh vodorosley [Influence of zinc and copper ions on photosynthesis and respiration of marine algae] // Physiol. plants, 34 (2), 266–275.
3. Merezhko, A.I., Pasichnaya, Ye.A., Pasichnyy, A. P. (1996). Biotestirovaniye toksichnosti vodnoy sredy po funktsional'nym kharakteristikam makrofitov [Bio-testing of aquatic toxicity by using functional characteristics of macrophytes]. Hydrobiol. Journ., 32 (1), 87–94.
4. Topachevskiy, A.V. ed. (1975). Metody fiziologo-biokhimicheskogo issledovaniya vodorosley v gidrobiologicheskoy praktike [Methods of physiological and biochemical study of algae in hydrobiological practice]. Kiev: Naukova dumka, 247.
5. Nikanorov A.M., Zhulidov A.V. (1991). Biomonitring metallor v presnovodnykh ekosistemakh [Biomonitoring of metals in freshwater ecosystems]. Leningrad, Russia: Gidrometeoizdat, 312.
6. Pasichna, O.O. (2017). Content of pigments in *Cladophora glomerata* under the influence of copper (II) and manganese (II) ions in the aquatic environment. Hydrob. J., 53 (1), 60–68.
7. Pasichnaya, Ye.A., Arsan, O.M., Godlevskaya, O.A. (2009). Respiratory metabolism of the higher aquatic macrophytes under the effect of manganese ions (II) of the aquatic environment. Hydrob. J., 45 (6), 97–109.
8. Polishchuk R.A. (1973). Reaktsiya makrofitov obrastaniya na vozdeystviye ionov tyazhelykh metallor [The reaction of foul-

- ing macrophytes on the effect of heavy metal ions] // Biological basis of anti-fouling. – Kiev: Naukova dumka, 155–193.
9. Chernavina, I.A. (1970). Fiziologiya i biokhimiya mikroelementov [Physiology and biochemistry of microelements]. M., Vysshaya shkola, 310.
  10. El-Khatib, A. A., Hegazy, A. K., Abo-El-Kassem, A. M. (2014). Bioaccumulation potential and physiological responses of aquatic macrophytes to Pb pollution. Int. J. Phytoremediation., 16 (1), 29–45.
  11. Fox, G.G., Loughman, B.C., McCallan, N.R. et al (1994). NMR studies of manganese uptake of manganese pretreated plants. Biol. Plant., 36 (Supple), 150.
  12. Gcipta, M., Sinha, S., Chandra, P. (1995). Uptake and toxicity of metals in *Scirpus lacustris* L. and *Bacopa monnieri* L. J. Environ. Sci. and Health. A, 29 (10), 2185–2202.
  13. Jarvis, T.A., Bielmyer-Fraser, G.K. (2015). Accumulation and effects of metal mixtures in two seaweed species. Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol., 171, 28–33.
  14. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids. Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148, 350–382.
  15. Singh, A., Kumar, C.S., Agarwal, A. (2013). Effect of lead and cadmium on aquatic plant *Hydrilla verticillata*. J. Environ Biol., 34 (6), 1027–1031.

---

**O. O. Pasichna, O. M. Arsan, O. O. Godlevska, L. O. Gorbatiuk, T. V. Vitovetska (2019). PECULIARITIES OF HEAVY METALS INFLUENCE ON SUBMERGED HIGHER AQUATIC PLANTS AND GREEN FILAMENTOUS ALGAE. SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 84–91. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13083>**

**Abstract.** The study of short-term (during of 1 day) and chronic (14 days) influence of copper (II) and manganese (II) ions on photosynthesis, respiration, chlorophylls a, b and carotenoids of submerged higher water plant *Ceratophyllum demersum* L. and green filamentous algae *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. was done. The peculiarities of metals accumulation by the macrophytes with increasing of concentration of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  in the aquatic environment and exposure time were established. The connection between sensitivity of gas exchange functions and pigment system of the macrophytes to influence of the metals ions and their accumulation by plant organisms was revealed. The assessment of adaptive capacity of the investigated macrophytes to increasing  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  concentration in the aquatic environment was carried out.

**Keywords:** copper, manganese, submerged higher aquatic plants, green filamentous algae, photosynthesis, respiration, pigments, adaptation

---

---

**Е. А. Пасичная, О. М. Арсан, О. А. Годлевская, Л. О. Горбатюк, Т. В. Витовецкая (2019). ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПОГРУЖЕННЫЕ ВЫСШИЕ ВОДНЫЕ РАСТЕНИЯ И ЗЕЛЕННЫЕ НИТЧАТЫЕ ВОДОРОСЛИ. SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 84–91. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13083>**

**Аннотация.** Проведено исследование кратковременного (продолжительностью 1 сутки) и хронического (14 суток) воздействия ионов меди (II) и марганца (II) на фотосинтез, дыхание, содержание хлорофиллов, а b и каротиноидов на погруженное высшее

водное растение *Ceratophyllum demersum* L. и зеленые нитчатые водоросли *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. Установлены закономерности накопления металлов макрофитами при увеличении концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  в водной среде и времени экспозиции. Выявлена связь между чувствительностью газообменных функций и пигментной системы макрофитов к воздействию ионов металлов и уровнем их накопления в растительных организмах. Проведена оценка адаптивной способности исследуемых макрофитов к возрастанию концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  в водной среде.

**Ключевые слова:** медь, марганец, погруженные высшие водные растения, зеленые нитчатые водоросли, фотосинтез, дыхание, пигменты, адаптация

---

## ОСОБЛИВОСТІ НАКОПИЧЕННЯ $^{137}\text{Cs}$ У ФІТОМАСІ ВИДІВ ТРАВ'ЯНО-ЧАГАНИЧКОВОГО ЯРУСУ ОЛІГОТРОФНИХ ТА МЕЗОТРОФНИХ БОЛІТ ЗАХІДНОГО ПОЛІССЯ УКРАЇНИ

---

**О. В. ГОЛОВКО**, начальник відділу наукової, еколого-освітньої роботи  
та рекреаційного благоустрою, Національний природний парк  
«Дермансько-Острозький»

E-mail: oksana\_golovko@ukr.net

**О. О. ОРЛОВ**, кандидат біологічних наук, старший науковий  
співробітник, завідувач лабораторії радіаційної екології лісу,  
Поліський філіал Українського ордена "Знак Пошани" науково-дослідного  
інституту лісового господарства і агролісомеліорації

ім. Г.М. Висоцького

E-mail: orlov.botany@gmail.com

**Анотація.** Проаналізовано особливості накопичення  $^{137}\text{Cs}$  видами трав'яно-чагарничкового ярусу оліготрофних та мезотрофних боліт на території Західного Полісся України. Дослідження проведені протягом 2004 – 2012 рр. на півночі Рівненської області, де було закладено 15 пробних площ у різних типах верхових та перехідних боліт. На пробних площах досліджено щільність забруднення радіонуклідом торфово-болотних ґрунтів, визначено питому активність  $^{137}\text{Cs}$  у видах судинних рослин та визначено коефіцієнти переходу (КП) для кожного виду.

Побудовано ранжовані ряди видів за цією ознакою в різних типах боліт. Виявлено, що на кожній дослідній ділянці спостерігається значне коливання питомої активності радіонукліду в досліджених видах.

Визначено, що для оліготрофних боліт найбільшими рівнями накопичення радіонукліду характеризувалися види обводнених мочажин та представники родини осокові. Найменші значення КП для оліготрофних боліт відмічено в ерикоїдних чагарничків, що зростають на мікропідвищеннях. Для мезотрофних боліт найвищі значення КП визначені для папоротеподібних, осок та видів обводнених мочажин, а також для деяких видів чагарничків; найменшими значеннями характеризувалися дрібні болотні верби. Показано, що види росл

**Ключові слова:**  $^{137}\text{Cs}$ , оліготрофне болото, мезотрофне болото, трав'яно-чагарничковий ярус, коефіцієнт переходу

### Актуальність.

Болотні екосистеми, які займають значну частку території Західного Полісся, є критичними з позиції радіонуклідного забруднення довкілля. Передусім це визначається специфікою процесів болотоутворення та особливостями біологічних кругообігів речовин у таких екосистемах, де одні вищі рослини (сфагновий покрив) є субстратом для інших вищих рослин (судинних). Судинні рослини в оліготрофних та мезотрофних болотах отримують більшу частку мінеральних елементів, у тому числі радіонуклідів, зі сфагнових мохів, де їхній уміст є найвищим серед усіх компонентів болотної екосистеми. Як наслідок – у судинних рослин таких боліт питома активність  $^{137}\text{Cs}$  за тієї самої щільності забруднення території є значно вищою порівняно із суходільними екосистемами [8, 12].

### Аналіз останніх досліджень та публікацій

Особливостям розподілу активності  $^{137}\text{Cs}$  у трав'яно-чагарничковому ярусі болотних біогеоценозів Полісся присвячена значна кількість публікацій. Так, білоруські дослідники зазначають, що в умовах оліготрофних боліт найвищими рівнями коефіцієнтів переходу характеризуються такі види, як *Ledum palustre* L., *Oxycoccus palustris* Pers., *Vaccinium uliginosum* L. [3]. Частина публікацій присвячена особливостям розподілу активності  $^{137}\text{Cs}$  у болотних біогеоценозах Центрального та Західного Полісся, у тому числі і в трав'яно-чагарничковому ярусі [5, 7, 10]. Багато публікацій мають прикладний характер, зокрема присвячені акуму-

ляції  $^{137}\text{Cs}$  головними лікарськими та господарсько цінними рослинами в різних типах умов місцезростання Українського Полісся, в тому числі в гігморфних умовах [4, 6]. Заразом судинні рослини можуть слугувати індикаторами радіоактивного забруднення природних екосистем [9]. Тому вивчення особливостей накопичення  $^{137}\text{Cs}$  видами трав'яно-чагарничкового ярусу боліт має важливе значення.

**Мета дослідження** – вивчення особливостей накопичення  $^{137}\text{Cs}$  у фітомасі видів трав'яно-чагарничкового ярусу мезотрофних та оліготрофних боліт Західного Полісся.

### Матеріали і методи дослідження.

Дослідження проведені в 2004 – 2012 рр. Пробні площі (ПП) закладені за стандартною методикою [11] у найбільш типових екосистемах мезотрофних та оліготрофних боліт. На ПП були вивчені геоморфологічні особливості, флористичний склад та структура фітоценозу, ґрунти. Характеристика закладених ПП наведена в таблиці 1. Видовий склад судинних рослин вивчали за А. А. Корчагіним [11]. Латинські назви судинних рослин наведено за [2].

Кожен вид трав'яно-чагарничкового ярусу на спектрометричний аналіз відбирали із трьох облікових ділянок площею  $1\text{ м}^2$ . Зразки очосу і торфу непорушеної стратиграфії відбирали із трьох ґрунтових профілів торфовим буром Гіллера, колонками висотою по 5 см до глибини 100 см від денної поверхні. Питому активність  $^{137}\text{Cs}$  у зразках ґрунту та рослинності визначали на багатоканальному спектроаналізаторі СЕГ-001 із сцинтиляційним детектором БДЕГ-20 Р2.

## 1. Коротка характеристика закладених пробних площ

| Індекс ПП | Місцезнаходження                                    | Am, кБк/м <sup>2</sup> /<br>Ки/км <sup>2</sup> | Тип болота. Ценоз                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10рзбо    | РПЗ, Білоозерське л-во, кв. 17, вид. 23             | 48,42 / 1,31                                   | Мезо-евтрофне. <i>Betula pubescens</i> Ehrh. + <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. + <i>Sphagnum obtusum</i> Warnst.                                                                                                                        |
| 25рз      | РПЗ, Карасинське л-во, кв. 39, вид. 47              | 102,48 / 2,77                                  | Мезотрофне. <i>Betula pubescens</i> Ehrh. + <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Carex nigra</i> (L.) Reichenb. + <i>Sphagnum palustre</i> L. + <i>Polytrichum commune</i> Hedw.                                                           |
| 27/3      | РПЗ, Більське л-во, кв. 27, вид. 3                  | 39,49 / 1,07                                   | Мезотрофне. <i>Betula pendula</i> Roth. + <i>Scheuchzeria palustris</i> L. + <i>Menyanthes trifoliata</i> L. + <i>Sphagnum fallax</i> (H.Klinggr.) H.Klinggr. + <i>S. magellanicum</i> Brid.                                          |
| 9рзбо     | РПЗ, Білоозерське л-во, кв. 38, вид. 2              | 74,63 / 2,02                                   | Мезотрофне. <i>Salix lapponum</i> L. + <i>Oxycoccus palustris</i> Pers. + <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. + <i>C. limosa</i> L. + <i>Sphagnum fallax</i> + <i>S. denticulatum</i> Brid.                                                 |
| 1-09      | РПЗ, Карасинське л-во, кв. 15, вид. 21              | 101,37 / 2,74                                  | Мезотрофне. <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. + <i>Sphagnum fallax</i>                                                                                                                                                                    |
| 40-19     | РПЗ, Більське л-во, кв. 40, вид. 19                 | 42,41 / 1,15                                   | Мезотрофне. <i>Scheuchzeria palustris</i> L. + <i>Carex limosa</i> L. + <i>Sphagnum fallax</i>                                                                                                                                        |
| 74        | РПЗ, Старосільське л-во, кв. 12, вид. 16            | 158,51 / 4,28                                  | Мезотрофне. <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. + <i>Sphagnum fallax</i> + <i>Sphagnum obtusum</i>                                                                                                                                          |
| 75        | РПЗ, Старосільське л-во, кв. 20, вид. 22            | 120,97 / 3,27                                  | Мезотрофне. <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. + <i>Sphagnum papillosum</i> Lindb. + <i>Sphagnum fallax</i>                                                                                                                                |
| 72        | РПЗ, Старосільське л-во, кв. 7, вид. 1              | 66,26 / 1,79                                   | Мезо-оліготрофне. <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Eriophorum vaginatum</i> L. + <i>Oxycoccus palustris</i> + <i>Sphagnum magellanicum</i>                                                                                             |
| 8/20      | РПЗ, Більське л-во, кв. 8, вид. 20                  | 27,88 / 0,75                                   | Оліго-мезотрофне. <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Eriophorum vaginatum</i> L. + <i>Scheuchzeria palustris</i> L. + <i>Oxycoccus palustris</i> Pers. + <i>Sphagnum fallax</i> + <i>S. magellanicum</i>                                 |
| 46/2      | РПЗ, Більське л-во, кв. 46, вид. 2                  | 31,6 / 0,85                                    | Оліго-мезотрофне. <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Eriophorum vaginatum</i> L. + <i>Oxycoccus palustris</i> Pers. + <i>Ledum palustre</i> L. + <i>Sphagnum fallax</i> + <i>S. magellanicum</i>                                         |
| 7рзбо     | РПЗ, Білоозерське л-во, кв. 39, вид. 1              | 79,79 / 2,16                                   | Оліго-мезотрофне. <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Carex rostrata</i> L. + <i>Eriophorum vaginatum</i> L. + <i>Rhynchospora alba</i> (L.) Vahl. + <i>Sphagnum fallax</i> + <i>S. magellanicum</i>                                      |
| 8рзбо     | РПЗ, Білоозерське л-во, кв. 31, вид. 1              | 49,14 / 1,33                                   | Оліго-мезотрофне. <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud. + <i>Eriophorum vaginatum</i> L. + <i>Sphagnum fallax</i>                                                                           |
| 1-10      | Рокитнівський ДЛГ, Глиннівське л-во, кв. 98, вид. 3 | 34,09 / 0,92                                   | Оліготрофне. <i>Pinus sylvestris</i> L. + <i>Eriophorum vaginatum</i> L. + <i>Ledum palustre</i> L. + <i>Oxycoccus palustris</i> Pers. + <i>Sphagnum angustifolium</i> (C.E.O.Jensen ex Russow) C.E.O.Jensen + <i>S. magellanicum</i> |
| 73        | РПЗ, Старосільське л-во, кв. 7, вид. 1              | 148,19 / 4,03                                  | Оліготрофне. <i>Rhynchospora alba</i> (L.) Vahl. + <i>Scheuchzeria palustris</i> L. + <i>Sphagnum papillosum</i> + <i>Sphagnum fallax</i> + <i>Sphagnum flexuosum</i> Dozy et Molk.                                                   |

\*РПЗ – Рівненський природний заповідник, ДЛГ – Держлісгосп, л-во – лісництво, кв. – квартал, вид. – виділ.

Відносна похибка вимірювання складала 15-30 % залежно від активності зразка.

Показником інтенсивності акумуляції  $^{137}\text{Cs}$  видами рослин із ґрунту слугував коефіцієнт переходу, який розраховували за формулою [1]:

$$\text{КП} = A_m / A_s,$$

де КП – коефіцієнт переходу;  $A_m$  – питома активність  $^{137}\text{Cs}$  у фітомасі, Бк/кг;  $A_s$  – щільність забруднення 40 см шару торфово-болотного ґрунту  $^{137}\text{Cs}$ , кБк/м<sup>2</sup>. Таким чином, в усіх випадках значення КП мали загальноприйнятну розмірність – м<sup>2</sup>кг<sup>-1</sup>10<sup>-3</sup>.

Для статистичної обробки експериментальних даних було використано стандартний пакет “Excel”.

### Результати дослідження та їх обговорення.

Верхові болотні комплекси мали найбільшій видовий склад угруповань. Загальне проєктивне покриття трав'яно-чагарничкового ярусу становило від 50-55 % до 80-85 %. На досліджених болотах, у більшості випадків, був чітко виражений мікрорельєф – сфагнові купини та міжкупинні обводнені зниження. На досліджених пробних площах, що представляли оліготрофні та олігомезотрофні болота, зростало від 5 до 13 видів трав'янистих та чагарничкових рослин. Із них *Andromeda polifolia*, *Oxycoccus palustris* та *Eriophorum vaginatum* зростали на всіх досліджених ділянках боліт; *Ledum palustre* та *Drosera rotundifolia* L. – на 6 пробних площах, *Carex limosa* та *Rhynchospora alba* були спільними для 5 пробних площ. Загалом досліджено вміст  $^{137}\text{Cs}$  у 16 видів рослин верхових боліт.

Досліджені ділянки мезотрофних боліт характеризувались різним видо-

вим складом рослинних угруповань, обводненістю, щільністю забруднення ґрунту радіонуклідом. Загальне проєктивне покриття трав'яно-чагарничкового ярусу коливалось від 40-45 % до 90-95 %. Цей ярус на більшості пробних площ був мозаїчним, залежав від умов мікрорельєфу та диференціювався на види підвищених купин та обводнених міжкупинних знижень – мочажин. Видовий склад мезотрофних боліт представлений 7-15 видами, з них багато видів є спільними для різних ПП. Так, *Carex lasiocarpa* Ehrh. відмічалась для 7 досліджених пробних площ, *Lysimachia vulgaris* L. та *Peucedanum palustre* (L.) Moench. – для 5 ПП, *Oxycoccus palustris* та *Eriophorum vaginatum* – для 4 ПП. Всього досліджено вміст  $^{137}\text{Cs}$  у 30 видів трав'янистих та чагарничкових рослин мезотрофних боліт.

Дані досліджень демонструють важливі закономірності, що є спільними для всіх досліджених болотних екосистем. Так, аналіз умісту  $^{137}\text{Cs}$  у видах трав'яно-чагарничкового ярусу різних типів боліт дозволяє зробити загальний висновок про те, що на кожній пробній площі питома активність  $^{137}\text{Cs}$  у представників ярусу значно варіювала. Міжвидові відмінності вмісту радіонукліду у представників даного ярусу складали на мезотрофних болотах від 1,8 рази на ПП-75 до 14,63 рази на ПП-9рзбо; на оліготрофних – від 2,9 рази на ПП-46/2 до 14,9 рази на ПП-72.

Також характерним для всіх пробних площ є значне варіювання питомиї активності  $^{137}\text{Cs}$  у кожному з проаналізованих видів, що загалом відбиває мікроосередковий характер радіоактивних випадань. Величина коефіцієнту варіювання (V, %) питомиї активності  $^{137}\text{Cs}$  у представниках

трав'яно-чагарничкового ярусу була досить високою (для більшості видів на досліджених ділянках боліт – 15-25 %, для значної частини видів – 35-55 %). Відносна похибка середнього значення становила в більшості випадків 8-15 %.

Нами було розраховано коефіцієнти переходу  $^{137}\text{Cs}$  із ґрунту у види трав'яно-чагарничкового ярусу різних типів боліт. Узагальнені дані за значеннями КП для видів рослин різних типів боліт наведено в таблицях 2 і 3.

Аналіз значень КП  $^{137}\text{Cs}$  для видів трав'яно-чагарничкового ярусу показав, що в межах навіть однієї дослідженої ПП відмінності значень даного показника для різних видів можуть відрізнятися на порядок, що підтверджує також розподіл питомої активності; по друге, для одних і тих самих видів на різних дослідних ді-

лянках значення КП відрізняються, зокрема, на ділянках мезотрофних боліт від 1,5 до 8 разів, на оліготрофних – від 2 до 10 разів.

Загалом для оліготрофних боліт найбільшими рівнями накопичення радіонуклідів характеризувались види обводнених мочажин – *Calla palustris* та *Menyanthes trifoliata* та представники родини Cyperaceae (*Carex nigra*, *C. limosa*, *C. lasiocarpa*, *C. rostrata*). Високим значеннями КП  $^{137}\text{Cs}$  характеризувався також *Calluna vulgaris*. Найменші значення КП  $^{137}\text{Cs}$  для оліготрофних боліт відмічено в чагарничків із родини Ericaceae, що зростають на підвищених купинах (*Oxycoccus palustris*, *Vaccinium uliginosum*, *Andromeda polifolia*).

Для мезотрофних боліт найвищі значення КП  $^{137}\text{Cs}$  визначені для папротеподібних *Dryopteris*

## 2. Параметри КП для видів судинних рослин оліготрофних боліт

| №   | Вид                                               | Значення КП $^{137}\text{Cs}$ , $\text{м}^2\text{кг}^{-1}\cdot 10^{-3}$ |                             |
|-----|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
|     |                                                   | середнє                                                                 | мінімальне –<br>максимальне |
| 1.  | <i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hull                 | 114,31                                                                  | 114,31                      |
| 2.  | <i>Carex nigra</i> (L.) Reichard                  | 95,65                                                                   | 95,65                       |
| 3.  | <i>Calla palustris</i> L.                         | 76,04                                                                   | 76,04                       |
| 4.  | <i>Menyanthes trifoliata</i> L.                   | 62,64 ± 15,2                                                            | 42,84 – 92,53               |
| 5.  | <i>Carex limosa</i> L.                            | 55,45 ± 16,5                                                            | 25,10 – 113,37              |
| 6.  | <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh.                     | 44,12 ± 29,3                                                            | 14,84 – 73,39               |
| 7.  | <i>Carex rostrata</i> Stokes                      | 39,22 ± 10,6                                                            | 27,37 – 60,34               |
| 8.  | <i>Eriophorum angustifolium</i> Honck             | 34,80 ± 10,3                                                            | 20,18 – 54,70               |
| 9.  | <i>Rhynchospora alba</i> L.                       | 33,60 ± 10,7                                                            | 7,15 – 61,31                |
| 10. | <i>Ledum palustre</i> L.                          | 25,62 ± 9,4                                                             | 5,89 – 63,86                |
| 11. | <i>Eriophorum vaginatum</i> L.                    | 22,27 ± 4,3                                                             | 7,24 – 40,38                |
| 12. | <i>Drosera rotundifolia</i> L.                    | 19,42 ± 4,3                                                             | 5,48 – 33,72                |
| 13. | <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud | 16,81 ± 3,5                                                             | 8,60 – 24,83                |
| 14. | <i>Oxycoccus palustris</i> Pers. (пагони)         | 15,39 ± 3,7                                                             | 3,99 – 37,66                |
| 15. | <i>Vaccinium uliginosum</i> L.                    | 14,24 ± 2,2                                                             | 8,65 – 18,30                |
| 16. | <i>Andromeda polifolia</i> L.                     | 10,08 ± 2,4                                                             | 2,82 – 21,99                |

## 3. Параметри КП для видів судинних рослин мезотрофних боліт

| №   | Вид                                               | Значення КП $^{137}\text{Cs}$ , $\text{м}^2\text{кг}^{-1} 10^{-3}$ |                             |
|-----|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
|     |                                                   | середнє                                                            | мінімальне –<br>максимальне |
| 1.  | <i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) H.P. Fuchs  | 143,64                                                             | 143,64                      |
| 2.  | <i>Thelypteris palustris</i> Schott               | 78,48 ± 18,7                                                       | 47,20 – 111,75              |
| 3.  | <i>Vaccinium myrtillus</i> L.                     | 73,38                                                              | 73,38                       |
| 4.  | <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.                   | 71,07                                                              | 71,07                       |
| 5.  | <i>Ledum palustre</i> L.                          | 61,67                                                              | 61,67                       |
| 6.  | <i>Menyanthes trifoliata</i> L.                   | 43,65 ± 21,1                                                       | 10,42 – 82,88               |
| 7.  | <i>Carex limosa</i> L.                            | 38,25 ± 16,2                                                       | 10,65 – 66,78               |
| 8.  | <i>Drosera rotundifolia</i> L.                    | 37,47 ± 22,7                                                       | 14,74 – 60,19               |
| 9.  | <i>Carex nigra</i> (L.) Reichard                  | 35,73 ± 6,3                                                        | 26,20 – 66,35               |
| 10. | <i>Naumburgia thyrsiflora</i> Moench              | 35,12 ± 2,2                                                        | 28,1 – 41,54                |
| 11. | <i>Equisetum fluviatile</i> L.                    | 34,55 ± 13,3                                                       | 10,26 – 56,05               |
| 12. | <i>Andromeda polifolia</i> L.                     | 32,46 ± 15,9                                                       | 16,51 – 48,40               |
| 13. | <i>Oxycoccus palustris</i> Pers.                  | 31,62 ± 10,5                                                       | 16,74 – 62,45               |
| 14. | <i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh.                     | 31,00 ± 8,6                                                        | 8,79 – 73,77                |
| 15. | <i>Eriophorum angustifolium</i> Honk.             | 30,41 ± 1,7                                                        | 24,00 – 36,70               |
| 16. | <i>Calamagrostis canescens</i> (Weber) Roth       | 28,08 ± 1,4                                                        | 26,20 – 33,60               |
| 17. | <i>Carex omskiana</i> Meinsh                      | 27,68 ± 3,1                                                        | 15,70 – 42,50               |
| 18. | <i>Pedicularis palustris</i> L.                   | 25,33 ± 4,7                                                        | 17,90 – 33,90               |
| 19. | <i>Carex elongata</i> L.                          | 23,03                                                              | 23,03                       |
| 20. | <i>Eriophorum vaginatum</i> L.                    | 22,33 ± 10,2                                                       | 8,34 – 52,60                |
| 21. | <i>Rhynchospora alba</i> (L.) Vahl                | 22,11 ± 11,0                                                       | 11,12 – 33,10               |
| 22. | <i>Lysimachia vulgaris</i> L.                     | 20,39 ± 3,1                                                        | 8,37 – 25,37                |
| 23. | <i>Potentilla palustris</i> (L.) Scop.            | 17,74 ± 1,8                                                        | 15,21 – 23,18               |
| 24. | <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud | 17,55 ± 9,0                                                        | 5,20 – 44,09                |
| 25. | <i>Lithrum salicaria</i> L.                       | 16,10 ± 3,2                                                        | 9,80 – 19,70                |
| 26. | <i>Peucedanum palustre</i> (L.) Moench            | 14,16 ± 1,9                                                        | 7,46 – 17,46                |
| 27. | <i>Scutellaria galericulata</i> L.                | 11,39                                                              | 11,39                       |
| 28. | <i>Salix aurita</i> L.                            | 9,58 ± 2,4                                                         | 3,83 – 15,50                |
| 29. | <i>Salix rosmarinifolia</i> L.                    | 7,34 ± 2,1                                                         | 4,68 – 11,46                |
| 30. | <i>Salix</i> sp.                                  | 7,03 ± 1,2                                                         | 4,60 – 8,60                 |

*carthusiana*, *Thelypteris palustris*, осока та видів обводнених мочажин - *Carex nigra*, *C. limosa*, *Menyanthes trifoliata*, а також, на противагу оліготрофним болотам, для деяких видів чагарнич-

ків – *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *Ledum palustre*. Найменшими значеннями КП  $^{137}\text{Cs}$  характеризувались дрібні болотні верби – *Salix aurita*, *S. rosmarinifolia* та ін. Показано, що

навіть у межах однієї таксономічної родини види значно відрізняються за значеннями КП (*Carex omskiana* –  $27,68 \pm 3,1 \text{ м}^2\text{кг}^{-1}10^{-3}$ , *C. limosa* –  $38,25 \pm 16,2 \text{ м}^2\text{кг}^{-1}10^{-3}$ ).

### Висновки і перспективи.

Проаналізовано особливості накопичення  $^{137}\text{Cs}$  видами трав'яно-чагарничкового ярусу оліготрофних та мезотрофних боліт на території Західного Полісся України. Побудовано ранжовані ряди видів за цією ознакою в різних типах боліт. Виявлено, що на кожній дослідній ділянці спостерігалось значне коливання питомої активності радіонукліду в досліджених видах.

Визначено, що для оліготрофних боліт найбільшими рівнями накопичення радіонукліду характеризувались види обводнених мочажин та представники родини Осокові. Найменші значення КП для оліготрофних боліт відмічено в ерикоїдних чагарничків, що зростають на мікропідвищеннях. Для мезотрофних боліт найвищі значення КП визначені для папоротеподібних, осок та видів обводнених мочажин, а також для деяких видів чагарничків; найменшими значеннями характеризувались дрібні болотні верби. Показано, що види рослин однієї родини або роду можуть мати широку амплітуду накопичення  $^{137}\text{Cs}$ .

Наведені результати свідчать про те, що дослідження особливостей накопичення  $^{137}\text{Cs}$  видами трав'яно-чагарничкового ярусу різних типів боліт потребує більш детальних досліджень із врахуванням більшої кількості параметрів, як то – рівня обводненості, вегетаційного періоду, життєвих форм, розташування кореневої системи тощо.

### Список літератури

1. Behavior of radionuclides in natural and semi-natural environments / ECP5 Final report / Eds. M. Belli and F. Tikhomirov. EUR16531. Luxemburg, 1996. 154 p.
2. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Kiev: M.G. Kholodny Institute of Botany, 1999. 345 p.
3. Елиашевич Н. В., Мацко В. П., Сквернюк И. И., Орехова М. Г. Верховые болота – фитомиграционные радионуклидные аномалии. Фундаментальные и прикладные аспекты радиобиологии: биологические эффекты малых доз и радиоактивное загрязнение среды: тез. док. междунар. научн. конф. Минск, 1998. С. 73.
4. Завальна В. В., Подрушняк А. Є. Екологічне обґрунтування якості лікарських та ягідних рослин в залежності від біотичних факторів. Проблеми харчування. 2009. № 3-4. С. 59-63.
5. Краснов В. П., Курбет Т. В., Корбут М. Б., Бойко О. Л. Розподіл сумарної активності  $^{137}\text{Cs}$  у компонентах біогеоценозу мезо-оліготрофних боліт Полісся України. Науковий вісник НЛТУ України. 2015. Вип. 25.6. С. 124-131.
6. Мясковская О. С., Орлов О. О. Использование ресурсов дикорастущих лекарственных растений болот разных типов в условиях радиационного загрязнения Украинского Полесья. Растительность болот: современные проблемы классификации, картографирования, использования и охраны. Материалы международного научно-практического семинара (Минск, 30 сентября – 1 октября 2009 г.). Минск: Право и экономика, 2009. С. 206-209.
7. Орлов О. О. Головні закономірності розподілу  $^{137}\text{Cs}$  в екосистемах сильно обводнених олігомезотрофних боліт Західного Полісся України. Радіоекологія лісів і лісове господарство Полісся України: Збірник наукових праць Поліського фі-

- ліалю УкрНДІЛГА. Київ: Фітосоціоцентр, 2006. С. 28-41.
8. Орлов О. О. Проблеми біогеохімічної міграції радіонуклідів у лісових екосистемах України. Агроекологічний журнал. 2011. № 1. С. 48-52.
  9. Орлов О. О., Дідух Я. П. Фітоіндикація радіоактивного забруднення лісових екосистем. Український ботанічний журнал. 1998. Т. 55. №5. С.536-541.
  10. Орлов О. О., Долін В. В. Біогеохімія цезію-137 у лісоболотних екосистемах Українського Полісся : монографія ; за ред. акад. НАН України Е. В. Соботівича. Київ : Наукова думка, 2010. 198 с.
  11. Полевая геоботаника / Под общ. ред. Е. М. Лавренко и А. А Корчагина. Т. 3. Москва-Ленинград: Наука, Ленинградское отд., 1964. 530 с.
  12. Щерлов А. И. Биогеохимия техногенных радионуклидов в лесных экосистемах: по материалам 10-летних исследований в зоне влияния аварии на ЧАЭС. Москва : Наука, 2000. 268 с.
  - likarskykh ta yahidnykh roslyn v zalezhnosti vid biotychnykh faktoriv [Ecological substantiation of quality of medicinal and berry plants depending on biotic factors]. Problemy kharchuvannia, 3-4, 59-63.
  5. Krasnov V. P., Kurbet T. V., Korbut M. B., Boiko O. L. (2015) Rozpodil sumarnoi aktyvnosti 137Cs u komponentakh bioheotsenozu mezoolihotrofnnykh bolit Polissia Ukrainy [Distribution of total 137Cs activity in components of biogeocenosis of meso-oligotrophic bogs of Polissia of Ukraine]. Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy, 25.6, 124-131.
  6. Myaskovskaya O. S., Orlov O. O. (2009) Ispolzovaniye resursov dikorastushchikh lekarstvennykh rasteniy bolot raznykh tipov v usloviyakh radiatsionnogo zagryazneniya Ukrainского Polesia [Using the resources of wild medicinal plants of marshes of different types under the conditions of radiation pollution of Ukrainian Polissia]. Rastitelnost bolot: sovremennyye problemy klassifikatsii, kartografirovaniya, ispolzovaniya i okhrany. Materialy mezhdunarodnogo nauchno-prakticheskogo seminar. Minsk: Pravo i ekonomika, 206-209.
  7. Orlov O. O. (2006) Holovni zakonomirnosti rozpodilu 137Cs v ekosystemakh sylnu obvodnenykh olihomezotrofnnykh bolit Zakhidnoho Polissia Ukrainy [The main patterns of the distribution of 137Cs in ecosystems of heavily watered oligomezotrophic bogs of the Western Polissia of Ukraine]. Radioekolohiia lisiv i lisove hospodarstvo Polissia Ukrainy: Zbirnyk naukovykh prats Poliskoho filialu UkrNDILHA. Kyiv: Fitosotsiotsentr, 28-41.
  8. Orlov O. O. (2011) Problemy bioheokhimichnoi mihratsii radionuklidiv u lisovykh ekosystemakh Ukrainy [Problems of biogeochemical migration of radionuclides in the forest ecosystems of Ukraine]. Ahroekolohichniy zhurnal, 1, 48-52.
  9. Orlov O. O., Didukh Ya. P. (1998) Fitoindykatsiia radioaktyvnogo zabrudnennia lisovykh ekosystem [Phytoindication of radioactive contamination of forest ecosystems]. Ukrainskyi botanichnyi zhurnal, 55/5, 536-541.

### References

1. Behavior of radionuclides in natural and semi-natural environments / ECP5 Final report / Eds. M. Belli and F. Tikhomirov. EUR 16531. Luxemburg, 1996. 154 p.
2. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Kiev: M.G. Kholodny Institute of Botany, 1999. – 345 p.
3. Eliashevich N. V., Matsko V. P., Skvernyuk I. I., Orekhova M. G. (1998) Verkhovyye bolota – fitomigratsionnyye radionuklidnyye anomalii [Oligotrophic bogs – phytomigrational radionuclide anomalies]. Fundamentalnyye i prikladnyye aspekty radiobiologii: biologicheskyye efekty malykh doz i radioaktivnoye zagryazneniye sredy. Proceeding of international Conference. Minsk (Belarus), 73.
4. Zavalna V. V., Podrushniak A. Ye. (2009) Ekolohichne obgruntuvannia yakosti

10. Orlov O. O., Dolin V. V. (2010) Bioheokhimiya tseziyu-137 u lisobolotnykh ekosystemakh Ukrayins'koho Polissya [Biogeochemistry of cesium-137 in forest-bog ecosystems of Ukrainian Polissia]. Kyiv : Naukova dumka, 198.
11. Lavrenko E. M. Korchagin A. A. ed. (1964) Polevaya geobotanika [Field geobotany]. Vol. 3. Moskva-Leningrad: Nauka, 530.
12. Shcheglov A. I. (2000) Biogeokhimiya tekhnogennykh radionuklidov v lesnykh ekosystemakh: po materialam 10-letnikh issledovaniy v zone vliyaniya avarii na ChAES [Biogeochemistry of technogenic radionuclides in forest ecosystems: based on 10 years of research in the impact zone of the Chernobyl accident]. Moskva : Nauka, 268.

---

**O. Holovko, A. Orlov (2019). SPECIFICS OF ACCUMULATION OF <sup>137</sup>CS IN PHYTOMASS OF SPECIES OF GRASS-DWARF-SHRUB LAYER OF OLIGOTROPHIC AND MESOTROPHIC BOGS OF WESTERN POLISSYA OF UKRAINE.**

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 78-87.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13084>

**Abstract.** The article presents results of research of the accumulation of <sup>137</sup>Cs by the species of grass-dwarf-shrub layer of oligotrophic and mesotrophic bogs in the territory of Western Polissya of Ukraine. The research was carried out during 2004-2012 in the north of Rivne Oblast for 15 experimental sites situated in different types of oligotrophic and mesotrophic bogs. In the experimental sites, the density of pollution of radionuclide of peat soils was investigated, the specific activity of <sup>137</sup>Cs in vascular plant species was determined, and the transfer factors (Tf) for each species were determined.

The ranked series of species based on Tf in different types of bogs have been constructed. It was revealed that a significant fluctuation of the specific activity of radionuclide in the investigated species was observed on each experimental site.

It was determined that for oligotrophic bogs, the highest levels of radionuclide accumulation were peculiar by water holes' species and species of the Cyperaceae family. The lowest values of the Tf for these habitats are marked in Ericaceae dwarf-shrubs which grow on microhills. For mesotrophic bogs, the highest values of Tf are determined for ferns, Cyperaceae and water holes' species, as well as for some species of dwarf-shrubs; the smallest values were characterized by shortgrowing willows. It has been shown that species of plants of one family or genus may have wide amplitude of accumulation of <sup>137</sup>Cs.

**Keywords:** <sup>137</sup>Cs, oligotrophic bog, mesotrophic bog, grass-dwarf-shrub layer, transfer factor

---

**O. B. Головка, A. A. Орлов (2019). ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ <sup>137</sup>CS В ФИТОМАССЕ ВИДОВ ТРАВЯНО-КУСТАРНИЧКОВОГО ЯРУСА ОЛИГОТРОФНЫХ И МЕЗОТРОФНЫХ БОЛОТ ЗАПАДНОГО ПОЛЕСЬЯ УКРАИНЫ**

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 92–101.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13084>

**Аннотация.** В статье проанализированы особенности накопления <sup>137</sup>Cs видами травяно-кустарничкового яруса олиготрофных и мезотрофных болот на территории Западного Полесья Украины. Исследования проведены в 2004 – 2012 гг. на севере Ро-

венской области, где было заложено 15 пробных площадей в разных типах верховых и переходных болот. На пробных площадях исследована плотность загрязнения радионуклидом торфяно-болотных почв, определена удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в видах сосудистых растений и определены коэффициенты перехода (КП) для каждого вида.

Построено ранжированные ряды видов по этому признаку в различных типах болот. Выявлено, что на каждом опытном участке наблюдалось значительное колебание удельной активности радионуклида в исследованных видах.

Определено, что для олиготрофных болот наибольшими уровнями накопления радионуклида характеризовались виды обводненных мочажин и представители семейства осоковые. Наименьшие значения КП для олиготрофных болот отмечены в кустарничках, произрастающих на микровозвышениях. Для мезотрофных болот высокие значения КП определены для папоротникообразных, осок и видов обводненных мочажин, а также для некоторых видов кустарничков; наименьшими значениями характеризовались мелкие болотные ивы. Показано, что виды растений одного семейства или рода могут иметь широкую амплитуду накопления  $^{137}\text{Cs}$ .

**Ключевые слова:**  $^{137}\text{Cs}$ , олиготрофное болото, мезотрофное болото, травяно-кустарничковый ярус, коэффициент перехода

---

## ОСОБЛИВОСТІ ДИСТАНЦІЙНОГО МОНІТОРИНГУ ШКІДНИКІВ СОНЯШНИКУ

**М. М. ДОЛЯ**, доктор сільськогосподарських наук,  
професор кафедри інтегрованого захисту та карантину рослин

**Р. М. МАМЧУР**, кандидат економічних наук,  
доцент кафедри банківської справи та страхування

**С. Ю. МОРОЗ**, аспірант

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: SergeyMoroz95@ukr.net

**Анотація.** В системі державного фітосанітарного моніторингу безпілотні літальні апарати (БПЛА), є високоєфективною складовою точного землеробства із високоєфективним контролем чисельності шкідників соняшнику. При цьому безпілотники своєчасно і масштабно проводять дистанційний моніторинг фітосанітарного стану соняшнику на різних земельних ділянках зі збором даних, обробкою і моделюванням структури ентомокомплексу шляхом раціонального використання вихідних даних та оцінки комплексу факторів.

Впровадження новітніх технологій і методів для функціональних, експлуатаційних і структурних оцінок ентомокомплексів, використання БПЛА дозволяють проводити та коригувати посів соняшнику та інших сільськогосподарських культур, для отримання оптимальної густоти стояння рослин на одиницю площі. У даній статті представлені матеріали досліджень, пов'язаних з дистанційним моніторингом шкідників соняшнику, який включає оцінку факторів, що впливають на обстеження фітосанітарного стану посівів, зокрема – елементи живлення та фізіологічний стан рослин.

**Ключові слова:** фітосанітарний моніторинг, безпілотний літальний апарат, фізіологічний стан, елементи живлення, соняшник

---

\* Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук, професор М. М. Доля

## **Актуальність теми дослідження.**

У сучасних умовах розвитку сільськогосподарства, адаптування прогресивних технологій захисту рослин від комплексу шкідників, досягається шляхом впровадження новітніх форм моніторингу як основи своєчасності та якості логістики ресурсоощадних способів контролю комплексу фітофагів.

Використання науково обґрунтованого моніторингу шкідників і логістики в сільськогосподарських культур у Лісостепу України сприяє прогресивному розвитку господарств із залученням довготривалих інвестицій, зміцненню економічної, технологічної та фітосанітарної безпеки країни.

**Мета дослідження** – уточнити особливості моніторингу ентомокомплексу соняшнику із використанням дронів. Визначити основні переваги та недоліки використання безпілотних літальних апаратів у фітосанітарному моніторингу.

## **Матеріали і методи досліджень.**

Дослідження проводили за загальноприйнятими методиками, із застосуванням *розрахунково-порівняльного та математично-статистичного методів аналізу експериментальних даних* (Borzykh O.I. et al., 2018).

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

Сучасні технології модернізації систем землеробства направлені на оптимізацію ресурсоощадних заходів. Зокрема, методів точного землеробства, що враховує кількісну та якісну

оцінку фітосанітарного стану й агроценозів, внутрішню просторову мінливість та інформацію щодо підвищення ефективності управління структурами ентомокомплексів (Brisco B. et al., 1998; Peña-Barragan J.M. et al., 2010). Для вирішення цього завдання важливим є збір інформації, яка безпосередньо впливає на розмноження комплексу фітофагів і ріст та розвиток рослин, із рівнем забезпеченості сільськогосподарських культур поживними речовинами, та шкідливість фітофагів (Agüera, Fabio Carvajal & Pérez, 2010).

Вказується на основні розробки і використання дистанційного моніторингу із вегетаційними індексами (BI) надземної частини рослин та алгебраїчним поєднанням зареєстрованих коефіцієнтів відбиття у різних спектральних смугах. Зокрема – інформацію про заселення посівів фітофагами структуру рослинного покриву, стан рослинності, фотосинтетичний потенціал, щільність листків і вміст у них води, реакцію на зміни рівнів мінерального живлення, пошкодження їх шкідниками чи несприятливими кліматичними умовами (Jensen, 2007).

Найбільш відомим BI є нормалізований різницевий вегетаційний індекс рослинності NDVI (Normalized Difference Vegetation Index).

Так, зелені рослини в процесі фотосинтезу поглинають основну частину видимого світлового спектра і відбивають хвилі ближнього інфрачервоного характеру дій. Водночас розраховується NDVI індекс, як різниця значень червоного та ближнього інфрачервоного спектра, розділена на їх суму. Втім недостатньо вивченим є дистанційна оцінка ступеня пошкодження рослин фітофагами. Характеризуючи щільність об'єктів спостере-

жень агроценозу, NDVI вказується на ті ділянки поля, які потребують пере-сіву, або застосування засобів захисту рослин та добрив (Anonymous, 2017).

Таким чином, показники BI, обчислені за супутниковими даними Sentinel2A, в дослідженні ентомо-комплексу посівів соняшнику ви-являють інверсію стану посівів на усіх етапах органогенезу і можуть бути використано для створення мо-делей прогнозу фітосанітарного ста-ну агроценозу. Високоєфективним є моніторинг посівів впродовж вес-няно-літньої вегетації й особливо на перших етапах органогенезу рослин за вегетаційними індексами супутни-ка Sentinel2A (Zholobak, 2017).

Заслужують на увагу карти ста-ну посівів, розраховані на основі NDVI індексу, а також карти продук-тивності, як один з елементів для от-римання електронних карт-завдань і ефективного впровадження систем точного землеробства та ресурсоо-щадних технологій контролю чисель-ності шкідників соняшнику.

Характерно, що супутники для проведення знімання посівів польо-вих культур розрізняються за бага-тьма параметрами – починаючи від періодичності проходження над кон-кретним регіоном, закінчуючи мож-ливим спектром знімання камери.

Перевагою використання супут-никових систем є їх уніфікованість багатьох сервісів для користування з отриманням історії дослідної ділянки за останні кілька років. Ця інформація включає: оцінку структурного стану сівозміни, сезонну динаміку розвитку біомаси на певних полях, межі про-дуктивних зон.

#### Переваги:

- Розрахунок вегетаційних індексів, що характеризують стан рослин;
- автоматична обробка даних, щодо фітосанітарних показників і стану посівів;
- безкоштовний доступ до інформації;
- можливість отримання історії по-лів.

#### Недоліки:

- Залежність якості знімків від хмарності;
- отримання знімків один раз у 5-8 днів
- розширення фотознімків гірше ніж за використання дронів.

Доцільно відмітити, що застосуван-ня дронів спрощує збір фітосанітарної інформації про стан посівів соняшнику. На відміну від супутника, дрони порів-няно мобільний інструмент з більшою деталізацією даних. Внаслідок того, що висота польоту дрона зазвичай знахо-диться в межах від 100 до 300 метрів над поверхнею землі, можливо отрима-ти знімки з роздільною здатністю в сан-

### Порівняльна характеристика показників супутникових систем та БПЛА (за Anonymous, 2017)

| Показники                                                          | Супутник (10-250 м) | Супутник (60 см – 1,5 м) | Дрон |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------|------|
| Реальна площа поля, його рельєф                                    | -                   | -                        | +    |
| Стан земельної ділянки, наявність солончаків, підтоплень, блюдець. | -                   | +                        | +    |
| Якість виконаних операцій                                          | -                   | -                        | +    |
| Стан та динаміка вегетації на основі індексу NDVI                  | +                   | +                        | +    |
| Наявність бур'янів на полі                                         | -                   | -                        | +    |

тиметрах на піксель. Дрони дозволяють збирати величезну кількість інформації зокрема по динаміці розмноження шкідників соняшнику в найкоротші терміни. В середньому один екіпаж здатний за день обробити до 2 500 гектар.

Для сучасних ентомологічних спостережень в агробіоценозах застосовуються різні види БПЛА: з фіксованим крилом, дрони-коптери з 4, 6, 8 гвинтами. Головні відмінності між БПЛА з фіксованим крилом і коптерами показані в характеристиках. Вони полягають переважно у дальності і довготривалості польоту, вантажопід'ємності, способу запуску і посадки, вартості тощо.

Головна особливість дронів – можливість використання спектральних камер, які дозволяють отримувати знімки в ближньому інфрачервоному спектрі. На підставі таких знімків відбувається розрахунок NDVI індексів. Звичайні камери також можна застосовувати для цих цілей після проведення деяких модифікацій або додаткової обробки даних.

#### Переваги:

- висока мобільність і оперативність проведення знімання;
- точність від 2 сантиметрів;
- можливість знімання в умовах хмарності;
- висока продуктивність.

#### Недоліки:

- вплив погодних умов на якість проведення знімання;
- наявність «no fly zone» біля аеропортів, військових та інших режимних об'єктів;
- вартість.

Однак якісно проводити фітосанітарний моніторинг із використанням супутників або застосуванням дронів можливо, починаючи з передпосівної підготовки ґрунту і закінчуючи збором врожаю.

Перед посівом головним чином аналізується зовнішній стан ґрунту. Основна інформація фітосанітарного моніторингу за допомогою супутника або дронів на цьому етапі – якість проведення передпосівного обробітку ґрунту. Дрон також застосовуються для складання точної карти рельєфу, де зазначаються всі перепади висот, яри та інші природні об'єкти й місця екотонів.

Після посіву, проводять моніторинг схожості, густоти посівів і пошкодження рослин фітофагами. На цьому етапі аналізується рівень втрат рослин, визначається потреба пересіву. Супутниковий моніторинг і використання дронів дозволяє виявити проблеми густоти посівів та зони неоднорідності і ступінь пошкодження шкідниками сходів.

У досходовий період та фазі сім'я-дольних листків, посівам соняшнику шкодить велика кількість ґрунтових шкідників, а саме дротяники *Elateridae*, чорнотілки *Tenebrionidae*, гусениці озимих совок *Agrotis segetum* Schiff., імаго кравчика головача *Lethrus apterus* Laxm., сірий *Tanytrecus palliatus* F. та чорний *Psallidum Maxillosum* F. бурякові довгоносики, які призводять до зрідження сходів, та у випадку масових вогнищ шкідників у період вирощування можуть призвести до знищення більшої частини посівів соняшника. Тому завчасне виявлення даного типу пошкоджень соняшнику шкідниками сприяє оптимізації системи захисту та збереження врожаю.

Визначення кількості рослин на гектар є важливим показником для оцінки польової схожості. У результаті ефективність визначення урожаю соняшника виключно встановлюється внаслідок точного підрахунку схожих рослин на одиницю площі, із використанням світло-зелених та жовтих спектрів фотокамер дронів (Assefa, 2016; Testa, Reyneri and Blandino 2016)

Між тим відмінності між візуальним і цифровим підрахунком рослин можуть бути обумовлені різними факторами. Занадто пізня візуалізація росту рослин може не дозволити відокремити молоде листя від пошкодженого. Рослини, які ростуть дуже близько один до одного, з посиленими ефектами перекриття, можуть привести до підрахунку меншої кількості рослин. Цей ефект частіше зустрічається в системах, де відстань між рослинами менша за рекомендовані норми висіву соняшнику та інших сільськогосподарських культур.

Крім того, молоді, недостатньо розвинені та зелені листки соняшнику не можуть бути адекватно відокремлені від пошкодженого листя з використанням процедури посилення контрасту «decorrstretch», коли рослини випереджають інші за стадіями розвитку. Водночас середні значення даних фотознімків близькі до нуля, що вказує на тісний зв'язок між числовими і візуально підрахованими числами рослин. Після отримання зображень та їх обробки створюється карта поля, яка ілюструє повну картину густоти рослин на одиницю площі. Це дозволяє дослідникам визначати вплив фітофагів на ріст і розвиток соняшнику і управляти посівом та

оцінювати рівномірність розподілу й ступінь пошкодження рослин на полі, показуючи динаміку впливу фітофагів на ріст та розвиток культурних рослин (Blackmore, 2000).

У кінці вегетаційного періоду, перед збиранням врожаю, моніторинг повторюється. Це дозволяє уточнити терміни збору врожаю і остаточно спрогнозувати врожайність гібридів соняшнику.

Важливою складовою дистанційного моніторингу, є зображення як пошкоджених рослин шкідниками, так і забезпеченості соняшнику елементами живлення протягом вегетації (Reyniers, Vrinsts and Baerdemaeker 2004).

Відомо, що у листках більшість азоту міститься в молекулах хлорофілу, таким чином існує тісний взаємозв'язок між азотним живленням і вмістом у рослинах хлорофілу (Han, Hedrickson and Ni 2001), що є базисом для прогнозування вмісту азоту в рослинах і їх впливом на розмноження шкідників шляхом вимірювання відбиваючої здатності листової пластини (Filella, Serrano and Peñuelas 1995). Збільшення відбиваючої здатності в основному пов'язано зі зменшенням вмісту хлорофілу, що переважно викликано недостат-

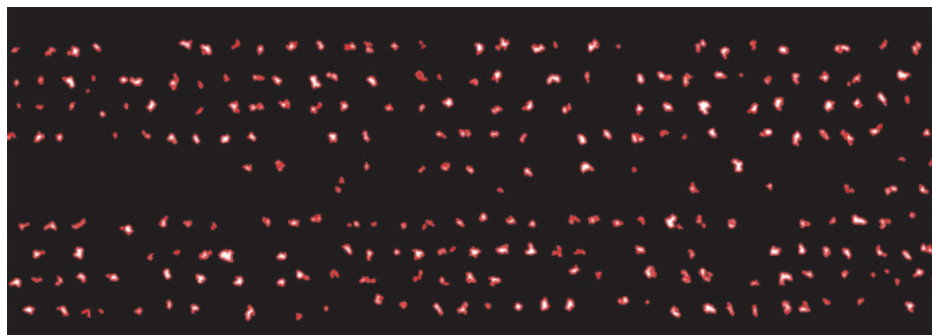


Рис. 1. Оцінка густоти посівів за допомогою систем дистанційного моніторингу (Gnädinger and Schmidhalter, 2017)



Рис. 2. Етапи моніторингу стану посівів соняшнику з використання дронів

### Групи шкідливих видів комах в сучасній систем дистанційного діагностики у посівах соняшнику

| №                 | Види                                                  | Строки моніторингу                                                                                      | Супутні фактори                                                                     |
|-------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                 | 2                                                     | 3                                                                                                       | 4                                                                                   |
| Грунтові шкідники |                                                       |                                                                                                         |                                                                                     |
| 1.                | Ковалик посівний<br><i>Agriotes sputator</i> L.       | - проростання та сходів (00-09 ВВСН);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 ВВСН) | - Зрідження сходів (зменшення густоти посівів)<br>-Зменшення фотосинтезуючої площі  |
| 2.                | Ковалик степовий<br><i>Agriotes gurgistanus</i> Fald. | - проростання та сходів (00-09 ВВСН);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 ВВСН) | -Зрідження сходів (зменшення густоти посівів)<br>-зменшення фотосинтезуючої площі   |
| 3.                | Ковалик широкий<br><i>Selatosomus latus</i> L.        | - проростання та сходів (00-09 ВВСН);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 ВВСН) | -Зрідження сходів (зменшення густоти посівів)<br>зменшення фотосинтезуючої площі    |
| 4.                | Мідляк кукурудзяний<br><i>Pedinus femoralis</i> L.    | - проростання та сходів (00-09 ВВСН);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 ВВСН) | Зрідження сходів (зменшення густоти посівів)<br>зменшення фотосинтезуючої площі     |
| 5.                | Мідляк піщаний<br><i>Blaps halophila</i> Fishw.       | - проростання та сходів (00-09 ВВСН);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 ВВСН) | Зрідження сходів;<br>(зменшення густоти посівів)<br>зменшення фотосинтезуючої площі |
| 6.                | Мідляк степовий<br><i>Opatrum sabulosum</i> L.        | - проростання та сходів (00-09 ВВСН);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 ВВСН) | Зрідження сходів;<br>(зменшення густоти посівів)<br>зменшення фотосинтезуючої площі |

## Продовження таблиці

| 1                            | 2                                                               | 3                                                                                                      | 4                                                                                               |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7.                           | Мідляк чорний<br><i>Oodescelis polita</i><br>Strum.             | - проростання та сходи (00-09 BBCH);<br>-сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 BBCH)  | Зрідження сходів;<br>(зменшення густоти посівів)<br>зменшення фотосинтезуючої площі             |
| 8.                           | Мідляк широкогрудий<br><i>Blaps lethifera</i> Marsch            | проростання та сходи (00-09 BBCH);<br>-сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 BBCH)    | Зрідження сходів;<br>(зменшення густоти посівів)<br>зменшення фотосинтезуючої площі             |
| 9.                           | Озима совка<br><i>Agriotes sputator</i><br>Schiff.              | - проростання та сходи (00-09 BBCH);<br>- сім'ядольні листки – одна пара справжніх лисків (10-12 BBCH) | Зрідження сходів;<br>(зменшення густоти посівів)<br>- зменшення фотосинтезуючої площі           |
| 10.                          | Сірий буряковий довгоносик<br><i>Tanymecus palliatus</i> F      | Гіпокотиль пробиває поверхню ґрунту – сім'ядольні лиски (08-10 BBCH)                                   | Зрідження густоти посівів                                                                       |
| 11.                          | Чорний буряковий довгоносик<br><i>Psalidium Maxillosum</i> F.   | Гіпокотиль пробиває поверхню ґрунту – сім'ядольні лиски (08-10 BBCH)                                   | - Зрідження густоти посівів                                                                     |
| Внутрішньо-стеблові шкідники |                                                                 |                                                                                                        |                                                                                                 |
| 12.                          | Шипоноська соняшникова<br><i>Mordellistena parvula</i><br>Gyll. | Дві пари справжніх лисків – засихання (14-99 BBCH)                                                     | Пригнічення посівів;<br>Пожовтіння;<br>Заламлювання стебел                                      |
| 13.                          | Соняшниковий вусач<br><i>Agapanthia dahli</i><br>Richt.         | Дві пари справжніх лисків – засихання (14-99 BBCH)                                                     | Пригнічення посівів;<br>Пожовтіння;<br>Заламлювання стебел;                                     |
| Шкідники листя               |                                                                 |                                                                                                        |                                                                                                 |
| 14.                          | Лучний метелик<br><i>Loxostege sticticalis</i> L.               | П'ять справжніх лиски – стадія зірочки (15-51 BBCH)                                                    | Зменшення фотосинтезуючої площі;<br>Грубе об'їдання лисків                                      |
| 15.                          | Геліхризова попелиця<br><i>Brachycaudus helichrysi</i> Kalt.    | П'ять справжніх лиски – стадія зірочки – кінець цвітіння (15-69 BBCH)                                  | Пожовтіння листової поверхні, засихання;<br>Механічні пошкодження;<br>Розвиток хвороб           |
| 16.                          | Люцернова совка<br><i>Heliothis virescens</i> Hfn.              | П'ять справжніх лиски – стадія зірочки (15-51 BBCH)                                                    | - зменшення фотосинтезуючої площі;<br>- пожовтіння листя, засихання.                            |
| 17.                          | Полинова совка<br><i>Schinia scutosa</i> Den. et Schiff.        | П'ять справжніх лиски – стадія зірочки (15-51 BBCH)                                                    | - зменшення фотосинтезуючої площі;<br>- пожовтіння листя, засихання<br>- механічні пошкодження. |

| 1                             | 2                                                                  | 3                                           | 4                                             |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Шкідники генеративних органів |                                                                    |                                             |                                               |
| 18.                           | Соняшникова міль<br><i>Homoesoma<br/>nebulellum</i> Schiff.        | Стадія зірочки – повна<br>стиглість (51-89) | - пригнічення розвитку<br>генеративні органів |
| 19.                           | Бавовникова совка<br><i>Helicoverpa armigera</i><br>Hb.            | Стадія зірочки – повна<br>стиглість (51-89) | - пригнічення розвитку<br>генеративні органів |
| 20.                           | Геліхризова попелиця<br><i>Brachycaudus heli-<br/>chrysi</i> Kalt. | Стадія зірочки – повна<br>стиглість (51-89) | - пригнічення розвитку<br>генеративні органів |

нім забезпеченням азоту рослин із заселенням їх фітофагами. Збільшення коефіцієнта відбивання в ближньому інфрачервоному спектрі (NIR) в основному відповідає збільшенню індексу площі листя і зеленої біомаси (Peñuelas, Filella and Save 1996).

### Висновки та перспективи.

Застосування у сучасному землеробстві високоточних супутників та дронів для проведення дистанційного моніторингу фітосанітарного стану посівів соняшнику з оцінкою сезонної динаміки заселення посівів фітофагами й густоти посівів та постійного спостереження за фітосанітарним станом рослин сприяє забезпеченню оптимальними рішеннями щодо строків і термінів управління чисельністю шкідників у регіоні спостережень, оптимізації комплексних заходів контролю шкідників і отриманню високих та сталих врожаїв соняшнику.

### Referens

1. Borzykh O.I., Retman S.V., Fedorenko V.P., Sabluk V.T., Zapolskaya N.M., Shendrik R. Ya., Borovskaya I.U., Mamraj V.V., Chelomybitko A F., Stefkivsky V.M., Orlova O.M., Sidorchuk O.V., Chekan K.V. (2018). Metodichni rekomendat-
2. Brisco B., Brown R.J., Hirose T., McNairn H., Staenz K. (1998). Precision agriculture and the role of remote sensing: a review. Canadian Journal of Remote Sensing, 24, 315-327.
3. Peña-Barragan J.M., Lopez-Granados F., Jurado-Exposito M., García-Torres L. (2010). Sunflower yield related to multitemporal aerial photography, land elevation and weed infestation. Precision Agriculture, 11, pp. 568-585.
4. Agüera F., Fabio Carvajal, Pérez M. (2012) Measuring sunflower nitrogen status from an unmanned aerial vehicle-based system and an on the ground device. international Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences, Volume XXXVIII-1/C22, 2011ISPRS Zurich 2011 Workshop, 14-16 September 2011, Zurich, Switzerland. DOI: 10.5194/isprsarchives-XXXVIII-1-C22-33-2011
5. Jensen J. R. (2007) Remote sensing of the environment: an Earth resource perspective: 2nd (second) Edition — Upper Saddle River, NJ: PrenticeHall, Inc. 592 p.

6. Smart Farming. (2017). Droniv i suputnykiv: monitorynh stanu sil's'kohospodars'kykh kul'tur protyahom sezonu [The drones and satellites: monitoring the state of crops during the season]. Retrieved form. URL: <https://smartfarming.ua>
7. Zholobak M.G. (2017). Dystantsiynny monitorynh stanu posiviv ozymoyi pshenytsi vprovodzh vesnyano-litn'oyi veketatsiyi 2016 r. za veketatsiynnyimi indeksamy suputnyka Sentinel2A (na prykladi Lisostepovoyi zony Ukrainy) [Remote monitoring of the condition of winter wheat crops during the spring and summer vegetation of 2016 according to vegetation indices of the Sentinel2A satellite (The Forest-steppe zone of Ukraine)]. Ukrainian Earth Remote Sensing Journal, 15, 23–30.
8. Assefa Y., Vara Prasad P.V., Carter P., Hinds M., Bhalla G., Schon R., Jeschke M., Paszkiewicz S., Ciampitti I.A. (2016). Yield responses to planting density for us modern corn hybrids: A synthesis-analysis. Crop Sci., 56, 2802–2817.
9. Testa G., Reyneri A., Blandino M. (2016). Maize grain yield enhancement through high plant density cultivation with different inter-row and intra-row spacings. Eur. J. Agron., 72, 28–37.
10. Blackmore S. (2000). The interpretation of trends from multiple yield maps. Comput. Electron. Agric., 26, 37–51.
11. Friederike Gnädinger, Urs Schmidhalter (2017) Digital Counts of Maize Plants by Unmanned Aerial Vehicles (UAVs). Remote sensing, 9, 544. Doi:10.3390/rs9060544
12. Reyniers M., Vrinsts E., Baerdemaeker J., (2004). Fine-scaled optical detection of nitrogen stress in grain crops. Optical Engineering, 43, 3119-3129.
13. Han S., Hedrickson L., Ni B. (2001). Comparison of satellite remote sensing and aerial photography for ability to detect in-season nitrogen stress in corn. An ASAE meeting presentation. Paper No. 01-1142, ASAE, St Joseph, MI, USA.
14. Filella I., Serrano L., Peñuelas J. (1995). Evaluating wheat nitrogen status with canopy reflectance indices and discriminant analysis. Crop Science, 35, 1400-1405.
15. Peñuelas J., Filella I., Serrano L., Save R., (1996). Cell Wall elasticity and water index (R970 nm/R900 nm) in wheat under different nitrogen availabilities. International Journal of Remote Sensing, 17, 373-382.

---

**N. Dolya, R. Mamchur, S. Moroz (2019). THE FEATURES OF PRECISION MONITORING OF SUNFLOWER INSECT PESTS. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 102–111. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13085>**

**Abstract.** *In the phytosanitary monitoring system, unmanned aerial vehicles (UAVs) are a highly efficient component of precision agriculture with high-quality control of the number of sunflower pests, while drones timely and large-scale conduct remote monitoring of the phytosanitary state of sunflower in different trial plots with data collection, processing and modeling of the entomocomplex structure by rational use of output data and assessment of a complex of factors.*

*The introduction of the latest technologies and methods for functional, operational and structural assessments of the entomocomplex, the use of UAVs make it possible to carry out and adjust the sowing of sunflower and other crops to obtain the optimal plant density. This article presents research materials related to remote monitoring of sunflower pests, which includes an assessment of the factors affecting the examination of the phytosanitary state of crops, in particular, nutrients and physiological state of plants.*

**Keywords:** *phytosanitary monitoring, unmanned aerial vehicle, physiological state, nutrition elements, sunflower.*

**Н. Н. Доля, Р. М. Мамчур, С. Ю. Мороз (2019). ОСОБЕННОСТИ ДИСТАНЦИОННОГО МОНИТОРИНГА ВРЕДИТЕЛЕЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 102–111. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13085>**

**Аннотация.** В системе фитосанитарного мониторинга беспилотные летательные аппараты (БПЛА), являются высокоэффективной составляющей точного земледелия с возможностью высококачественного контроля численности вредителей подсолнечника, при этом БПЛА своевременно и с охватом больших территорий проводят дистанционный мониторинг фитосанитарного состояния подсолнечника на разных земельных участках со сбором данных, обработкой и моделированием структур энтомокомплексов путем рационального использования выходных данных и оценки комплекса факторов.

Внедрение новейших технологий и методов для функциональных, эксплуатационных и структурных оценок энтомокомплексов с использованием БПЛА позволяют проводить и корректировать посев подсолнечника и других сельскохозяйственных культур, а также унифицировать множество методов контроля за физиологическими изменениями растений.

В данной статье представлены материалы исследований, связанных с дистанционным мониторингом вредителей подсолнечника, который включает оценку факторов, влияющих на обследование фитосанитарного состояния посевов, в частности - элементы питания и физиологическое состояние растений.

**Ключевые слова:** фитосанитарный мониторинг, беспилотный летательный аппарат, физиологическое состояние, элементы питания, подсолнечник

---

## РОЖЕВА СНИГОВА ПЛІСЕНЬ (*MICRODOCHIUMNIVALE* (FR.) SAMUELS&I.C. HALLETT) НА ГАЗОННИХ ТРАВСТОЯХ ТА ЗАХОДИ З ОБМЕЖЕННЯ ЇЇ РОЗВИТКУ

---

**О.М. НИЧИПОРУК**, науковий співробітник  
Інститут водних проблем і меліорації НААН  
E-mail: nychporuk\_oleksii@ukr.net

**Анотація.** Мета. Встановити поширення рожевої снігової плісені на газонних травах та удосконалити заходи обмеження розвитку хвороби. Обстеження посівів проводили в зонах Полісся, Лісостепу та Степу України. Для ідентифікації патогенів проводили відбір рослинних зразків із подальшим їх аналізом у лабораторних умовах. Експерименти проводили впродовж –2015 – 2018 рр. на газонній суміші «Універсальна». Досліджували дію фунгіцидів різних хімічних груп та їх сумішей. Обробка здійснювалась профілактично восени перед встановленням снігового покриву. Обліки виконували за загальноприйнятими методиками, визначали поширення, розвиток хвороб та технічну ефективність препаратів.

Прояви рожевої снігової плісені фіксували щороку зі значним варіюванням у поширенні та розвитку хвороби. Найвищий її розвиток зафіксовано у Житомирській області у вегетаційному періоді –2017-/2018 року, що пов'язано з більш тривалим періодом снігового покриву. Застосування фунгіцидів та їх сумішей істотно знизили кількість інфікованих рослин, проте захисна фунгіцидна дія препаратів різнилася. Найбільш ефективним проти снігової плісені виявилось застосування бакової суміші фунгіцидів Максим 025 FS, т.к.с. (0,4-0,75л/га) з Хорус 75 WG, ВГ (0,3-0,6 кг/га). Середній рівень фунгіцидної дії проявили препарати Хорус 75 WG, в.г., АмістарГолд 250 SE, КС та Амістар екстра 280SC, КС – 51,4-60,5%. Крім того, завдяки зниженню ураження сніговою плісенню, досягався позитивний вплив на формування якості газону, проективне покриття якого підвищувалось з 62 до 86%.

Упродовж 2015–2018 рр за результатами моніторингу появи та розвитку хвороб встановлено, що газонні трави щорічно уражувались сніговою плісенню. Розвиток хвороби сягав 14,7-26,4%. Профілактичне обприскування газонних покриттів у осінній період захищає рослини від ураження сніговою плісенню навесні. Так, за застосування суміші фунгіцидів Максим 025FS, т.к.с. + Хорус 75 WG, в.г. отримано високі показники захисту, які, в залежності від норм витрати, складали – 85,3-91,5%. Проективне покриття водночас зростало з 62% до 80-86%.

**Ключові слова:** газоні трави, снігова плісень, розвиток хвороби, фунгіциди, технічна ефективність.

### Актуальність.

Щороку в Україні зростають площі газонного декоративного покриття, яке здатне покращити природне середовище для людини в умовах сучасної інтенсивної урбанізації.

Культурний газон своєрідним фітоценозом, який утворений шляхом вирощування різних видів трав'янистих рослин, переважно злакових трав, які протягом років формують щільний надґрунтовий покрив (дернину). Найчастіше газонистворюються для декоративних цілей, ландшафтних зон для прогулянок та відпочинку, спортивних майданчиків (наприклад футбольних полів). В залежності від призначення та умов експлуатації газонного покриття розробляються певні вимоги для підтримання його декоративної якості та довговічності [1].

Для формування якісного дернового покриття та утримання його у відмінному стані, особливу увагу необхідно приділяти правильному закладанню газону та подальшому догляду за ним. Зокрема, важливим етапом є планування та підготовка ділянки для створення газону, підбір асортименту газоносумішей із врахуванням впливу різних чинників (кліматичних, антропогенних, екологічних). Такий підхід дає змогу надалі покращити загальний стан дернових покриттів, їх якість, отримати значну економію часу і витрат, створити відповідний контраст у ландшафтних групах рослин [2].

Для створення та експлуатації високоякісних та довговічних газонних покриттів ландшафту важливе значення має застосування інтегрованих методів агротехніки, спрямованих на підвищення стійкості рослин до хвороб та зниження їх шкодочинності.

Важливою складовою інтегрованого захисту газонних трав від хвороб є фітосанітарний моніторинг шкідливих організмів на злакових травостоях, який є основою для розробки ефективної системи застосування пестицидів із мінімальною шкодою для навколишнього середовища.

Щорічно відчутних втрат дерновим покриттям різного призначення завдають збудники грибних захворювань, які уражують газонні травостої переважно у зимово-весняний період. Поширенню хвороб сприяє недотримання умов вирощування злаків. У густому газонному травостої рослини відчувають нестачу повітря та освітлення, внаслідок чого відбувається затримка вологи, і, відповідно, створюються сприятливі умови для розвитку патогенних мікроорганізмів [2, 3].

До особливо небезпечних збудників хвороб багаторічних злакових трав відноситься снігова плісень, яка викликається комплексом фітопатогенних грибів. Найбільш поширеною є рожева снігова плісень, збудником якої є - гриб *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett. Після танення снігу на листових піхвах уражених рослин з'являються розпливчасті плями з блідим нашаруванням, яке згодом набуває рожевого відтінку. Уражені листки склеюються й засихають. Збудник хвороби міститься в агроценозах злаків протягом усього вегетаційного періоду й може викликати також плямистість листя [4]. Також посіви злакових трав уражує сіра снігова плісень, або тифульоз. Збудниками хвороби є базидіальні гриби: *Typhulaincarnata* Lasch і *T. ishikariensis* S. Imai. На ураженому листі формуються округлі склероції, які мають темно-коричневе забарвлення за ін-

фікування *T. ishikariensis*, або червонувато бурі, якщо збудником хвороби є *T. incarnata* [4, 5]. Крім перерахованих вище, симптоми снігової плісені викликають ооміцети роду *Pythium*, в такому випадку її називають пітіозною сніговою плісенню [4].

Внаслідок ураження сніговою плісенню уповільнюється ріст рослин, відбувається часткове зрідження травостою та погіршення його декоративної якості. У разі сильного розвитку хвороби в роки епіфітотій (за сприятливих кліматичних умов) спостерігається повна загибель уражених рослин. У таких випадках виникає необхідність пересівання злакових трав, що призводить до підвищення вартості утримання газонного покриття [6].

Тому, вкрай важливо розробити заходи захисту, які дозволили б обмежити розвиток хворобита забезпечити високу якість газонних покриттів.

**Мета досліджень** – встановити поширення рожевої снігової плісені на газонних травах та удосконалити заходи обмеження розвитку хвороби.

### **Матеріали і методи досліджень.**

Дослідження проводили впродовж 2015 – 2018 рр. в умовах Житомирської області (Радомишльський район, с. Забілоччя, садовий центр «Артвіль», ДП «Українські газони»), Київської області (Баришівський район, с. Бзів, садовий центр компанія «Клевір») та Кіровоградської області (м. Олександрія, ТОВ «НІФРА») на сортосуміші «Універсальна» (пажитниця багаторічна Гатор – 25%, костриця червона Геральд – 55%, тонконіг лучний Собра – 20%). Обліки хвороби проводили навесні після

танення снігу, коли ознаки ураження рослин сніговою плісенню проявляються особливо чітко.

З метою контролю хвороби вивчали дію наступних фунгіцидів: Імпакт Т, КС (флутріафол, 75 г/л + тебуконазол, 225 г/л), Бампер Супер, КЕ (пропіконазол, 90 г/л + прохлораз, 400 г/л), Амістар-Голд 280 SE, КС (азоксистробін, 125 г/л + дифеноконазол, 125 г/л), Максим 025 FS, т.к.с. (флудиоксоніл, 25 г/л), Хорус 75 WG, ВГ (ципродиніл, 750 г/л). Дані препарати належать до різних хімічних груп, зокрема похідних триазолів, стеробілуринів, імідазолів, фенілпіролів, ципродинілів. Дослідження проводили в умовах Полісся (Житомирська обл.). Площа ділянок 25 м<sup>2</sup>, повторення чотириразове. Обприскування посівів фунгіцидами здійснювали восени після останнього скошування газону (1 декада жовтня) за температури не нижче +5<sup>0</sup> за допомогою ранцевого мотообприскувача SOLO з нормою витрати робочого розчину 200 л/га.

Під час обліків вивчали симптоми проявлення хвороби в природних умовах. Для ідентифікації патогенів проводили відбір рослинних зразків з подальшим його аналізом у лабораторних умовах. У кожному зі зразків уражених рослин мікроскопічно вивчалися морфологічні особливості збудника за допомогою приготування простого мікроскопічного препарату [7].

Обстеження виконували за загальноприйнятими методиками, визначали поширення, розвиток хвороб та технічну ефективність препаратів [8]. Для встановлення інтенсивності ураження на кожній ділянці по діагоналі аналізували 100 рослин (по 10 рослин в 10 місцях) у чотириразовій повторності. Інтенсивність ураження рослин патогеном визначали за 5 бальною шкалою [8]. Математичну

обробку отриманих даних проводили методом варіаційної статистики [9].

Для визначення якості газонних травостоїв застосовували показник проєктивного покриття, який застосовується для визначення великої кількості видів у фітоценозах - шкала О. Друде[1].

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

Однією із основних хвороб газонних травостоїв у міжвегетаційний період є рожева снігова плісень. Відомо, що її збудник *Microdochium nivale* є факультативним широко спеціалізованим патогеном, який постійно присутній у ґрунті. Первинне зараження сходів відбувається восени або під снігом.

У результаті обстежень встановлено розвиток рожевої снігової плісені на газонних травах. Ураження хворобою спостерігалось щороку в усіх

точках досліджень, проте розвиток її варіював у значних межах.

Відразу після танення снігу на посівах відмічали осередки ураження хворобою. На листі спостерігались водянисті розпливчасті плями з білим або рожевуватим павутинистим нашаруванням міцелію збудника, який утворював суцільну павутинну плівку. Уражені листки склеювались між собою та відмиralи (рис. 1). Подекуди фіксували загибель рослин.

Надалі протягом весни фіксували прояв хвороби у вигляді плямистості листя. Плями світло-коричневі з темно-коричневою облямівкою, розташовувались в основному на листових піхвах та по середині листків. На уражених тканинах виявлено спороношення збудника *Microdochium nivale* (рис. 2). Конідії безбарвні, веретеноподібні, вигнуті, розміром 14 - 25 x 3 - 4 мкм.



**Рис. 1. Симптоми ураження рожевою сніговою плісенню (оригінальне фото)**



**Рис. 2. Конідії *Microdochium nivale* (оригінальне фото)**

Найвищий розвиток хвороби в Київській, Житомирській та Кіровоградській областях відмічений навесні 2018 року – відповідно 18,6%, 26,4 % - та 14,7%. В усіх місцях досліджень нижчий розвиток хвороби спостерігався у 2015 році, а в Кіровоградській області також і в 2016 році. В цілому нижчий прояв хвороби (2,3-14,7 %) був зафіксований у Кіровоградській області.

Відомо, що вирішальну роль для розвитку рожевої снігової плісені мають погодні чинники зимового періоду, зокрема є ранній перехід температури через 0°C, випадання снігу на не промерзлий ґрунт, висота та тривалість снігового покриву, зимові відлиги, затяжна весна тощо [10, 11, 12].

Аналізуючи метеорологічні умови зимових місяців за період досліджень, можна сказати, що зимою 2017/2018 року вони були досить

сприятливими для ураження хворобою. Тривалість снігового покриву складала в Київській та Житомирській областях 109-112 діб за максимальної висоти снігового покриву 29-40 см. Саме цей рік з найбільшою його тривалістю відзначався вищим рівнем розвитку рожевої снігової плісені (18,6-26,4%). Однак - за менш тривалої та малосніжної зими, яка спостерігалась, наприклад, в Кіровоградській області в 2014/2015 і 2015/2016 роках (тривалість снігового покриву 49-61 діб за максимальної його висоти 8-25 см) він був у 3-6 разів нижчим.

Для контролю рожевої снігової плісені в осінній період перед встановленням снігового покриву було проведено профілактичне обприскування фунгіцидами. Як засвідчили результати досліджень, така обробка забезпечувала газон від хвороби у

ранньовесняний період, що сприяло зниженню рівня ураження рослин на пізніших їх періодах розвитку.

На початку весни після танення снігу на рослинах було зафіксовано активний розвиток снігової плісені. В середньому за роки досліджень частка уражених рослин на варіантах без внесення фунгіцидів складала 44,3% за розвитку хвороби 17,7%.

*Застосування фунгіцидів та їх сумішей істотно знизило кількість інфікованих рослин та інтенсивність ураження, проте захисна фунгіцидна дія препаратів різнилася. Максимальний захист посіву було забезпечено за обприскування сумішшю фунгіцидів Максим 025FS, т.к.с. та Хорус 75 WG, в.г. за максимальної норми витрати 0,75 л/га + 0,6 кг/га – 91,5%. За менших норм витрати даних фунгіцидів вплив суміші на розвиток рожевої снігової плісені дещо знижувався.*

Розвиток хвороби на цих варіантах становив від 2,0% до 2,6%. Втім статистично істотної різниці між варіантами із різними співвідношеннями фунгіцидів Максим 025FS, т.к.с. та Хорус 75 WG, в.г. не відмічено.

Препарати проявили достатню фунгіцидну дію для подальшого збереження декоративної якості газону та його привабливого вигляду. Проективне покриття на кращих варіантах захисту було на рівні 80-86% проти 62 % на контролі.

Середній рівень фунгіцидної дії проявили препарати Хорус 75 WG, в.г., АмістарГолд 250 SE, КС та Амістар екстра 280SC, КС – 51,4-60,5%.

Неефективними виявилися варіанти з обприскуванням фунгіцидами Імпакт Т, КС та Бампер Супер, КЕ. Розвиток снігової плісені на цих ділянках дослідів становив 11,5-12,0%, а технічна ефективність відповідно 32,2-35,0%.

### 1. Ефективність обприскування газону фунгіцидами у осінній період проти ураження сніговою плісенню (Житомирська обл., 2016–2018 рр.)

| Варіант                                                       | Розвиток хвороби, % | Проективне покриття, % | Технічна ефективність, % |
|---------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------|
| Контроль                                                      | 17,7                | 62,0                   | -                        |
| Імпакт Т, КС, 1,0 л/га                                        | 11,5                | 71,0                   | 35,0                     |
| Бампер Супер, КЕ, 08 л/га                                     | 12,0                | 73,5                   | 32,2                     |
| Амістар екстра 280SC, КС, 0,75 л/га                           | 8,6                 | 74,0                   | 51,4                     |
| АмістарГолд 250 SE, КС, 12 мл/5 л води на 100 м <sup>2</sup>  | 8,1                 | 74,5                   | 54,2                     |
| Максим 025FS, т.к.с., 0,75 л/га                               | 3,1                 | 80,1                   | 82,5                     |
| Хорус 75 WG, в.г., 0,6 кг/га                                  | 7,0                 | 76,0                   | 60,5                     |
| Максим 025FS, т.к.с., 0,4 л/га +Хорус 75 WG, в.г., 0,3 кг/га  | 2,6                 | 80,3                   | 85,3                     |
| Максим 025FS, т.к.с., 0,4 л/га +Хорус 75 WG, в.г., 0,6 кг/га  | 2,3                 | 80,5                   | 87,0                     |
| Максим 025FS, т.к.с., 0,75 л/га +Хорус 75 WG, в.г., 0,3 кг/га | 2,0                 | 84,0                   | 88,7                     |
| Максим 025FS, т.к.с., 0,75 л/га +Хорус 75 WG, в.г., 0,6 кг/га | 1,5                 | 86,1                   | 91,5                     |
| НІР <sub>05</sub>                                             | 1,5                 | 5,3                    |                          |

## Висновки

1. Впродовж 2015-2018 рр. за результатами моніторингу появи та розвитку хвороб встановлено, що газонні трави щорічно уражувались сніговою плісінню. Розвиток хвороби сягав 14,7-26,4%.

2. Профілактичне обприскування газонних покриттів у осінній період захищає рослини від ураження сніговою плісінню навесні. Так, за застосування суміші фунгіцидів Максим 025FS, т.к.с.+Хорус 75 WG, в.г. отримано високі показники захисту, які, в залежності від норм витрати, складалі - 85,3-91,5 %. Проективне покриття водночас зросло з 62% до 80-86%.

## References

1. Laptev, A. A. (1983). *Gazonny* [Lawns] Naukova dumka, Kiev, 176.
2. Kostenko, E.S. (2016). [Protective measures to limit the development of pink snow mold on lawn stands]. 2016 Natural and mathematical sciences in the modern world: Sat. Art. by meter. XI international scientific-practical conf. No. 3 (38). *Estestevennyye y` matematy`chesky`e nauky` v sovremennommy`re: sb. st. po meter. XL mezhdunar. nauch.-prakt. konf. №3(38)* Sy`bAK, Novosy`by`rsk, 20-24.
3. Samersova, V.A. (1978). *Protravly`vany`e semyan ty`mofeevky` lugovoj — effekty`vnyj sposob bor`by s geterospory`ozom* [Etching of timothy grass meadow - an effective way to combat heterosporosis]. Collection of scientific papers Belarus. VNIIZR. -Minsk, 152-156.
4. Tkachenko, O.B., Ovsyanky`na, A.V., Shhukovskaya, A.G. (2015). *Snezhnyye pleseny` : razvy`ty`e predstavleny`j y` sposoby zashhy`ty rasteny`j*. [Snow mold: development of ideas and methods of plant protection]. *Sel'skoxozyajstvennaya by`ology`ya*. T.50. — №1. 16-29.
5. Hsiang, T., Matsumoto, N., Millett, S. M. (1999). *Biology and management of Tiphula snow mold of turfgrass*. *Plant Disease*. — V. 83, №9. — P. 788–798.
6. Kry`vchenko ,V.Y`., Xoxryakova, T.M.( 1975). *Kratkiy obzor bolezney zlakovykh trav .* [A brief overview of grass diseases ]. *Byull. VY`R. L., Vyp. 50*. 77-83.
7. Chumakova, A. E. (1974). *Osnovnyye metody fitopatologicheskikh issledovaniy* .[The main methods of phytopathological research]. Under the general ed. Dr. S.-h. Kolos, Moscow, 191
8. Ret`man, S.V., , Lisovyy, M.P. , Borzykh, O.I. , M. P. Lisovoho. (2013). *Reyestracijni vy`provuvannya fungicy`div u sil`s`komu gospodarstvi*. [Registration tests of fungicides in agriculture.]. Kolobih, Kiev, 296.
9. Dospekhov, B.A. (1985). *Metodika polevogo opyta .* [Methods of field experience]. Agropromizdat, Moscow, 351 .
10. Kuperman, F. M., Moiseychik, V. A. (1977). *Vyprevaniye ozimyx kul'tur*. [Harvesting winter crops]. Gidrometeoizdat, Leningrad, 168 .
11. Makarova L. A., Minkevich, I. I., (1977). *Pogoda i bolezni kul'turnykh rasteniy*. [Weather and diseases of cultivated plants]. Gidrometeoizdat, Leningrad, 144 .
12. Bruehl ,G.W., Cunfer, B.M. (1971). *Physiologic and Environmental Factors that affect the Severity of Snow Mold of Wheat .* *Phytopathology*. Vol. 61. 792-798.

**O.M. Nychyporuk(2019).PINK SNOW MOLD (MICRODOCHIUMNIVALE (FR.) SAMUELS&I.C. HALLETT) ON TURFGRASS AND CONTROL OF ITS DEVELOPMENT.**

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 98-105

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13086>

**Abstract.** The aim of the study was to establish distribution of pink snow mold on turfgrass and to improve the measures for disease control. The crop survey was carried out in the Polissya, Forest-Steppe and Steppe areas. For the identification of pathogens, a selection of plant samples was carried out with further analysis in laboratory conditions. Experiments were carried out during 2015-2018 on the lawn mixture "Universalna". The effect of fungicides of various chemical groups and their mixtures was investigated. Treatment was carried out prophylactically in the fall before installing the snow cover. The assessments were performed according to generally accepted methods; disease spread, disease severity and technical efficiency of pesticides were determined.

Symptoms of pink snow mold were fixed annually with a large variation in the spread and severity of disease. Its highest development was recorded in the Zhytomyr region during the vegetative period 2017/2018, which is associated with a longer period of snow cover. The use of fungicides and their mixtures significantly reduced the number of infected plants, but the protective fungicidal action varied. The most effective was the use of a tank mixture of fungicides Maxim 025 FS (0.4-0.75 l/ha) with Horus 75 WG (0.3-0.6 kg/ha). The average level of fungicidal action was demonstrated by Horus 75 WG, Amistar Gold 250 SE and Amistar Extra 280 SC - 51.4-60.5%. In addition, due to the decrease in the disease development, positive effect on the formation of the quality of the lawn was achieved, projective coverage increased from 62 to 86%.

During 2015-2018, the results of the monitoring of the emergence and development of diseases showed that turfgrass was annually affected by snow mold. Development of the disease reached 14,7-26,4%. Preventive spraying of grass in the autumn period protects plants against pink snow mold in the spring. Under application of a mixture of fungicides Maxim 025 FS + Horus 75 WG high level protection was obtained. Depending on the flow rates it varied from 85.3 to 91.5%. Projective coverage thus increased from 62% to 80-86%.

**Keywords:** turfgrass, pink snow mold, disease severity, fungicides, efficiency.

---

**О.Н.Ничипорук (2019). РОЗОВАЯ СНЕЖНАЯ ПЛЕСЕНЬ (MICRODOCHIUMNIVALE (FR.) SAMUELS&I.C. HALLETT) НА ГАЗОННЫХ ТРАВСТОЯХ И МЕРЫ ОГРАНИЧЕНИЯ ЕЕ РАЗВИТИЯ .**

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(3): 112–120.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/13086>

**Аннотация.** Целью исследования было - установить распространение розовой снежной плесени на газонных травах и усовершенствовать меры ограничения развития болезни. Обследование посевов проводили в зонах Полесья, Лесостепи и Степи. Для идентификации патогенов проводили отбор растительных образцов с последующим их анализом в лабораторных условиях. Эксперименты проводили в течение 2015-2018 гг. на газонной смеси «Универсальная». Исследовали действие фунгицидов различных химических групп и их смесей. Обработка осуществлялась профилактически осенью перед установкой снежного покрова. Учеты выполняли по общепринятым методикам, опре-

деляли распространение, развитие болезней и техническую эффективность препаратов. Проявления розовой снежной плесени фиксировали каждый год со значительным варьированием в распространении и развитии болезни. Самое высокое ее развитие зафиксировано в Житомирской области в вегетационный период 2017/2018 г., что связано с более длительным периодом снежного покрова. Применение фунгицидов и их смесей существенно снизило количество инфицированных растений, однако защитное фунгицидное действие препаратов отличалось. Наиболее эффективным против снежной плесени оказалось применение баковой смеси фунгицидов Максим 025 FS, т.к.с. (0,4-0,75 л/га) с Хорус 75 WG, ВГ (0,3-0,6 кг/га). Средний уровень фунгицидного действия проявили препараты Хорус 75 WG, в.г., АмистарГолд 250 SE, КС и Амистар экстра 280 SC, КС - 51,4-60,5%. Кроме того, благодаря снижению поражения снежной плесенью, достигалось положительное влияние на формирование качества газона, проективное покрытие которого повышалось с 62 до 86%. В течение 2015-2018 гг. по результатам мониторинга появления и развития болезней установлено, что газонные травы ежегодно поражались розовой снежной плесенью. Развитие болезни достигало 14,7-26,4%. Профилактическое опрыскивание газонных покрытий в осенний период защищает растения от поражения снежной плесенью весной. Так, при применении смеси фунгицидов Максим 025 FS, т.к.с. + Хорус 75 WG, в.г. получены высокие показатели защиты, которые, в зависимости от норм расхода, составляли - 85,3-91,5%. Проективное покрытие при этом возрастало с 62% до 80-86%.

**Ключевые слова:** газонные травы, снежная плесень, развитие болезни, фунгициды, эффективность.

---