

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Odesa National University Herald

ВІСНИК ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Серія: *Біологія*

Науковий журнал
Виходить 2 рази на рік
Серія заснована у липні 2007 р.

Том 28, випуск 2(53) 2023

Одеса
ОНУ
2023

Засновник та видавець:

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Редакційна рада журналу:

В. І. Труба, д-р юр. наук (голова ред. ради); В. О. Іваниця, д-р біол. наук (заступник голови ред. ради); С. М. Андрієвський, д-р фіз.-мат. наук; В. В. Глебов, канд. іст. наук; Л. М. Дунаєва, д-р політ. наук; В. В. Заморов, канд. біол. наук; О. В. Запорожченко, канд. біол. наук; О. А. Іванова, д-р наук із соц. комунікацій; В. Є. Круглов, канд. фіз.-мат. наук; В. Г. Кушнір, д-р іст. наук; В. В. Менчук, канд. хім. наук; М. О. Подрезова, директор Наукової бібліотеки; Н. М. Крючкова, канд. екон. наук; Л. М. Токарчук, канд. юр. наук; М. І. Ніколаєва, канд. політ. наук; В. В. Яворська, д-р геогр. наук; Н. В. Кондратенко, д-р філол. наук.

Редакційна колегія журналу:

А. Бьорнер, д.б.н., професор (Німеччина); С. Верба, к.б.н. (Польща); В. В. Заморов, к.б.н., доцент (Україна); В. О. Іваниця, д.б.н., професор (Україна); К. Ковальчик, д.б.н., професор (Польща); Г. В. Майкова, к.б.н. (Польща); О. А. Макаренко, д.б.н., ст.н.с. (Україна); Ю. М. Олійник, к.б.н., доцент (Україна); С. Н. Оленін, професор (Литва); З. Селка к.б.н., (Польща); В. А. Трач, к.б.н., доцент (Україна); Г. Федак, професор (Канада); С. С. Чернадчук, к.б.н., доцент (Україна); С. В. Чеботар, д.б.н., член-кор. НААНУ (Україна) – *науковий редактор*; Т. Г. Алексєєва, к.б.н., доцент (Україна) – *відповідальний секретар*.

«Вісник Одеського національного університету. Біологія»
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»);
Затверджено Наказом МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.

Українською та англійською мовами

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу інформації
Серія КВ № 11455-328Р від 7.07.2006 р.

Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Адреса редакції: 65082, м. Одеса, вул. Дворянська, 2
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
Тел: (+380-48) 68-79-32
E-mail: gerald.biology.onu@gmail.com

© Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2023

ЗМІСТ

БОТАНІКА

Артюх М. М., Якуба І. П., Ружицька О. М., Назарчук Ю. С., Степаненко Н. І.
ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ ЦИТОКІНІНІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ
КАЛЮСОГЕНЕЗУ ТА ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЩЕП ВИНОГРАДУ
(*VITIS VINIFERA* L.) 9

Данильчук О. В., Юхименко Ю. С., Бойко Л. І., Данильчук Н. М.
ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ *SALICACEAE* MIRB. В ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕННЯХ
М. КРИВИЙ РІГ (ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ОБЛ.) 28

Попова О. М., Рогозін С. Ю.
ІСТОРІЯ БОТАНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ РАЙОНУ ТИЛГУЛЬСЬКОГО ЛИМАНУ 41

ГЕНЕТИКА І МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ

Тинкевич Ю. О., Біляй Д. В., Череватов О. В., Кагало О. О., Волков Р. А.
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА УКРАЇНСЬКИХ
ПРЕДСТАВНИКІВ КОМПЛЕКСНОГО ВИДУ *ACONITUM ANTHORA*
НА ОСНОВІ ДІЛЯНКИ ITS1-5.8S-ITS2 ЯДЕРНОГО ГЕНОМУ 73

ЗООЛОГІЯ

Делі О. Ф., Трач В. А., Підгорна С. Я., Черничко К. Й.
ПЕРША ЗНАХІДКА ВИДУ *OECOBIVUS RHODIENSIS* KRITSCHER, 1966
(ARANEI: OECOSPIIDAE) В ОДЕСЬКІЙ ОБЛАСТІ 89

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

Ларіонов В. Б., Головенко М. Я., Акішева А. С., Валіводзь І. П., Борисюк І. Ю.,
Молодан Ю. О., Макаренко О. А.
МОЛЕКУЛЯРНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ВЗАЄМОДІЮ ПРОПОКСАЗЕПАМУ
З РЕЦЕПТОРАМИ TRPV1: ДОКІНГ-АНАЛІЗ 99

Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю.
ТВАРИННІ МОДЕЛІ *IN VIVO* ДЛЯ СКРИНІНГУ ПОТЕНЦІЙНИХ
ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА ЗНЕБОЛЮЮЧИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)..... 113

Рижко І. Л., Косенко Т. В., Макаренко О. А.
ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ЗМІН СТРУКТУРНИХ
КОМПОНЕНТІВ КІСТКИ У ЩУРІВ З ХРОНІЧНИМ ХОЛЕСТАЗОМ
ПРИ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ ІЗ ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ТА СОРБЕНТУ 128

Сідлецький О. С., Макаренко О. А.
АНТИОКСИДАНТНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОФІЛАКТИЧНОГО КОМПЛЕКСУ
З КВЕРЦЕТИНОМ У ОВАРІОЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ 140

З'ЇЗДИ ТА КОНФЕРЕНЦІЇ

БІОЛОГІЧНА СЕКЦІЯ – “THE IMPORTANCE OF G. GAMOW’S IDEAS
FOR BIOLOGY OF THE 21ST CENTURY” XXIII МІЖНАРОДНОЇ ГАМОВСЬКОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ, ЩО ВІДБУВАЛАСЯ У СЕРПНІ 2023 Р. В ОДЕСЬКОМУ
НАЦІОНАЛЬНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА

Кумлегн Й.
CAS ЕНДОНУКЛЕАЗНА ТЕХНОЛОГІЯ У ЗЕРНОВИХ: ВІД САЙТ-СПРЯМВАНОВОГО
МУТАГЕНЕЗУ ДО БІЛЬШ ПРЕЦИЗІЙНОГО РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ 157

Гріффітс С., Лістер К., Слейфер Г., Кондіч-Шпіка А. ГОЙДАЛКА <i>RHT8</i>	158
Нагель М. ЗМІНИ МЕТАБОЛІТІВ В НАСІННІ ПІСЛЯ 40 РОКІВ ДОВГОТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ В ХОЛОДІ ПШЕНИЦІ ТА ЯЧМЕНЮ	158
Шіренбек М., Алкуда А. М., Табет С. Г., Авогадро Е. Г., Лохвассер У., Сімон М. Р., Бьорнер А. ГЕНЕТИЧНА ДИСЕКЦІЯ СТІЙКОСТІ ПАРОСТКІВ ДО ПОСУХОВОГО СТРЕСУ У ПАНЕЛІ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ.....	159
Чеботар Г., Бьорнер А., Нагель М. ЯК ЗНАЙТИ ГЕН-КАНДИДАТ – GWAS – З ОСОБЛИВИМ НАГОЛОСОМ НА ЗБЕРЕЖЕННІ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЯЧМЕНЮ.....	160
Попович Ю., Благодарова О., Чеботар С. ПЕРЕВАГА МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АЛЕЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ГЛІАДИНІВ.....	162
Оконь С., Очепта Т., Нуча А., Ковальчик К. ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ХРОМОСОМНА ЛОКАЛІЗАЦІЯ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ <i>PM11</i> ТА <i>PM12</i> У ВІВСА (<i>AVENA SATIVA</i> L.).....	163
Тинкевич Ю. О., Мойсієнко І. І., Панчук І. І., Волков Р. А. 5S РИБОСОМНА ДНК У ТРИБІ LİMONİEAЕ (PLUMBAGİNACEAE): МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ, ПОЛІМОРФІЗМ ТА ТАКСОНОМІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ.....	164
Бучер Е. ДИНАМІКА ГЕНОМУ РОСЛИН ТА ЕПІГЕНОМУ В КОНТЕКСТІ ЗМІНИ КЛІМАТУ	165
Ющук О., Марінееллі Ф., Федоренко В. ГЕНИ СТІЙКОСТІ ДО ГЛІКОПЕПТИДНИХ АНТИБІОТИКІВ: ОНОВЛЕНА ТОЧКА ЗОРУ.....	166
Качор А., Самборський М., Ребець Ю., Громико О. ГЕНОМНА ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАМУ АКТИНОМІЦЕТІВ <i>MUMIA</i> SP. PV 4-285 ВИДІЛЕНОГО З РИЗОСФЕРИ <i>PHYLLOSTACHYS VIRIDIGLAUCESCENS</i>	167
Сіроха Д., Калиновський В., Зелінська Н., Городна О., Лівшиць Л. ОЛІГОГЕННИЙ ВПЛИВ МУТАЦІЙ K1AA1210 ТА CFAR47 НА РОЗВИТОК ОСОБЛИВОСТЕЙ DSD У ПАЦІЄНТА З МУТАЦІЄЮ C.34G>C GATA4.....	168
Мончак Ю., Пельтьє Л., Ланевіль П. МОЛЕКУЛЯРНИЙ ДНК-ТРЕКІНГ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПУПОВИНИ З МУЛЬТИДОНОРСЬКИХ ПУЛІВ: КОЛИ ОДНОГО ДОНОРА ЗАМАЛО	169
Сегре Дж. ДРУГ ДЖОРДЖА ГАМОВА МАКС ДЕЛЬБРЮК, ЗАСНОВНИК СУЧАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ВІРУСІВ170	170

CONTENTS

BOTANY

Artyukh M. M., Yakuba I. P., Ruzhitska O. M., Nazarchuk Yu. S., Stepanenko N. I.
EFFECTIVENESS OF CYTOKININ PREPARATIONS FOR IMPROVING
CALLUSOGENESIS AND PHYSIOLOGICAL STATE OF GRAPE CUTTINGS
(*VITIS VINIFERA L.*)..... 9

Danylchuk O. V., Yukhymenko Yu. S., Boyko L. I., Danylchuk N. M.
REPRESENTATIVES OF THE FAMILY *SALICACEAE* MIRB. IN THE GREEN
SPACES OF THE CITY OF KRYVYI RIH (DNIPROPETROVSK REGION)..... 28

Popova O. M., Rohozin S. Y.
HISTORY OF BOTANICAL RESEARCH IN THE TILIGUL ESTUARY REGION..... 41

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

Tynkevich Y. O., Biliai D. V., Cherevatov O. V., Kagalo O. O., Volkov R.A.
MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION OF UKRAINIAN
REPRESENTATIVES OF THE COMPLEX SPECIES *ACONITUM ANTHORA*
BASED ON THE ITS1-5.8S-ITS2 REGION OF THE NUCLEAR GENOME 73

ZOOLOGY

Deli O. F., Trach V. A., Pidhorna S. Ya., Chernychko K. Y.
THE FINDING OF THE *OECOBIUS RHODIENSIS* KRITSCHER, 1966
(ARANEI: OECOBIIDAE) OF ODESA REGION..... 89

PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS

**Larionov V. B., Golovenko M. Ya., Akisheva A. S., Valivodz I. P., Borysiuk I. Yu.,
Molodan Yu. O., Makarenko O. A.**
MOLECULAR INSIGHTS INTO PROPOXAZEPAM INTERACTION
WITH TRPV1 RECEPTORS: A DOCKING ANALYSIS 99

Molodan Yu. O., Larionov V. B., Borysiuk I. Yu., Makarenko O. A.
IN VIVO ANIMAL MODELS FOR SCREENING POTENTIAL
ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC AGENTS (LITERATURE REVIEW)..... 113

Ryzhko I. L., Kosenko T. V., Makarenko O. A.
HISTOMORPHOMETRIC ASSESSMENT OF THE STRUCTURAL COMPONENTS
OF THE BONE IN RATS WITH CHRONIC CHOLESTASIS WITH CORRECTION
OF THE COMPLEX FROM HEPATOPROTECTOR AND SORBENT 128

Sidletskyi O. S., Makarenko O. A.
ANTIOXIDANT EFFECTIVENESS OF THE PROPHYLACTIC COMPLEX
WITH QUERCETIN IN OVARIECTOMIZED RATS 140

CONGRESSES AND CONFERENCES

BIOLOGY SECTION – “THE IMPORTANCE OF G. GAMOW’S IDEAS
FOR BIOLOGY OF THE 21ST CENTURY” XXIII INTERNATIONAL
CONFERENCE NAMED BY G. GAMOW THAT HAD TOOK PLACE
AT AUGUST 2023 IN ONU I.I. MECHNIKOV

Kumlehn J.
CAS ENDONUCLEASE TECHNOLOGY IN CEREALS: FROM SITE-DIRECTED
MUTAGENESIS TOWARDS MORE PRECISE GENOME EDITING 157

Griffiths S., Lister C., Slafer G., Kondić-Špika A. THE <i>RHT8</i> SEESAW.....	158
Nagel M. CHANGES OF SEED METABOLITE AFTER 40 YEARS OF LONG-TERM COLD STORAGE IN WHEAT AND BARLEY	158
Schierenbeck M., Alqudah A. M., Thabet S. G., Avogadro E. G., Lohwasser U., Simón M. R., Börner A. GENETIC DISSECTION FOR SEEDLING DROUGHT STRESS TOLERANCE IN A WINTER WHEAT PANEL	159
Chebotar G., Börner A., Nagel M. HOW TO FIND CANDIDATE GENE – GWAS - WITH SPECIAL EMPHASIS ON BARLEY LONGEVITY	160
Popovych Yu. A., Blagodarova O. M., Chebotar S.V. PREFERENCE OF MOLECULAR MARKERS FOR DETECTING ALLELIC VARIANTS OF GLIADINS	162
Okoń S., Ociepa T., Nucia A., Kowalczyk K. IDENTIFICATION AND CHROMOSOMAL LOCALIZATION OF <i>PM11</i> AND <i>PM12</i> POWDERY MILDEW RESISTANCE GENES IN OAT (<i>AVENA SATIVA</i> L.).....	163
Tynkevich Y. O., Moysiyenko I. I., Panchuk I. I., Volkov R. A. 5S RIBOSOMAL DNA IN THE TRIBE LIMONIEAE (PLUMBAGINACEAE): MOLECULAR ORGANIZATION, POLYMORPHISM AND TAXONOMIC APPLICATION	164
Bucher E. PLANT GENOME AND EPIGENOME DYNAMICS IN THE CONTEXT OF CLIMATE CHANGE	165
Yushchuk O., Marinelli F., Fedorenko V. GLYCOPEPTIDE ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES: AN UPDATED POINT OF VIEW	166
Kachor A., Samborskyy M., Rebets Y., Gromyko O. GENOMIC CHARACTERIZATION OF ACTINOMYCETE STRAIN <i>MUMIA</i> SP. PV 4-285 ISOLATED FROM <i>PHYLLOSTACHYS VIRIDIGLAUCESCENS</i> RHIZOSPHERE.....	167
Sirokha D., Kalynovskyi V., Zelinska N., Gorodna O., Livshits L. THE OLIGOGENIC IMPACT OF KIAA1210 & CFAP47 MUTATIONS ON THE DEVELOPMENT OF DSD FEATURES IN A PATIENT WITH A C.34G>C <i>GATA4</i> MUTATION.....	168
Monczak Yu., Peltier L., Laneuville P. MOLECULAR DNA TRACKING OF CORD BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION WITH MULTI-DONOR POOLS: WHEN ONE DONOR IS NOT ENOUGH	169
Segrè G. GEORGE GAMOW’S FRIEND MAX DELBRUCK, THE FOUNDER OF MODERN VIRUS STUDIES	170

БОТАНІКА



[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).292971](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).292971)

УДК 581.1:631.8:634.8

Аргюх М. М.¹, канд. с.-г. наук, ст. наук. сп.

Якуба І. П.², к.б.н., доцент

Ружицька О. М.², к.б.н., доцент

Назарчук Ю. С.², к.б.н., доцент

Степаненко Н. І.², магістр

¹Національний науковий центр Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова, смт. Таїрове; Одеська область, вул. 40-річчя Перемоги, 27, 65496, Україна,

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ ЦИТОКІНІНІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ КАЛЮСОГЕНЕЗУ ТА ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЩЕП ВИНОГРАДУ (*VITIS VINIFERA* L.)

Досліджено дію препаратів з цитокінінами X-Cyte та MC Set на індукцію калюсогенезу та фізіологічні показники щеп винограду. Обробку препаратами здійснювали замочуванням чубуків та щеп перед посадкою у шкілку та обприскуванням рослин винограду у шкілці. Показано стимуляцію калюсогенезу та зростання компонентів щеп, органогенезу та приживлюваності щеп у шкілці. Обробка сприяла підвищенню вмісту хлорофілу, інтенсивності дихання листків, покращенню показників водного режиму листків та ростових показників рослин. Саджанці містили більше запасних вуглеводів, вихід саджанців збільшився. Більшу ефективність проявив MC Set від Valagro із вмістом цитокінінів 0,06%.

Ключові слова: щепи винограду; саджанці; фізіологічні показники; цитокініни; калюсогенез; ріст; вуглеводи

Вегетативне розмноження винограду є проблемою, яка постійно потребує дослідження. Не втрачає актуальності оптимізація та вдосконалення прийомів і засобів, адаптація до конкретних агрокліматичних умов новостворених сортів та генотипів, що знаходяться у постійному селекційному процесі. Така робота ведеться на базі відділу розсадництва, розмноження та біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» [1,3,5,6,10]. Одним із аспектів вдалого вегетативного розмноження, зокрема живцювання підщеп, щеплення та отримання кореневласних живців винограду є використання фітогормонів [18]. Гормони цитокініни є не тільки регуляторами клітинного поділу, росту й органогенезу рослин [20], а й факторами стресовитривалості, реакції на дію несприятливих чинників середовища та адаптації до умов вирощування [19]. Від часу винаходу проведено чимало досліджень з практичного використання властивостей цитокінінів [16]. Основним напрямком наукових робіт було й залишається ви-

значення доцільності, способів застосування та механізмів дії цитокінінів за вирощування окремих видів та сортів рослин у конкретних агрокліматичних або лабораторних умовах [12].

Хоча основна сфера використання цитокінінів у виноградарстві це традиційно мікроклональне розмноження винограду [12], інтерес вчених також постійно привертає питання ефективності та механізмів позитивної дії екзогенної обробки ними рослин винограду *in vivo*, зокрема, на ріст та морфогенез, фізіологічні показники рослин і врожайність [18]. Palma і Jackson в своєму дослідженні показали, що обробка винограду сприяла галуженню пагонів стимуляцію утворення квіткових бруньок [27]. Показано можливість покращення співвідношення корінь/пагін за рахунок утворення придаточних коренів [14]. Обробка цитокінінами підвищувала вміст хлорофілу в листках винограду, навіть після попереднього спричиненого посухою зниження [23,25]. Дослідники відмічають підвищення активності ферментів вуглеводного обміну, а також підвищення осмотичного потенціалу за рахунок вуглеводних осмолітиків [26]. Багато дослідників підкреслюють покращення стійкості винограду до абіотичних стресів [15,25,33], стійкості до фітопатогенів [24,30], поглинання елементів живлення [28], спричинені цитокінінами. Є дані про збільшення ваги та розміру ягід, китиць, поліпшення біохімічних показників якості соку за обробки цитокінінами [29,30,31].

Зважаючи на наявні відомості про позитивні ефекти екзогенного застосування цитокінінів, є доцільним тестування нових форм випуску препаратів цитокінінової групи в умовах південного заходу України для оптимізації розмноження й вирощування цінних сортів щеплених саджанців винограду. Результати таких досліджень сприяють збереженню і розмноженню унікального набутку виноградарів півдня України – сорту Сухолиманський білий. Метою даної роботи було дослідити ефективність використання препаратів, що містять цитокініни, для індукції калюсогенезу та покращення стану щеп винограду сорту Сухолиманський білий.

Матеріал та методи досліджень

Матеріалом дослідження були щепи та саджанці винограду (*Vitis vinifera* L.) отримані з: прищепа – чубуки винограду сорту Сухолиманський білий [2] з пасинків 1 см в діаметрі; підщепа Ріпарія x Рупестріс 101–14 (PP101–14). Чубуки і щепи обробляли препаратами X-Cyte від компанії Stoller (містить кінетин 0,04%) та MC Set від компанії Valagro (містить цитокініни природного походження, в основному зеатин, 0,06%) за схемою: 1 – вимочування чубуків підщепа та прищепи протягом 18 годин; 2 – заливання розчину препарату у ящики перед висаджуванням щеп у шкільку; 3 – триразові вегетаційні обробки приросту щеп з інтервалом один місяць. Контроль обробляли водою. Повторність дослідів у шкільці триразова, кількість облікових щеп 100 штук. Середні по

варіантах обчислено за середніми значеннями для повторностей, дані подано у вигляді середнє арифметичне \pm похибка. Достовірність різниці між середніми контролю й досліду оцінювали за критерієм Стьюдента. Різницю вважали достовірною за $t \geq t_{st}$ для $\alpha \leq 0,05$ [7].

Для визначення інтенсивності калюсо- і коренеутворення на чубуках підщепи та прищепи робили зріз під вузлом, осліплювали вічка та вимочували у воді та робочих розчинах препаратів, що вивчалися, не менше 18 годин. На верхньому кінці робили косий зріз, загортали чубуки в вологозатримуючий матеріал та стратифікували в термостаті при температурі + 28 °C 20 діб. Чубуки вимочували 14–18 годин у воді та робочих розчинах, косий зріз робили нижче вічка. Через 21 добу після стратифікації проводили обліки інтенсивності розвитку калюсу. Лабораторні дослідження проводили на базі кафедри ботаніки ОНУ та лабораторії фізіології відділу розсадництва, розмноження та біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова».

Щеплення та вирощування щеп у шкільці проведено згідно загальноприйнятих в районі дослідження прийомів. На дослідних ділянках підтримувався загальний агротехнічний фон у відповідності до рекомендацій з догляду за шкількою. Шкілька була розташована на території приватної присадибної ділянки та території міста Біляївка, Біляївський район, Одеська область.

Розміри калюсу визначали шляхом візуальної оцінки та вимірювань. Агробіологічні показники визначали методом вимірювання. Після викопування саджанців проводили їх сортування, обліки розвитку кореневої системи шляхом візуальної оцінки відповідно до ДСТУ 4390:2005 [8].

Вплив обробок препаратами, які містять цитокініни, на фізіологічні та біохімічні показники розвитку щеп винограду визначали шляхом виконання фізіологічних і біохімічних аналізів з використанням загальноприйнятих методів: показники водного режиму рослин – ваговим методом Л. І. Сергєєва, К. О. Сергєєвої, В. К. Мельникова [3]; інтенсивність дихання листків визначали за кількістю виділеного вуглекислого газу за методом Бойсен – Йенсена [4]; вміст хлорофілів а, b їх суми в листках визначали у спиртовій витяжці спектрофотометрично за формулами Вінтерманс де Мотс в інтерпретації Мусієнко [9]; вміст редукувальних цукрів у пагонах визначали методом Бертрана [4]; вміст крохмалю в пагонах визначали за Починком [4]. Дослідження проведені протягом вегетаційного періоду 2021 року, висадку щеп у шкільку проводили у другу декаду квітня, викопування та аналіз саджанців здійснювали на початку грудня.

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив препаратів цитокінінів на калюсоутворення та зрощення підщеп та прищеп. Сорт винограду Сухолиманський білий, отримай на базі Інституту виноградарства і виноробства імені Таїрова, є унікальним набутком вітчизняної селекції винограду, який потребує збереження й постійної оптимізації аг-

ротехніки. Суттєвим етапом агротехніки сорту є щеплення. Для покращення зростання щепи з підщепою доцільно використовувати індукцію калюсогенезу, що можливе за допомогою препаратів, які містять цитокініни. Тому було проведено скринінг наявних на сучасному ринку препаратів як індукторів калюсогенезу підщеп і прищеп та оцінено ступінь зростання щеп винограду сорту Сухолиманський білий.

На двадцять першу добу після обробки препаратами й витримування в умовах постійної температури та вологості проведено візуальну оцінку утворення калюсу по периметру стебла. Щепи були поділені на групи: все коло (95–100%) по периметру обросло калюсом, більше половини (50–95%) обросли калюсом та менше половини ($\leq 50\%$). В кожній групі було оцінено середнє співвідношення між обростанням калюсами прищепи і підщепи (табл. 1). В Контролі підщепи та прищепи обростали калюсом в основному однаково, повне коло спостерігалось всього тільки у приблизно 20% щеп. Обробка препаратами з цитокінінами привела до збільшення кількості щеп, в яких спостерігалось колове формування калюсів, максимально – до 72% у варіанті MC Set на підщепках. У дослідних варіантах вдвічі знижувалась кількість щеп із слабо розвиненим (менш ніж на половину) кільцем калюсу.

Таблиця 1

Обростання калюсом периметру зрізу щеп винограду (*Vitis vinifera* L.) сорту Сухолиманський білий за дії препаратів з цитокінінами

Варіант	Частина щепи	Обростання периметру, % щеп від загальної кількості		
		95–100% периметру	50–95% периметру	$\leq 50\%$ периметру
Контроль	підщепка	22,1 \pm 2,3	64,5 \pm 2,8	13,4 \pm 1,2
	прищепка	20,2 \pm 1,8	58,9 \pm 2,3	20,9 \pm 3,5
X-Cyte	підщепка	55,4 \pm 3,7*	33,8 \pm 1,6*	10,8 \pm 0,7*
	прищепка	28,3 \pm 1,5*	65,8 \pm 2,2	5,9 \pm 0,4*
MC Set	підщепка	72,3 \pm 5,2*	21,1 \pm 1,8*	6,7 \pm 0,5*
	прищепка	43,4 \pm 1,5*	48,9 \pm 2,8*	7,7 \pm 0,6*

Примітка. Тут і далі: результати представлено у вигляді $M \pm m$, $N=3$, $n=100$, перевірку гіпотези про відмінність між дослідом і контролем здійснено за критерієм Стьюдента, * – різниця достовірна на рівні вірогідності вище 95%.

В результаті вимірювань товщини та висоти калюсу з урахуванням діаметру чубуків підщепи й прищепи було розраховано середній об'єм калюсів за варіантами (табл. 2). Обидва препарати з цитокінінами стимулювали збільшення

об'єму калюсів, більший ефект спостерігався на дії MC Set. Даний препарат збільшував об'єм калюсу на підщепі відносно контролю в середньому на 60%, на прищепі – вдвічі.

Для точнішої оцінки стану калюсів було визначено дію цитокінінових препаратів на сиру та суху вагу калюсів та вміст води, що показує ступінь їх обводнення (табл. 2). Препарат X–Cyte збільшував ці показники у підщеп на 28 та 56%, прищеп 27 і 26%, відповідно. Препарат MC Set збільшував вагу калюсів підщеп на 47 та 81%, прищеп на 103 та 92%.

На підщепах у дослідних варіантах спостерігається незначне, але достовірне зниження вмісту води, що говорить про ущільнення калюсу, і може бути пов'язане із скорішим формуванням перидерми.

Таблиця 2

**Показники стану калюсів винограду (*Vitis vinifera* L.)
сорту Сухолиманський білий за дії препаратів з цитокінінами**

Варіант	Компонент щепи	Об'єм, см3	Сира маса, мг	Суха маса, мг	Обводнення, %
Контроль	підщеп	0,33±0,02	35,5±2,1	7,8±0,3	77,8±1,2
	прищеп	0,25±0,05	25,3±1,4	6,2±0,3	75,5±1,5
X–Cyte	підщеп	0,42±0,07	45,4±2,7*	12,2±0,5*	73,2±0,9*
	прищеп	0,32±0,05	32,3±2,5*	7,8±0,2*	75,9±0,6
MC Set	підщеп	0,55±0,07*	52,1±4,2*	14,1±0,8*	72,7±0,7*
	прищеп	0,57±0,07*	51,4±2,5*	11,9±0,8*	77,7±0,8

Досліджені препарати викликали покращення зростання підщепи й прищепи винограду. Щепи було поділено на три групи за ступенем зростання: більше половини зрізу, менше половини та відсутнє зростання (рис. 1). За результатами дослідження, кількість добре зрощених щеп збільшується за впливу препаратів, а щеп з відсутніми ознаками зростання майже немає.

Слід зазначити невелику кількість робіт із докладним описом стану калюсів живців винограду за дії цитокінінів в іноземних джерелах, хоча на базі ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова» у попередні роки досліджували вплив бензиламінопурину на показники щеп у шкільці [6]. В огляді Aremu та ін. [13] підкреслено, що створення оптимальних протоколів застосування цитокінінів для мікрোকлонального та вегетативного розмноження рослин – це шлях спроб і помилок, що дає результат для окремого виду та сорту. За даними нашого дослідження можна стверджувати, що застосована схема обробки чубуків X–Cyte та MC Set є ефективним засобом стимуляції калюсоутворення за вегетативного розмноження винограду сорту Сухолиманський білий та PP101–14.

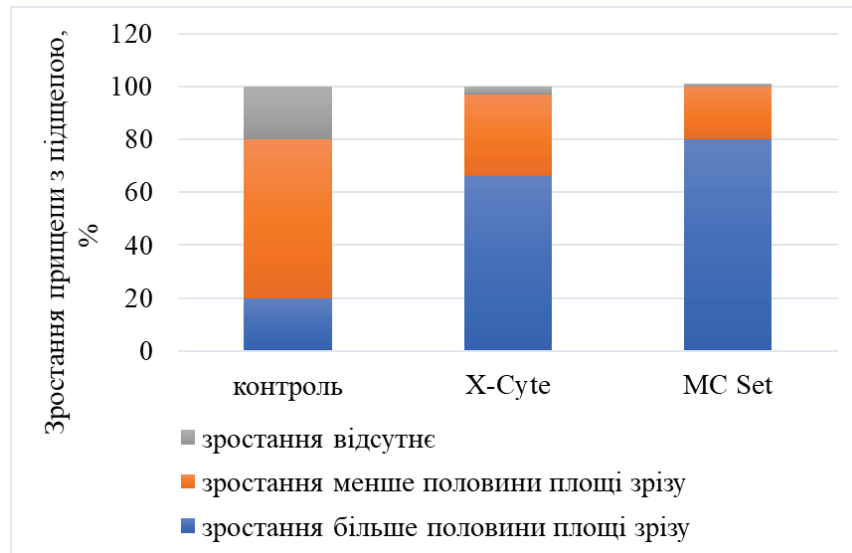


Рис. 1. Вплив обробки препаратами з цитокінінами на зростання компонентів щеп (прищепи з підщепою) винограду (*Vitis vinifera* L.) сорту Сухолиманський білий, % щеп із зростанням більше половини площі зрізу, менше половини та незрощених, відносно загальної кількості щеп.

Поряд із стимуляцією калюсогенезу у щеп спостерігали підсилення ризогенної активності підщепи після обробки розчинами цитокінінових препаратів: у дослідних варіантах кількість кореневих пагорбків та корінців збільшилась на 21 та 61%, відповідно, довжина на 29% за дії MC Set, а вага зросла на 39 та 87% в двох варіантах відносно контролю. Ця позитивна ознака має особливе значення, тому що за дії цитокінінів, як відомо [20], є ризик порушення донорно-акцепторної взаємодії між полюсами рослини й інгібування коренеутворення за рахунок переважання паростків. Однак правильно підібрані протоколи для мікроклонального розмноження, розробка яких постійно триває [13,14,32] та підбір препарату та схеми обробки рослин *in vivo* [17] дозволили досягти стимуляції коренеутворення у лабораторних та ґрунтових умовах.

Таким чином, обраний у нашому дослідженні засіб обробки і склад препарату цитокініну можна вважати придатним для укорінення щеп винограду. Особливо слід відмітити, що стимуляцію коренеутворення спостерігали на підщепі PP101–14, яку використовують для отримання живців багатьох сортів винограду, зокрема на півдні України. Збільшення довжини було низьким відносно збільшення кількості і маси коренів, тобто корінці на дослідних варіантах були більш щільними. Зважаючи на те, що цитокінін-залежне підвищення співвідношення корінь-пагін є доведеною для різних сільгоспкультур [28,32] передумовою кращого поглинання елементів живлення та води за несприят-

ливих ґрунтових умов, отриманий за допомогою обробки X-Cyte та MC Set стимулювальний ефект на ризогенез забезпечуватиме кращу приживлюваність щеп у ґрунті.

Показники пагонів прищепи теж суттєво покращувались за дії препаратів. Довжина пагонів – на 62 та 71%, середня вага суми пагонів на щепі – на 39 та 61%, що є закономірним й характерним результатом застосування цитокінінів. Екзогенна обробка саджанців плодкових дерев та винограду у шкілках за даними різних дослідників сприяє галуженню, утворенню адвентивних бруньок та стимулює ріст бічних пагонів [17,21,23,27]. Більші значення отримано у варіанті з MC Set, ніж X-Cyte (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив препаратів з цитокінінами на органогенез щеп винограду (*Vitis vinifera* L.) сорту Сухоліманський білий

Варіант	Кількість коренів, шт	Довжина коренів, см	Вага вологих коренів, г	Довжина пагону, см	Вага вологих пагонів, г
Контроль	1,72±0,11	2,06±0,21	0,23±0,02	2,35±0,12	0,18±0,02
X-Cyte	2,08±0,15	2,19±0,19	0,32±0,02*	3,81±0,19*	0,25±0,01*
MC Set	2,77±0,09*	2,65±0,13*	0,43±0,03*	4,03±0,15*	0,29±0,02*

Таким чином, в процесі щеплення винограду прищепами сорту Сухоліманський білий спостерігали виражений стимулювальний ефект розчинів препаратів, які містять кінетин (X-Cyte) та зеатин (MC Set) на калусоутворення та початкові етапи органогенезу щеп винограду перед висадкою у шкілку. Застосовані препарати у концентраціях, рекомендованих виробниками, продемонстрували типовий для цитокінінів ефект покращення поділу та стимуляції розвитку бруньок прищепи. Не відмічене гальмування коренеутворення, навпаки, суттєво збільшувалась вага і кількість корінців, корінці були більш щільними. Сильніший стимулювальний ефект відмічений для препарату MC Set, що може бути пов'язане із наявністю корисних компонентів на додаток до цитокінінів у його складі.

Для препаратів цитокінінів на фізіологічні та агробіологічні показники щеп винограду у шкілці. Щепи отримані в лабораторії висаджували в ґрунт, попередньо відсортувавши. Висаджували тільки життєздатні щепи стандартного виду із рівномірно розвинутою кореневою системою і життєздатними паростками. На момент висадки щепи були вже двічі оброблені препаратами: на етапі обробки чубуків та на етапі укорінення в ящиках. Після двох тижнів за збереженням тургору, забарвленням, та наявністю приросту оцінювали приживлюваність щеп в умовах шкілки у ґрунті. Загалом, застосування препаратів з цитокінінами X-Cyte та MC Set підвищувало приживлюваність, хоча за несприятливих посушливих умов весни поточного року вона була досить низькою (рис. 2).

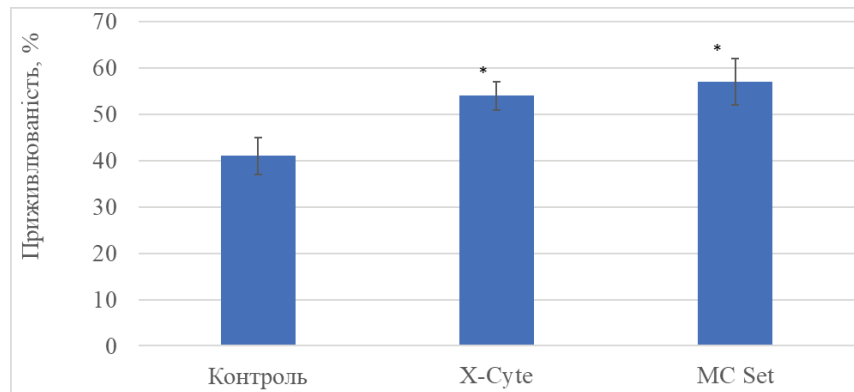


Рис. 2. Вплив препаратів з цитокінінами на приживлюваність в умовах шкільки щеп винограду (*Vitis vinifera L.*) сорту Сухолиманський білий.

Обидва дослідні препарати покращували приживлюваність у шкільці на третину відносно контролю, що може бути зумовлене ефектом цитокінінів щодо здатності до самовідновлення рослин за умов стресів, таких як висадка у ґрунт.

Відомим фізіологічним ефектом цитокінінів є підвищення вмісту хлорофілу в листках та покращення стану фотосинтетичного апарату [13,20]. Після другої вегетативної обробки щеп у шкільці на фоні інтенсивного вегетативного росту визначали вміст хлорофілів в листках винограду. Результати визначення свідчать, що вміст хлорофілів суттєво підвищувався за впливу препаратів (табл. 4): під впливом препарату X-Cyte в середньому на 33%, під дією MC Set – на 42%. Зростання вмісту хлорофілів відбувалося за рахунок вмісту хлорофілу «а». Це показує інтенсивніший синтез хлорофілу у дослідних варіантах та показує омолоджувальну дію цитокінінів на фотосинтетичний апарат рослин Аналогічний ефект спостерігали на винограді сорту в умовах [25].

Покращення стану фотосинтетичного апарату забезпечує більш інтенсивний фотосинтез та накопичення його продуктів, які є субстратами дихання тканин листка. Визначення інтенсивності дихання показує забезпеченість метаболітами тканин та інтенсивність метаболізму. В дослідних варіантах спостерігали підвищення інтенсивності дихання на 28 та 22% за дії X-Cyte та MC Set, відповідно (табл. 4). Підсилення активності ферментів вуглеводного метаболізму спостерігали Olmedo із співавторами у тканинах столових сортів винограду [26]

Основним стресовим чинником навколишнього середовища на виноградниках півдня України є недостатнє вологозабезпечення [1,3]. Якщо нестачу ґрунтової вологи було компенсовано за рахунок крапельного зрошення, то повітряна посуха та високі температури все одно спричиняють стресове навантаження на

рослини щеп. За таких умов обводненість тканин листка є основною групою критеріїв для оцінки фізіологічного стану рослини під дією стресорів середовища. За впливу MC Set збільшувалось обводнення тканин листків на 7% (табл. 4). Вміст легкоутримної води знижувався на 24 та 21% за дії X-Cyte та MC Set, відповідно. Підвищувалась водоутримна здатність листків на 21 та 26%.

Застосування цитокінінових препаратів за таких умов є дуже цікавим і нетрадиційним підходом, тому що у природній системі регуляції за дії стресорів має місце інгибування цитокінінів, яке є нормальною стресовою реакцією рослин. Проте для ростових процесів та продуктивності рослин це є негативним явищем у сільському господарстві. Застосування цитокінінів сприяє скорішому переходу від стану стресу до стану продуктивного росту, екзогенні цитокініни сприяють самовідновленню рослин, стресовитривалості, що проявляється у здатності підтримувати водний баланс тканин [13,18,20,28]. Саме ці зазначені позитивні ефекти підтверджує аналіз фізіологічних показників щеп винограду Сухолиманський білий.

Таблиця 4

Фізіологічні показники листків щеп винограду (*Vitis vinifera* L.) сорту Сухолиманський білий за дії препаратів з цитокінінами

Варіант	Обводнення тканин, %	Легкоутримна вода, %	Водоутримна здатність, %	Сума хлорофілів, мг/г	Співвідношення хлорофілів а/б	Інтенсивність дихання, мг CO ₂ /м ² ·год.
Контроль	75,0±1,4	18,1±1,2	19,3±2,0	1,462±0,037	1,6±0,2	13,4±0,4
X-Cyte	75,9±0,9	14,3±1,5*	23,3±1,1*	1,761±0,033*	2,2±0,1*	17,0±0,6*
MC Set	79,8±1,5*	13,4±1,2*	24,3±0,9*	2,020±0,023*	2,2±0,1*	16,1±0,7

Про покращення росту щеп за дії цитокінінів в умовах шкільки свідчать зміни в агробіологічних ростових показниках рослин у дослідних варіантах (табл. 5). Препарати X-Cyte та MC Set стимулювали розвиток системи пагонів щеп винограду. Довжина пагонів збільшувалась на 34 та 26%, діаметр та ступінь визрівання пагонів підвищувалися на чверть за впливу MC Set. Є тенденція до збільшення кількості пагонів на рослині, що є наслідком стимуляції розвитку бруньок цитокінінами, що, зокрема, є одним з очікуваних ефектів від застосування цієї групи гормонів на винограді, що спостерігали інші дослідники [27]. Міжвузля не подовжуються, тобто товстіші та однаково щільні пагони за дії цитокінінів є більш міцними та створюють добру базу для створення фотосинтетичної поверхні та запасання поживних речовин для наступного року. Сама фотосинтетична поверхня рослин збільшується за рахунок підвищення площі листків – на 24 та 29% та їх кількості – на 26 і 35% під впливом X-Cyte та MC Set, відповідно.

Таблиця 5

**Ростові показники щеп винограду (*Vitis vinifera* L.)
сорту Сухолиманський білий**

Варіант	Контроль	X-Cyte	MC Set
Середня довжина пагонів, см	56,5±2,9	75,8±6,9*	71,2±12,5*
Середній діаметр пагонів, мм	4,9±0,4	5,7±0,3	6,1±0,2*
Кількість пагонів, шт.	2,9±0,3	3,3±0,3	3,4±0,2
Визрівання пагонів, %	71,5±2,5	69,6±1,7	75,4±1,8*
Середня довжина міжвузля, см	4,7±0,3	5,1±0,2	5,0±0,5
Середня площа одного листка, см ²	44,2±2,2	55,1±5,3*	58,2±6,2*
Кількість листків, шт	21,2±1,9	26,7±1,8*	28,7±2,5*

Таким чином, застосування препаратів X-Cyte та MC Set, які містять цитокініни, яке продовжувалося після висадки щеп у шкільку шляхом листових обробок (два рази на момент проведення аналізів) покращувало стан та функціональність фотосинтетичного апарату за показниками вмісту пігментів, інтенсивності дихання та розвитку листків, показники водного режиму листків та ріст системи пагонів – за результатами агробіологічних визначень.

Стан саджанців винограду за обробки препаратами цитокінінів

За морфологічними ознаками відповідно до ДСТУ 4390:2005 [8] вихід якісних саджанців за впливу X-Cyte був на 27%, а MC Set Valagro – на 35% вищий за контроль (табл. 6). Після входу рослин щеп винограду сорту Сухолиманський білий у стан зимового спокою було визначено основні біохімічні показники зимостійкості та потенціалу майбутнього врожаю – вміст цукрів та крохмалю в пагонах. Вміст редукувальних цукрів та цукрози збільшувався на 39 та 47% та на 50 та 55% за обробки X-Cyte та MC Set, вміст крохмалю на 17 та 16%. Тобто обробка препаратами сприяє накопиченню поживних речовин у пагонах, що є свідченням кращої якості саджанців винограду цього року. З високим вмістом запасних вуглеводів саджанці, за даними досліджень на базі ННЦ імені Таїрова [11], краще перезимують та приживляться навесні після пересадки.

Дані про збільшення вмісту вуглеводів у стеблах саджанців після листової обробки цитокінінами є досить унікальними, хоча в літературі є численні свідчення про підвищення вмісту цукрів та полісахаридів клітинних стінок в ягодах столових та технічних сортів винограду [24, 29, 30, 31].

Таблиця 6

Вихід саджанців та вміст цукрів у пагонах винограду (*Vitis vinifera* L.) сорту Сухолиманський білий

Варіант	Вихід саджанців, %	Вміст редукувальних цукрів, % у перерахунку на масу сухої речовини	Вміст цукрози, % у перерахунку на масу сухої речовини	Вміст крохмалю, % у перерахунку на масу сухої речовини
Контроль	32,4±2,2	3,6±1,4	2,2±0,2	6,3±0,3
X-Cyte	38,1±1,6*	5,0±0,9	3,3±0,5*	7,4±0,4*
MC Set	41,0±1,6*	5,3±1,5*	3,4±0,4*	7,3±0,3*

Таким чином, отримано закономірний економічний результат, передумовою якого були стимуляція цитокінінами калюсогенезу та зрощення чубуків, органогенезу, приживлюваності, фізіолого-біохімічних показників фотосинтезу та водного режиму, ростових показників за накопичення запасних речовин щеп у шкілці. Застосування препаратів з цитокінінами, а особливо MC Set Valagro є перспективним для покращення агротехніки розмноження районаного сорту винограду Сухолиманський білий.

Висновки

1. Обробка препаратами X-Cyte та MC Set, які містять цитокініни, винограду сорту Сухолиманський білий стимулювала калюсоутворення чубуків підщепи та прищепи: збільшувала обростання калюсом по периметру, підвищувало об'єм та масу калюсів на 26% – 100%, покращувала зростання компонентів щеп.

2. За дії препаратів наявне підсилення органогенезу чубуків винограду сорту Сухолиманський білий: у півтора-два рази збільшувалась кількість, довжина та вага корінців на підщепі; довжина та вага паростків на прищепі.

3. Обробка препаратами X-Cyte та MC Set на третину підвищувала приживлюваність щеп винограду сорту Сухолиманський білий в шкілці; стимулювала фізіологічні показники щеп за вирощування у шкілці: накопичення хлорофілів в листках та інтенсивності дихання листків; спричиняла оптимізацію водного режиму листків за рахунок збільшення обводнення тканин, зниження вмісту легкоутримної води та покращення водоутримної здатності листків. Фотосинтетична поверхня щеп зростала за рахунок підвищення площі окремих листків – на 24 та 29% та їх кількості – на 26 і 35%. В оброблених препаратами X-Cyte та MC Set щеп наявні ознаки стимуляції ростових показників за агробіологічними параметрами: в середньому на чверть збільшувались довжина пагонів, діаметр та ступінь визрівання пагонів.

4. В зимовий період перед викопуванням саджанців винограду сорту Сухолиманський білий вміст редукувальних цукрів та цукрози в пагонах вино-

граду збільшувався на 39 та 47% та на 50 та 55% за обробки X-Cyte та MC Set, вміст крохмалю на 17 та 16%, що свідчить про покращення їх зимостійкості.

5. Препарати з цитокінінами X-Cyte та MC Set підвищували вихід саджанців відповідно ДСТУ на 27% та 35%, що дозволяє вважати застосування даних препаратів ефективним засобом покращення вегетативного розмноження винограду сорту Сухолиманський білий. Більшу ефективність за дослідженими параметрами проявив препарат MC Set, який містить 0,06% цитокінінів.

Стаття надійшла до редакції 11.08.2023

Список використаної літератури

1. Александров Е. Г., Ботнар В. Ф., Гаина Б. С. Функциональность генотипов винограда и экотехнологии. *Виноградарство и виноделие: межведомственный тематический научный сборник; посвященный 160-летию со дня рождения В. С. Таирова* / НААН, ННЦ «Институт виноградарства и виноделия им. В. С. Таирова». Одеса: ННЦ «ІВіВ ім. В. С. Таїрова», 2019. Вип. 56. С. 9.
2. Ампелографический атлас сортов и форм винограда селекции ННЦ ИВиВ им. В. Е. Таирова / В. В. Власов, Н. А. Мулюкина, Л. В. Джабурия и др. К.: Аграр. наука, 2014. С. 98–100.
3. Борун В. В. Особенности роста та розвитку щеплених саджанців винограду за різних рівнів передполивної вологості ґрунту. *Виноградарство і виноделие: міжведомчий тематичний науковий збірник; присвячений 160-річчю від дня народження В. С. Таїрова* / НААН, ННЦ «Інститут виноградарства і виноделия ім. В. С. Таїрова». Одеса: ННЦ «ІВіВ ім. В. С. Таїрова», 2019. Вип. 56. С. 13.
4. Городній М. М. Агрохімічний аналіз: підручник. Київ: Арістей, 2005. 476 с.
5. Зеленинская Н. Н., Артюх Н. Н., Борун В. Ю. Капельное орошение виноградной школки *Modern science*. 2019. № 7. С. 61–72.
6. Кучер Г. М., Зеленинская Н. Н. Применение физиологически активных веществ в растениеводстве. *Виноградарство и виноделие*. Одеса, 2006. С. 67–76.
7. Ромакин В. В. Комп'ютерний аналіз даних: Навчальний посібник. Миколаїв: Вид-во МДГУ ім. Петра Могили, 2006. 144 с.
8. Саджанці винограду та чубуки виноградної лози: ДСТУ ISO 4390:2005. Технічні умови. [Чинний від 2005–04–01]. К.: Держспоживстандарт України, 2006. 18 с. (Національні стандарти України).
9. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та фізіології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний та ін. Київ: Соціоцентр, 2001. 348 с.
10. Таран Н. Г., Солдатенко Е. В. Современная виноградо-винодельческая наука и перспективы *Виноградарство и виноделие: межведомственный тематический научный сборник; посвященный 160-летию со дня рождения В. С. Таирова* / НААН, ННЦ «Институт виноградарства и виноделия им. В. С. Таирова». Одеса: ННЦ «ІВіВ ім. В. С. Таїрова», 2019. Вип. 56. С. 121.
11. Шерер В. А., Зеленинская Н. Н. Выращивание виноградных саженцев. *Сад, виноград и вино Украины*. Київ, 2019. № 3–4. С. 22–27.
12. Aremu A. O., Fawole O. A., Makunga N. P., Nqobile A. Masondo, Moyo M., Buthelez N. M. D., Amoo S. O., Spíchal L., Doležal K. Applications of Cytokinins in Horticultural Fruit Crops: Trends and Future Prospects *Biomolecules*. 2020. 10(9). 1222. doi: 10.3390/biom10091222
13. Aremu A. O., Doležal K., Van Staden J. New cytokinin-like compounds as a tool to improve rooting and establishment of micropropagated plantlets. *Acta Hort.* 2017. 497–504. doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1155.73.
14. Arya A., Sharma V., Tyagi P. K., Gola D., Husen A. Role of cytokinins in adventitious root formation / Environmental, Physiological and Chemical Controls of Adventitious Rooting in Cuttings. *Plant Biology, Sustainability and Climate Change*. 2022. 239–249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90636-4.00017-9>
15. Azuara M., González M.-R., Mangas R., Martín P. Effects of the application of forchlorfenuron (CPPU) on the composition of verdejo grapes *BIO 43rd World Congress of Vine and Wine Web of Conferences* 56. 2023. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601022>
16. Baltazar M., Correia S., Guinan K. J., Sujeeth N., Bragança R., Gonçalves Recent Advances in the Molecular Effects of Biostimulants in Plants: An Overview. *Biomolecules*, 2021, 11(8), 1096; <https://doi.org/10.3390/biom11081096>

17. Biswal A., Rout Ch. K. Effect of Cytokinin on Fruit Crops *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2020. 9(11). 2896–2903. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.911.351>
18. Cataldo E. Biostimulants in Viticulture: A Sustainable Approach against Biotic and Abiotic Stresses. *Plants*. 2022. 11(2), 162. <https://doi.org/10.3390/plants11020162>
19. Cortleven A., Leuendorf J.E., Frank M., Pezzetta D., Bolt S., Schmülling T. Cytokinin action in response to abiotic and biotic stresses in plants. *Plant Cell Environ.* 2019. 42(3). 998–1018. doi: 10.1111/pce.13494.
20. Jameson P.E. Cytokinin. *Plant Physiology and Development / Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (Second Edition). ELSEVIER, 2017. P. 391–402.
21. Gaštoł M., Domagała-Świątkiewicz I., Bijak M. The effect of different bioregulators on lateral shoot formation in maiden apple trees. *Folia Horti.* 2012. 24. 147–152. doi: 10.2478/v10245-012-0018-9.
22. Kieber J. J., Schaller G.E. Cytokinin Signaling in Plant Development. *Development*, 2018. 145 (4), 7. doi:10.1242/dev.149344
23. Koprna R., De Diego N., Dundáková L., Spíchal L. Use of cytokinins as agrochemicals. *Bioorganic Med. Chem.* 2016. 24. 484–492. doi: 10.1016/j.bmc.2015.12.022.
24. Marzouk H., Kassem H.A. Improving yield, quality, and shelf life of Thompson seedless grapevine by preharvest foliar applications. *Sci. Hortic.* 2011. 130. 425–430. doi: 10.1016/j.scienta.2011.07.013.
25. Montanaro G., Briglia N., Lopez L., Amato D., Panara F., Petrozza A. A synthetic cytokinin primes photosynthetic and growth response in grapevine under ion-independent salinity stress. *Journal of Plant Interactions*. 2022. 17 (1). 789–800 <https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2102259>
26. Olmedo P., Núñez-Lillo G., Vidal J., Leiva C., Rojas B., Sagredo K., Arriagada C., Defilippi B. G., Pérez-Donoso A.G., Meneses C., Carpentier S., Pedreschi R., Campos-Vargas R. Proteomic and metabolomic integration reveals the effects of pre-flowering cytokinin applications on central carbon metabolism in table grape berries. *Food Chemistry*. 2023. 411. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135498>
27. Palma B. A., Jackson D.I. Inflorescence initiation in grapes – response to plant growth regulators. *Vitis* .1989. 28. 1–12.
28. Prasad R. Cytokinin and Its Key Role to Enrich the Plant Nutrients and Growth Under Adverse Conditions-An Update *Frontiers in Genetics*. 2022. 13. doi: 10.3389/fgene.2022.883924
29. Rojas B., Suárez-Vega F., Saez-Aguayo S., Olmedo P., Zepeda B., Delgado-Rioseco J., Defilippi Br. G., Pedreschi R., Meneses C., Pérez-Donoso A. G., Campos-Vargas R. Pre-Anthesis Cytokinin Applications Increase Table Grape Berry Firmness by Modulating Cell Wall Polysaccharides. *Plants (Basel)*. 2021. 10(12). 2642. doi: 10.3390/plants10122642
30. Strydom J. Research note: Effect of CPPU (N-(2-Chloro-4-pyridinyl)-N'-phenylurea) and a seaweed extract on Flame seedless, Redglobe and Crimson seedless grape quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2016. 34. 233–240. doi: 10.21548/34-2-1099.
31. Zabadal T. J., Bukovac M.J. Effect of CPPU on fruit development of selected seedless and seeded grape cultivars. *HortScience*. 2006. 41. 154–157. doi: 10.21273/HORTSCI.41.1.154.
32. Zhang T.-Q., Lian H., Zhou C.-M., Xu L., Jiao Y., Wang J.-W. A two-step model for *de novo* activation of *WUSCHEL* during plant shoot regeneration. *Plant Cell*. 2017. 29. 1073–1087. doi: 10.1105/tpc.16.00863.
33. Zwack P. J., Rashotte A. M. Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses. *J. Exp. Bot.* 2015. 66. 4863–4871. doi: 10.1093/jxb/erv172.

**М. М. Артюх¹, І. П. Якуба², О. М. Ружицька², Ю. С. Назарчук²,
Н. І. Степаненко²**

¹Національний науковий центр Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова, смт. Таїрове; Одеська область, вул. 40-річчя Перемоги, 27, 65496, Україна,

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: irinayakuba@yahoo.com

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ ЦИТОКІНІНІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ КАЛЮСОГЕНЕЗУ ТА ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЩЕП ВІНОГРАДУ (*VITIS VINIFERA* L.)

Анотація

Проблема. Гормони цитокініни є не тільки регуляторами клітинного поділу, росту та органогенезу рослин, а й факторами стресовитривалості, реакції на дію несприятливих чинників середовища та адаптації до умов вирощування. Розмноження й вирощування цінних сортів щеплених саджанців винограду потребує тестування нових форм випуску препаратів цитокінінової групи *in vivo* в умовах південного заходу України.

Мета. Дослідити ефективність використання препаратів, що містять цитокініни для індукції калюсогенезу та покращення стану щеп винограду сорту Сухолиманський білий.

Методика. Матеріалом дослідження були щепи та саджанці винограду, отримані з: прищепа – чубуки винограду сорту Сухолиманський білий з пасинків 1 см в діаметрі; підщепа Ріпарія х Рупестріс 101–14. Чубуки і щепи обробляли препаратами X-Cyte від компанії Stoller (містить кінетин 0,04%) та MC Set від компанії Valagro (містить зеатин 0,06%) за схемою: 1 – вимочування чубуків підщепи та прищепи протягом 18 годин; 2 – заливання розчину препарату у ящики перед висаджуванням щеп у шкілку; 3 – триразові вегетаційні обробки приросту щеп з інтервалом один місяць. Контроль обробляли водою. Визначення інтенсивності калюсо- і коренеутворення проводили через 21 добу після стратифікації. Після викопування саджанців проводили їх сортування, обліки розвитку кореневої системи шляхом візуальної оцінки відповідно до ДСТУ 4390:2005. Вплив обробок препаратами, які містять цитокініни на фізіологічні та біохімічні показники розвитку щеп винограду визначали шляхом виконання фізіологічних і біохімічних аналізів з використанням загальноприйнятих методів: показники водного режиму ваговим методом Л. І. Сергеева, К. О. Сергеевої, В. К. Мельникова; інтенсивність дихання листків визначали за кількістю виділеного вуглекислого газу за методом Бойсен – Йенсена; вміст хлорофілів а, b їх суми в листках визначали у спиртовій витяжці спектрофотометрично за формулами Вінтерманс де Моте в інтерпретації Мусієнка (2001); вміст редуковальних цукрів у лозі визначали методом Бертрана; вміст крохмалю в лозі визначали за Починком.

Основні результати. Обробка препаратами стимулювала обростання чубуків підщепи та прищепи калюсом по периметру, підвищуючи кількість чубуків, які формували повне кільце та зменшуючи кількість чубуків, в яких калюсо займає менше половини периметру стебла. Також вимочування препаратами підвищувало на величини від 26% до 100% об'єм та масу калюсів. При цьому покращується зростання компонентів щеп: кількість добре зрощених щеп

збільшується за впливу препаратів, а щеп з відсутніми ознаками зростання майже немає. Поряд із стимуляцією калюсогенезу у щеп спостерігали підсилення органогенезу: кількість корневих пагорбків та корінців збільшилась на 21 та 61%, відповідно, довжина на 29% за дії MC Set, а вага зросла на 39 та 87% в двох варіантах відносно контролю; довжина паростків підвищувалась на 62 та 71%, середня вага суми паростків на щепі – на 39 та 61%.

Якщо в лабораторних умовах підчас зростання підщепи з прищепою позитивний ефект препаратів є результатом стимуляції поділу клітин, що є типовим проявом дії цитокінінів, то в умовах відкритого ґрунту можливість позитивного впливу на щепи цитокінінових препаратів спостерігали вперше в районі дослідження. Обробка препаратами, яка тривала протягом літа, в середньому на третину підвищувала приживлюваність щеп в шкільці. Під впливом препарату X-Cyte вміст хлорофілів підвищувався в середньому на 33%, під дією MC Set – на 42%. Зростання вмісту хлорофілів відбувалося за рахунок вмісту хлорофілу «а». Зазначений ефект обприскування цитокінінами відповідає класичному механізму дії цього фітогормону – озеленіння листків та відновлення хлоропластів. Покращення стану фотосинтетичного апарату як джерела субстратів дихання сприяє підвищенню інтенсивності дихання на 28 та 22% за дії X-Cyte та MC Set, відповідно. За впливу MC Set збільшувалось обводнення тканин листків на 7%. Вміст легкоутримної води знижувався на 24 та 21% за дії X-Cyte та MC Set відповідно. Підвищувалась водоутримна здатність листків на 21 та 26%. Такий ефект даних цитокінінових препаратів спостерігали вперше. Дія комплексу стресорів за вирощуванні щеп у шкільці в умовах півдня України може знижувати природний рівень цитокінінів в рослинах. Екзогенне внесення сприяє відновленню росту і, в результаті, кращій стресовитривалості рослин. Саме про більш інтенсивний ріст свідчить покращення агробіологічних показників рослин. Довжина пагонів збільшувалась на 34 та 26%, діаметр та ступінь визрівання пагонів підвищувалися на чверть за впливу MC Set. Є тенденція до збільшення кількості пагонів на рослині, що є наслідком стимуляції розвитку бруньок цитокінінами. Фотосинтетична поверхня рослин збільшується за рахунок підвищення площі окремих листків – на 24 та 29% та їх кількості – на 26 і 35% під впливом X-Cyte та MC Set, відповідно. Покращення фізіологічного стану рослин щеп винограду протягом вегетації сприяло накопиченню більшої кількості запасних вуглеводів при переході у стан зимового спокою. Вміст редуковувальних цукрів та цукрози збільшувався на 39 та 47% та на 50 та 55% за обробки X-Cyte та MC Set, вміст крохмалю на 17 та 16%. Основним економічним результатом застосування препаратів X-Cyte та MC Set є вихід стандартних саджанців, який зростає на за впливу X-Cyte був на 27%, а MC Set – на 35%.

Висновки. Обробка чубуків винограду препаратами з цитокінінами X-Cyte та MC Set сприяла калюсогенезу та зростанню компонентів щеп, органогенезу та приживлюваності щеп у шкільці. Спостерігали покращення показників фізіологічного стану щеп винограду Сухолиманський білий: вмісту хлорофілу, інтенсивності дихання листків, показників водного режиму листків та ростових показників рослин. Саджанці містили більше запасних вуглеводів. Обробка препаратами з цитокінінами дозволила отримати на третину більше стандартних саджанців. Ефективнішим з препаратів MC Set від Valagro із вмістом цитокінінів 0,06%.

Ключові слова: щепи винограду; саджанці; фізіологічні показники; цитокініни; калюсогенез; ріст; вуглеводи

**M. M. Artyukh¹, I. P. Yakuba², O. M. Ruzhytska², Yu. S. Nazarchuk²,
N. I. Stepanenko²**

¹ National Scientific Centre «V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking» NAAS of Ukraine; Odesa region, 40th anniversary of Victory street, 27, 65496, Tairove, Ukraine

² Odesa I. I. Mechnikov National University, Dvoryanska street, 2, Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: irinayakuba@yahoo.com

EFFECTIVENESS OF CYTOKININ PREPARATIONS FOR IMPROVING CALLUSOGENESIS AND PHYSIOLOGICAL STATE OF GRAPE CUTTINGS (*VITIS VINIFERA* L.)

Summary

Problem. Cytokinin hormones are not only regulators of cell division, growth and organogenesis of plants, but also factors of stress resistance, response to adverse environmental factors and adaptation to growth conditions. Propagation and cultivation of valuable varieties of grafted grape seedlings requires testing of new forms of release of the cytokinins *in vivo* in the conditions of southwestern Ukraine.

Aim. Research of the effectiveness of the use of preparations containing cytokinins for the induction of callogenesis and the improvement of the state of grape cuttings of the grape variety Sukholimanskyi white.

Methods. In the study we used grape scions and seedlings obtained from: scion – Sukholimanskyi white grapes from stepsons 1 cm in diameter; rootstock Riparia x Rupestris 101–14. Rootstocks and scions were treated with growth stimulator X–Cyte produced by Stoller (containing 0.04% kinetin) and with growth stimulator MS Set from Valagro (containing 0.06% zeatin), according to the scheme: 1 – soaking the rootstock and scion rootstocks for 18 hours; 2 – pouring the solution of the growth stimulator into the boxes before planting the scions in the nursery; 3 – three-time vegetation treatments of graft growth with an interval of one month. The control was treated with water. Determination of the intensity of callus and root formation was carried out 21 days after stratification. After the seedlings were dug up, they were sorted, records of the development of the root system were carried out by visual assessment in accordance with GSTU4390:2005. The influence of treatments with cytokinin-containing preparations on the physiological and biochemical indicators of the development of grape cuttings was determined by physiological and biochemical analyzes using generally accepted methods: indicators of the water regime by the weight method of L. I. Sergejev, K. O. Sergejeva, V. K. Melnikova; the intensity of leaf respiration was determined by the amount of released carbon dioxide according to the Boysen-Jensen method; the content of chlorophylls *a* and *b* in the leaves were determined in the alcohol extract with spectrophotometry and calculated according to Wintermans de Mots formulas in the interpretation of Musienko (2001); the content of sugars in the vine was determined by the Bertrand method; the content of starch in the vine was determined according to Pochynk.

The main results. Treatment with cytokinin-containing preparations stimulated rootstock and scion overgrowth with callus around the perimeter, increasing the number of cuttings that formed a complete ring and reducing the number of cuttings in which the callus occupied less than half of the stem perimeter. Also, soaking

with cytokinin-containing preparations increased the volume and mass of calluses by 26% to 100%. At the same time, the growth of graft components improves: the number of well-fused grafts increases under the influence of the treatment, and there are almost no grafts with missing signs of growth. Along with the stimulation of callogenesis in the cuttings, an enhancement of organogenesis by X-Cyte and MC Set treatment was observed: the number of root mounds and roots increased by 21 and 61%, respectively, the length increased by 29% under the influence of MC Set, and the weight increased by 39 and 87%; the length of sprouts increased by 62 and 71%, the average weight of the sum of sprouts on the scion increased by 39 and 61%.

In laboratory conditions during the growth of the rootstock with the scion the positive effect of X-Cyte and MC Set treatment is the result of stimulation of cell division, which is a typical manifestation of the action of cytokinin's. However, in the conditions of the open ground, the possibility of a positive effect of cytokinin drugs on the grafts was observed for the first time in the study area. Treatment, which lasted throughout the summer, increased the survival of grafts in the nursery by a third on average. Under the influence of the drug X-Cyte, the content of chlorophyll increased by an average of 33%, under the influence of MC Set – by 42%. The increase in the content of chlorophyll occurred due to chlorophyll “a”. The indicated effect of spraying with cytokinins corresponds to the classic mechanism of action of this phytohormone – greening of leaves and restoration of chloroplasts. Improving the state of the photosynthetic apparatus as a source of respiratory substrates contributes to an increase in the intensity of respiration by 28 and 22% under the action of X-Cyte and MC Set, respectively. Under the influence of MC Set, the watering of leaf tissues increased by 7%. The easily retained water content was reduced by 24 and 21% with X-Cyte and MC Set, respectively. The water-holding capacity of leaves increased by 21 and 26%. This effect of these cytokinin drugs on physiological parameters was observed in southern Ukraine for the first time. The action of a complex of stressors during the cultivation of cuttings in a nursery in the conditions of southern Ukraine can reduce the natural level of cytokinins in plants. Exogenous application promotes growth recovery and, as a result, better stress tolerance of plants. It is the more intensive growth that is evidenced by the improvement of the agrobiological indicators of the plants. The length of the shoots increased by 34 and 26%, the diameter and degree of maturation of the shoots increased by a quarter under the influence of MC Set. There is a tendency to increase the number of shoots on the plant, which is a consequence of the stimulation of bud development by cytokinins. The photosynthetic surface of plants increases by increasing the area of individual leaves by 24 and 29% and their number by 26 and 35% under the influence of X-Cyte and MC Set, respectively.

The improvement of the physiological state of the plants of grape cuttings during the growing season contributed to the accumulation of a larger amount of reserve carbohydrates during the transition to the state of winter dormancy. The content of reducing sugars and sucrose increased by 39 and 47% and by 50 and 55% under X-Cyte and MC Set treatments, starch content by 17 and 16%. The main economic result of the use of X-Cyte and MC Set drugs is the yield of standard seedlings, which increased by 27% under the influence of X-Cyte, and by 35% with MC Set.

Conclusions. Treatment of grape buds with X-Cyte and MC Set cytokinins promoted callogenesis and the growth of graft components, organogenesis, and graft survival in the nursery. An improvement in the parameters of the physiological state

of Sukholimanskyi white grape seedlings was observed: the content of chlorophyll, the intensity of leaf respiration, indicators of the water regime of leaves and plant growth indicators. Seedlings contained more reserve carbohydrates. Treatment with drugs with cytokinins made it possible to obtain one-third more standard seedlings. The most efficacy was demonstrated by MC Set preparations from Valagro with a cytokinin content of 0.06%.

Key words: grape grafts; seedlings; physiological indicators; cytokinins; callogenesis; growth; carbohydrates

References

1. Aleksandrov, E. G., Botnar, V. F., & Gaina, B. S. (2019). Functionality of grape genotypes and eco-technology [Funktsional'nost' henotypov vynohrada y ékotehnolohyy]. *Viticulture and winemaking: interdepartmental thematic scientific collection; dedicated to the 160th anniversary of the birth of V. Ye. Tairov / NAAS, NSC "V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking"*. Odesa: NSC "V. Ye. Tairov IV&W", Vol. 56. P. 9. [in Ukrainian]
2. Ampelographic atlas of varieties and forms of grapes of the selection of the NSC V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking. [Ampelograficheskiy atlas sortov i form vinograda selektsii NNTS IViV im. V. Ye. Tairova] / V.V. Vlasov, N.A. Mulyukina, L. V. Jaburiya et al. Kyiv: Agrar. Science, 2014. P. 98–100. [in Russian]
3. Borun, V. V. (2019). Peculiarities of growth and development of grafted grape seedlings at different levels of pre-irrigation soil moisture" [Osoblyvosti rostu ta rozvytku shcheplenykh sadzhantsiv vynohradu za riznykh rivniv peredpolyvnoyi volohosti gruntu.] *Viticulture and winemaking: interdepartmental thematic scientific collection; dedicated to the 160th anniversary of the birth of V. Ye. Tairov / NAAS, NSC "V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking"*. Odesa: NSC "V. Ye. Tairov IV&W". Vol. 56. P. 13. [in Ukrainian]
4. Horodniy, M. M. (2005). *Agrochemical analysis: textbook* [Ahrokhimichnyy analiz: pidruchnyk]. Kyiv: Aristei, 476 p. [in Ukrainian]
5. Zelenyanskaya, N. N., Artyukh N. N., & Borun V. Yu. "Drip irrigation of a grape school" [Kapel'noye orosheniye vinogradnoy shkolkij]. *Modern science* 2019. No. 7. Pp. 61–72. [in Russian]
6. Kucher, G. M., & Zelenyanskaya, N. N. (2006). Application of physiologically active substances in crop production" [Primeneniye fiziologicheskii aktivnykh veshchestv v rasteniyevodstve.] *Viticulture and winemaking*. Odesa. pp. 67–76. [in Russian]
7. Romakin, V. V. (2006). *Computer data analysis: Training manual*. [Komp'yuternyy analiz danykh: Navchal'nyy posibnyk]. Mykolaiv: Department of the Moscow State University named after Petra Mohyly, 144 p. [in Ukrainian]
8. Grape seedlings and grape vine shoots (2006). [Sadzhantsi vynohradu ta chubuky vynogradnoyi lozy]: DSTU ISO 4390:2005. Specifications. [Effective from 2005–04–01]. K.: State Consumer Standard of Ukraine, 18 p. (National standards of Ukraine). [in Ukrainian]
9. *Spectrophotometric methods in the practice of physiology, biochemistry and plant physiology*" (2001). [Spektrofotometrychni metody v praktytsi fiziolohiyi, biokhimiyyi ta fiziolohiyi roslyn] / M.M. Musienko, T. V. Parshikova, P. S. Slavnyi et al. Kyiv: Sotsiocentr. 348 p. [in Ukrainian]
10. Taran, N. G., & Soldatenko, E. V. (2019). Modern viticulture and winemaking science and prospects [Sovremennaya vynohrado-vynodel'cheskaya nauka y perspetyvy] *Viticulture and winemaking: interdepartmental thematic scientific collection; dedicated to the 160th anniversary of the birth of V. Ye. Tairov / NAAS, NSC "V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking"*. Odesa: NSC "V. Ye. Tairov IV&W". P. 121. [in Ukrainian]
11. Sherer, V. A., & Zelenyanskaya N. N. (2019). Growing grape seedlings [Vyrashchivaniye vinogradnykh sazhentsev] *Garden, grapes and wine of Ukraine*. Kiev, No. 3–4. pp. 22–27. [in Russian]
12. Aremu, A. O., Fawole, O. A., & Makunga, N. P. [et al.] (2020). "Applications of Cytokinins in Horticultural Fruit Crops: Trends and Future Prospects" *Biomolecules*. 10(9): 1222. doi: 10.3390/biom10091222
13. Aremu, A. O., Doležal, K., & Van Staden, J. (2017). New cytokinin-like compounds as a tool to improve rooting and establishment of micropropagated plantlets". *Acta Hort.* 497–504. doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1155.73.

14. Arya, A., Sharma, V., Tyagi, P. K., Gola, D., & Husen A. (2022). Role of cytokinins in adventitious root formation/ Environmental, Physiological and Chemical Controls of Adventitious Rooting in Cuttings. *Plant Biology, Sustainability and Climate Change*. 239–249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90636-4.00017-9>
15. Azuara, M., González, M.-R., Mangas, R., & Martín P. (2023) “Effects of the application of forchlorfenuron (CPPU) on the composition of verdejo grapes” BIO 43rd World Congress of Vine and Wine Web of Conferences. 56. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601022>
16. Baltazar, M., Correia, S., & Guinan, K. J. [et al.] (2021). Recent Advances in the Molecular Effects of Biostimulants in Plants: An Overview. *Biomolecules*. 11(8), 1096. <https://doi.org/10.3390/biom11081096>
17. Biswal, A., & Rout, Ch. K. (2020). Effect of Cytokinin on Fruit Crops. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 9(11). 2896–2903. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.911.351>
18. Cataldo, E. (2022) “Biostimulants in Viticulture: A Sustainable Approach against Biotic and Abiotic Stresses”. *Plants*, 11(2), 162. <https://doi.org/10.3390/plants11020162>
19. Cortleven, A., Leuendorf, J. E., & Frank, M. [et al.] (2019). Cytokinin action in response to abiotic and biotic stresses in plants. *T. Plant Cell Environ.* 42(3):998–1018. doi: 10.1111/pce.13494.
20. Jameson, P. E. (2017). Cytokinin. *Plant Physiology and Development / Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (Second Edition). ELSEVIER P. 391–402.
21. Gaštoł, M., Domagała-Swiątkiewicz, I., & Bijak, M. (2012). The effect of different bioregulators on lateral shoot formation in maiden apple trees. *Folia Horti.* 24.147–152. doi: 10.2478/v10245-012-0018-9.
22. Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2018). Cytokinin Signaling in Plant Development. *Development*, 145 (4), 7. doi:10.1242/dev.149344
23. Koprna, R., De Diego, N., Dundálková, L., & Spíchal, L. (2016). Use of cytokinins as agrochemicals. *Bioorganic Med. Chem.* Vol. 24. 484–492. doi: 10.1016/j.bmc.2015.12.022.
24. Marzouk, H., & Kassem, H. A. (2011). Improving yield, quality, and shelf life of Thompson seedless grapevine by preharvest foliar applications. *Sci. Horti.* 130.425–430. doi: 10.1016/j.scienta.2011.07.013.
25. Montanaro, G., Briglia, N., & Lopez, L. [et al.]. (2022). A synthetic cytokinin primes photosynthetic and growth response in grapevine under ion-independent salinity stress. *Journal of Plant Interactions*. 17 (1). 789–800 <https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2102259>
26. Olmedo, P., Núñez-Lillo, G., & Vidal, J. [et al.]. (2023). Proteomic and metabolomic integration reveals the effects of pre-flowering cytokinin applications on central carbon metabolism in table grape berries. *Food Chemistry*. 411. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.135498>
27. Palma, B. A., & Jackson, D. I. (1989). Inflorescence initiation in grapes -response to plant growth regulators. *Vitis*. Vol.28. 1–12.
28. Prasad, R. (2022). “Cytokinin and Its Key Role to Enrich the Plant Nutrients and Growth Under Adverse Conditions-An Update” *Frontiers in Genetics: REVIEW* June 2022. 13. doi: 10.3389/fgene.2022.883924
29. Rojas, B., Suárez-Vega, F., & Saez-Aguayo, S. [et al.] (2021). Pre-Anthesis Cytokinin Applications Increase Table Grape Berry Firmness by Modulating Cell Wall Polysaccharides. *Plants (Basel)*. 10 (12). 2642. doi: 10.3390/plants10122642
30. Strydom, J. (2016). Research note. Effect of CPPU (N-(2-Chloro-4-pyridinyl)-N'-phenylurea) and a seaweed extract on Flame seedless, Redglobe and Crimson seedless grape quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 34.233–240. doi: 10.21548/34-2-1099.
31. Zabadal, T. J., & Bukovac, M. J. (2006). Effect of CPPU on fruit development of selected seedless and seeded grape cultivars. *HortScience*. 41.154–157. doi: 10.21273/HORTSCI.41.1.154.
32. Zhang, T.-Q., Lian, H., & Zhou, C.-M., [et al.]. (2017). A two-step model for *de novo* activation of *WUSCHEL* during plant shoot regeneration. *Plant Cell*. 29.1073–1087. doi: 10.1105/tpc.16.00863.
33. Zwack, P. J., & Rashotte, A. M. (2015). Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses. *J. Exp. Bot.* 66. 4863–4871. doi: 10.1093/jxb/erv172.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).292707](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).292707)

УДК 582.623.2+631.963.3(477.63)

О. В. Данильчук, к.б.н., м.н.с.

Ю. С. Юхименко, к.б.н., н.с.

Л. І. Бойко, к.б.н., с.н.с., в.о. директора ботанічного саду

Н. М. Данильчук, к.б.н., м.н.с.

Криворізький ботанічний сад НАН України,

відділ інтродукції та акліматизації рослин, вул. Маршака, 50, Кривий Ріг,
50089, Україна, e-mail: danylchuk.san@gmail.com

ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ *SALICACEAE* MIRB. В ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕННЯХ М. КРИВИЙ РІГ (ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ОБЛ.).

Вивчено таксономічний склад родини *Salicaceae* Mirb., представники якої зростають в зелених насадженнях м. Кривий Ріг. З'ясовано, які типи посадок за участю представників родини *Salicaceae* використовуються в парках і скверах міста. Досліджено життєвий стан, основні морфометричні характеристики та коефіцієнт трапляння верб та тополь, використаних в озелененні м. Кривий Ріг. Отримані результати дають змогу вдосконалити планування щодо використання перспективних видів, гібридів та культиварів родини *Salicaceae*.

Ключові слова: *Salicaceae* Mirb.; озеленення; культивари; життєвий стан; коефіцієнт трапляння

Високі темпи урбанізації, що спостерігаються останнім часом, та відповідні прогнози поставили питання покращення екологічної ситуації у містах у низку найважливіших завдань сучасності. Стабілізувати і оптимізувати урбаносередовище можливо лише шляхом підтримки на високому рівні життєдіяльності рослин. У системі зелених насаджень міст деревні рослини відіграють основну роль у формуванні довкілля як у екологічному, так і в архітектурно-планувальному аспекті [2, 5, 7]. Водночас, на територіях з некомфортними умовами проживання, пов'язаними з особливостями зонального клімату та діяльністю людини, екологічна функція зелених насаджень є переважною. Найважливішою є рекреаційна функція зелених насаджень, оскільки інтенсивність промислової діяльності людини та прискорення темпу життя викликають психологічне та емоційне перевантаження людини. Особливо це відчувається саме в останні півтора роки, з моменту настання повномасштабних військових дій на території України. У великих містах деревно-чагарникові насадження формують мікроклімат і є сильним засобом захисту від шуму, забруднень, вітру та ін. [13, 16].

Серед листопадних деревних рослин помірної зони Північної півкулі одними з найбільш використовуваних в озелененні є види родини *Salicaceae*. В зелених насадженнях міст України, на сьогодні, частка участі представників

родини *Salicaceae* змінюється від 20 до 30% [8, 9]. Велика кількість видів та культиварів, швидкий ріст, фітонцидні якості, стійкість до загазованості повітря та невибагливість до ґрунтів – саме ці якості здавна сприяли широкому використанню представників вербових у садово-парковій архітектурі [18, 20]. Таким чином, вивчення таксономічного складу, життєвого стану та коефіцієнту трапляння верб та тополь у межах Криворіжжя є своєчасним та актуальним.

Об'єкт дослідження – представники родини *Salicaceae*, що зростають в зелених насадженнях м. Кривий Ріг.

Предмет дослідження – таксономічний склад, життєвий стан та коефіцієнт трапляння верб та тополь у межах Криворіжжя.

Мета роботи – визначити види і культивари родини *Salicaceae*, що використані в озелененні м. Кривий Ріг, а також їх життєвий стан та коефіцієнт трапляння в парках і скверах.

Для досягнення поставленої мети визначено такі основні завдання дослідження:

1. Дослідити таксономічний склад видів та культиварів родини *Salicaceae*, що використані в зелених насадженнях м. Кривий Ріг;
2. З'ясувати типи посадок за участю представників родини *Salicaceae*, використаних в парках і скверах міста;
3. Визначити життєвий стан та коефіцієнт трапляння верб та тополь, що використовуються в озелененні м. Кривий Ріг.

Матеріали і методи

Для дослідження об'єктів озеленення м. Кривий Ріг використані методичні підходи, викладені в роботах В.П. Кучерявого [12, 14], а також у публікації «Функції міських зелених насаджень...» [10]. Ідентифікацію рослин здійснювали, виходячи з трактовки виду Rehder [25], форм та культиварів – G. Krüssmann [24]. Вивчення реального стану зелених насаджень проводилося методом маршрутних обстежень з використанням методів ландшафтної таксації. Ступінь поширення виду або культивару розраховували за відношенням кількості парків (скверів) з певним видом до загальної кількості парків (скверів), вираженим у відсотках (R,%). Вік дерев встановлювали за посадковими відомостями, згідно з якими досліджені дерева були розподілені за віком на класи: I – 15–20 років; II – 35–40 років; III – 55–60 років. Життєздатність дерев визначали за шкалою життєздатності деревних порід у захисних насадженнях Л. Савельєвої [19].

Результати дослідження та їх обговорення

В озелененні 22 парків та 94 скверів м. Кривий Ріг використано 89 родів деревних рослин з 41 родини [21, 22, 23]. Серед покритонасінних, в зелених насадженнях міста, широко використовуються види та культивари з двох родів, що

належать до родини *Salicaceae*. Рід *Salix* L. в парках та скверах представлений 5 видами та 2 декоративними культиварами, а рід *Populus* L. представлений 9 видами та 2 гібридами.

Верби та тополі є частиною дендрологічної структури кожної категорії міських зелених насаджень. Представники роду *Salix* та *Populus* цінуються в паркобудівництві за великі розміри, густу крону, красиву текстуру та різноманітний колір кори, декоративне листя. Деревя верби і тополі широко застосовуються для створення зелених насаджень в парках, позахисних смуг, посадок уздовж берегів річок і озер [3, 15]. Основна особливість видів зазначених родів є їх швидкоростучість, що досить важливо для озеленення міст з великим антропогенним навантаженням, до яких і належить промисловий гігант м. Кривий Ріг.

Основу паркових насаджень міста складають 33 види деревних порід, серед яких одними з найбільш чисельно представленими є *P. italica*, *P. deltoides*, *P. bolleana*, *P. nigra* та *S. alba* 'Vitellina pendula'. В результаті досліджень встановлено, що верби та тополі в паркових насадженнях міста за ступенем поширення можна розподілити на три категорії:

I категорія – найпоширеніші види, які трапляються у 32–50 об'єктах озеленення (ступінь поширення – 27,6–43,1%);

II категорія – середньопоширені види, що трапляються у 7–20 об'єктах озеленення (ступінь поширення – 6–17,2%);

III – малопоширені види, що зростають у 1–4 об'єктах озеленення (ступінь поширення – 0,9–3,5%).

До першої категорії найпоширеніших видів належать *P. italica*, *P. deltoides*, *P. bolleana*, *P. nigra* та *S. alba* 'Vitellina pendula', які зростають майже в половині з досліджених парків та скверів міста. Коефіцієнти трапляння цих видів становлять від 27,6% до 43,1% (табл.). Поширеність вище зазначених таксонів насамперед зумовлена тим, що в 60–70-х роках минулого сторіччя відбувалася активна забудова міста та створення соціальної та рекреаційної інфраструктури. Завдяки швидкоростучості верб і тополь, саме вони найчастіше використовувались при створенні зеленого фону міст. Кривий Ріг і дотепер залишається одним з найбільш «зелених» міст південного сходу України.

У парках та скверах м. Кривий Ріг верби зростають у різних типах насаджень, маючи переважно досить високий рівень життєвого стану.

Разом з цим, різні екземпляри *S. alba* 'Vitellina pendula', навіть за умов росту в тому самому парку чи сквері, мають життєвий стан від I до VIII балів.

Цей факт свідчить про те, що VII–VIII балів мають екземпляри зазначеного культивару у віці до 40 років, і мають висоту 10 м та діаметр стовбура на рівні 1,2 м від землі 30 см. У віці понад 55 років екземпляри *S. alba* 'Vitellina pendula' мають життєвий стан I–II бали і сягають висоти до 15 м та діаметр стовбура до 80 см. Фізіологічна особливість видів та культиварів родини *Salicaceae*, яка відображає досить широкий інтервал життєвого стану дерев, це їх недовговічність. Аналогічні тенденції спостерігаються серед тополь у *P. italica* і

Таблиця

Репрезентативність видів і культиварів родини *Salicaceae* L. в паркових насадженнях м. Кривий Ріг

Вид/культивар	Тип насаджень	Вікова категорія	ЖС, бал	Кількість парків і скверів з даним видом або культиваром	Коефіцієнт трапляння, %
Рід <i>Salix</i> L.					
<i>S. acutifolia</i> Willd.	Од.	I	VIII	1	0,9
<i>S. alba</i> L.	Ряд.	II	IV–VIII	17	14,7
<i>S. alba</i> ‘Vitellina pendula’ Rehd.	Гр., од., ряд., м.	II, III	I–VIII	37	31,9
<i>S. babylonica</i> L.	Гр., од.	II	VI–VIII	13	11,2
<i>S. excelsa</i> S. G. Gmel.	Гр.	II	VII–VIII	2	1,7
<i>S. fragilis</i> L.	Од.	II	VI–VIII	7	6,0
<i>S. matsudana</i> Koidz. ‘Tortuosa’	Од.	I	IV	8	6,9
Рід <i>Populus</i> L.					
<i>P. alba</i> L.	Гр., ряд.	II, III	VI–VIII	7	6,0
<i>P. balsamifera</i> L.	Гр.	II	VI–VIII	4	3,5
<i>P. × berolinensis</i> Dipp.	Од., гр.	II, III	III–VIII	17	14,7
<i>P. bolleana</i> Lauche	Гр., ряд., ал., од.	II	IV–VIII	41	35,4
<i>P. deltoides</i> Marsh.	Од., гр.	II	V–VIII	43	37,1
<i>P. italica</i> (Du Roi) Moench	Од., гр., ряд.	II, III	II–VIII	50	43,1
<i>P. nigra</i> L.	Од., ряд., м., гр.	II	IV–VIII	32	27,6
<i>P. simonii</i> Carr.	Од., гр., ряд.	II	IV–VIII	20	17,2
<i>P. tremula</i> L.	Гр.	II	VII–VIII	4	3,5
<i>P. trichocarpa</i> Torr. et Gray	Гр., од.	II	VI	2	1,7
<i>P. × wettsteinii</i>	Гр.	II	VIII	1	0,9

Примітка. Гр. – групові посадки, ряд. – посадки рядами, ал. – алейні посадки, мас. – масив, од. – одиничні екземпляри; ЖС – життєвий стан; н.в. – не вимірювали.

P. × berolinensis – життєвий стан від II до VIII балів. Деревя II класу за віком (від 35 до 40 років) мають життєвий стан VI–VIII балів, тоді як екземпляри III групи (старші за 55 років) – II–III бали.

Дослідження вікової структури і життєвого стану насаджень тополь дозволили встановити, що вік найстарших дерев (*Populus alba*) становить близько 150 років. Деревя ростуть у заплаві річки Саксагань у парку «Веселі Терни». Екземпляри зазначеного виду, не зважаючи на такий вік, мають гарний життєвий стан (VI–VIII балів).

Деревя *P. nigra* у міських парках, що належать до III вікової групи (понад 70 років), навіть за умов росту в рекреаційних насадженнях з високим рівнем антропогенного навантаження та за відсутності догляду, мають у масивах гарний стан і високі показники життєвості (VII–VIII балів). Дані факти свідчать про високий ступінь стійкості зазначеного виду до несприятливих екологічних чинників міського середовища. Наші дослідження добре узгоджуються з твердженням інших дослідників щодо стійкості *P. nigra* до техногенного навантаження довкілля [1, 6, 11, 17].

Найвищий життєвий стан VIII балів має *P. × wettsteinii*, що зростає в одному зі скверів у центральній частині міста групою з 3-х дерев. Досліджені екземпляри належать до I групи за віком і мають вік близько 15 років. Гарний життєвий стан у парках також мають групові насадження *P. tremula* по 5–8 дерев (VII–VIII балів).

Серед вербових цікава знахідка нами виявлена на території скверу при станції швидкісного трамваю «Кільцева». Сквер створювався руками співробітників цієї станції, тому видове різноманіття деревних порід тут більше, ніж в інших невеликих скверах. На особливу увагу тут заслуговує *S. acutifolia*, що належить за віком до I класу, має відмінний стан (VIII балів).

У більшості випадків *P. simonii*, *S. alba*, *S. babylonica*, *S. fragilis* та *P. alba* це окремо зростаючі дерева та групові насадження. Зазначені види, що належать до I класу за віком (до 20 років), мають життєвий стан від VI до VIII балів, тоді як екземпляри II класу – IV–V.

Наші дослідження дозволили виявити в незадовільному стані екземпляри культивару *S. matsudana* ‘Tortuosa’, який представлений у парках та скверах молодими за віком (I клас), поодинокими зростаючими деревами. У віці близько 20 років життєвий стан дерев становить IV бали. Деревя сильно ушкоджуються шкідниками і хворобами, що призводить до всихання скелетних гілок.

За переважанням типів насаджень можна побудувати такий ряд: групові посадки → одиничні екземпляри → посадки рядами → масиви → алейні посадки.

Верб і тополь в парках і скверах міста найчастіше ростуть у вигляді групових насаджень. Це пов’язане з тим, що за такого типу посадки види та культивари згаданих родів мають найбільш естетичний вигляд у загальному контексті парку чи скверу. У групових насадженнях найчастіше використані серед верб *S. alba* ‘Vitellina pendula’ та *S. babylonica*, в більшості це невеликі за кількістю

екземплярів групи дерев (3–5). Дещо менше у вигляді груп зростають *S. exelsa*. Серед тополь найбільше у групових насадженнях росте *P. deltoides*, *P. nigra*, *P. simonii* та *P. × berolinensis*, де кожна група має від 10 до 20 екземплярів у своєму складі. Не часто висаджено у групах *P. alba*, *P. balsamifera* і *P. tremula*, найменша кількість групових насаджень росте з *P. trichocarpa* і *P. × wettsteinii*.

В паркових насадженнях, на галявинах, часто види та культивари родини *Salicaceae* ростуть поодинокі. Водночас *S. alba* ‘*Vitellina pendula*’ частіше можна зустріти одиничними деревами вздовж берегів водойм, тоді як *P. deltoides*, *P. nigra* та *P. × berolinensis* ростуть у центральній частині парку чи скверу.

Насадження видів та культиварів родини *Salicaceae* рядами у парках та скверах, в більшості випадків відділяють парк або сквер від проїжджої частини або житлових забудов. У таких типах посадок використані як види з пірамідальною формою крони (*S. alba*, *P. bolleana*, *P. italica*, *P. simonii*), так і з дельтовидною, крилатою формою (*S. alba* ‘*Vitellina pendula*’, *P. alba*, *P. nigra*).

Найменше використовуються представники родини *Salicaceae* у насадженнях міста в алейних посадках (лише в одному парку) та масивах (в двох парках). Ці насадження представлені *S. alba* ‘*Vitellina pendula*’ та *P. nigra*.

Результати наших досліджень дозволили встановити, що найбільш поширеними в озелененні парків і скверів міста є *P. italica*, *P. deltoides* та *P. bolleana*, які ростуть у 50, 43, та 41 рекреаційному об’єкті відповідно. До цієї ж групи також належать *S. alba* ‘*Vitellina pendula*’ дерева яких ростуть у 37 та *P. nigra* – у 32 парках і скверах.

Середньопоширені види, що належать до другої категорії, – *P. simonii*, *S. alba*, *S. babylonica*, *S. matsudana* ‘*Tortuosa*’, *S. fragilis* та *P. alba*. – ростуть у 7–20 об’єктах озеленення міста.

Третю категорію складають малопоширені види, що зростають у 1–4 об’єктах озеленення, з коефіцієнтом трапляння до 4%. Це такі таксони як *S. acutifolia*, *S. exelsa* та *P. tremula*, *P. trichocarpa*, *P. balsamifera* і *P. × wettsteinii*. Зазначені види не є характерними для нашого регіону, за виключенням *P. tremula*. Скоріше за все, ці види та гібрид були спонтанно висаджені під час озеленення міста.

Аналіз вікової структури насаджень видів та культиварів родини *Salicaceae* в парках та скверах міста показав, що більша кількість дерев знаходиться у віці II класу, у меншій кількості представлені дерева III і найменше I класу. Вивчення теперішнього стану зелених насаджень на території міста показує, що співробітниками зеленого господарства зроблено певні кроки з поліпшення стану рекреаційних об’єктів міста. Проводяться омолоджувальні обрізки, вирубка порості у паркових насадженнях, які були створені ще в 30-х роках минулого сторіччя, висаджуються нові екземпляри декоративних видів та культиварів. Разом з цим слід зауважити, що омолоджувальні обрізки не дають очікуваного результату. В більшості випадків це пов’язано з недостатньою кваліфікацією співробітників зеленого господарства міста, які і виконують усі ці роботи. Крім

того, в умовах степової зони України комплексна дія екстремальних екологічних чинників, насамперед гідротермічних, зумовлює формування жорстких екологічних умов міста, при цьому рослини старіють та втрачають декоративність швидше, ніж в природних та оптимальних для їхнього зростання умовах, особливо це спостерігається з швидкорослими і відносно недовговічними видами дерев.

У Криворізькому ботанічному саду НАН України родина *Salicaceae* представлена 2 родами. Під *Salix* представлено 10 видами (*S. caprea* L., *S. viminalis* L., *S. schwerini* E. L. Wolf., *S. argyracea* E. L. Wolf., *S. ledebouriana* Trautv., *S. purpurea* L., *S. acutifolia* Willd., *S. fragilis* L., *S. excelsa* S. G. Gmel., *S. pentadra* L.) та 6 культуриварами (*S. alba* L. ‘Vitellina pendula’; *S. alba* L. ‘Vitellina pyramidalis’; *S. caprea* L. ‘Kilmarnok’; *S. matsudana* ‘Tortuosa’; *S. × rubra* і *S. × forbiana*).

Тополі у колекційних насадженнях Криворізького ботанічного саду представлені 5 видами (*P. tremula* L., *P. italica* (Du Roi) Moench, *P. deltoides* Marsh., *P. candicans* Aiton, *P. balsamifera* L.) та 5 культуриварами (*P. × veresinii*; *P. × wettsteinii*; *P. ‘Sacrau-59’*; *P. ‘Keliberdyska’* і *P. ‘Hradizhka’*). Серед інтродукованих видів верб і тополь в колекційних насадженнях є чимало видів та культуриварів, перспективних для використання в озелененні Криворіжжя. Згідно досліджень попередніх років, з зазначеного переліку перспективними для використання можуть бути стійкі до забруднення докільля важкими металами культуривари тополі (*P. ‘Hradizhka’*, *P. ‘Sacrau-59’* та *P. ‘Keliberdyska’*), які практично не використовуються в озелененні [4]. Життєвий стан дерев зазначених культуриварів, що належать до II класу за віком, в насадженнях ботанічного саду VII–VIII балів.

Наукова новизна отриманих результатів дослідження – уперше в умовах великого індустріального міста Степової зони України вивчено та узагальнено інформацію щодо життєвого стану та коефіцієнту трапляння верб і тополь, що зростають в парках та скверах.

Практична значущість результатів дослідження – отримані дані дають змогу вдосконалити планування щодо використання перспективних видів, гібридів та культуриварів родини *Salicaceae* з метою збагачення та підвищення цінності зелених насаджень парків і скверів в умовах промислового міста.

Висновки

В результаті виконаних досліджень встановлено, що найбільш поширеними в озелененні м. Кривий Ріг серед представників родини *Salicaceae* є *P. italica*, *P. deltoides*, *P. bolleana*, *P. nigra* та *S. alba* ‘Vitellina pendula’, які зростають майже в половині з досліджених парків та скверів міста і мають найвищі коефіцієнти трапляння. За переважанням типів насаджень можна побудувати такий ряд: групові посадки → одиничні екземпляри → посадки рядами → масиви → алейні посадки.

Для оптимізації міських насаджень регіону рекомендовано залучити такі види та культивари, які пройшли інтродукційне випробовування в умовах Криворізького ботанічного саду НАН країни: *S. caprea* 'Kilmarnok'; *S. × rubra* та *P.* 'Hradizhka'; *P.* 'Sacrau-59' та *P.* 'Keliberdyska'.

Стаття надійшла до редакції 16.08.2023.

Список використаної літератури

1. Антипов В.Г. Устойчивость древесных растений к промышленным газам. Мн.: Наука и техника, 1979. 216 с.
2. Бойко Т.О., Дементьева О.І. Екологічні основи створення зелених насаджень на територіях загальноосвітніх закладів міста Херсона. *Таврійський науковий вісник*. 2018. № 100. Том 2. С. 220–229.
3. Глушенко Л.А., Тимошенко Л.М. До питання розширення асортименту дерев, кущів та ліан для вуличних насаджень полтавського геоботанічного округу. *Екологія*. 2020. № 2. С. 130–138. <https://doi.org/10.33730/2310-4678.3.2020.212615>
4. Данильчук О.В., Гришко В.М. Транслокація важких металів у вегетативних органах гібридів тополь за їх сумісного внесення в ґрунт. Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: збір. наук. праць. К.: Логос, 2009. Т. 2. С. 247–254.
5. Дементьева О.І., Бойко Т.О., Омелянова В.Ю. Особливості озеленення об'єктів спеціального призначення на прикладі меморіального комплексу загиблим воїнам. *Таврійський науковий вісник*. 2019. № 106. С. 262–266.
6. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Ч. 1: довідник. За ред. М. А. Кохно. К.: Фітосоціоцентр, 2002. 448 с.
7. Дудник Є.Г. Аналіз впливу техногенних факторів на дендрофору м. Вінниці. *Вісник Хмельницького національного університету*. № 6, 2020 (291) С. 51–55. doi: 10.31891/2307-5732-2020-291-6-51-55
8. Ішук Л.П. Особливості використання видів і гібридів роду *Populus* L. у ландшафтах урбанізованого середовища. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер. Лісівництво та декоративне садівництво*. Київ, 2016. Вип. 255. С. 107–120.
9. Ішук Л.П. Особливості використання представників родини Salicaceae Mirbel. у проектуванні ландшафтних композицій. *Науковий вісник Національного лісотехнічного університету України: зб. науково-технічних праць*. Львів: НЛТУУ. 2013. Вип. 23.9. С. 197–202.
10. Коваленко М.Г. Функції міських зелених насаджень та їх нормування. Містобудування та територіальне планування. С. 194–201. URL: file:///D:/Downloads/MTP_2015_55_28.pdf (дата звернення: 16.07.2023)
11. Кузнецов С.І., Левон Ф.М., Пушкар В.В. Асортимент дерев, кущів та ліан для озеленення в Україні. Київ: «ЦП «Компринт», 2013. 256 с.
12. Кучерявий В.П. Озеленення населених місць. Підруч. Вид. 2-ге. Львів: Світ, 2008. 456 с.
13. Кучерявий В.П. Проблеми сталого розвитку урбоекосистеми великого міста *Науковий вісник: зб. наук.-техн. праць Українського державного лісотехнічного університету*. М-во освіти України, УкрДЛТУ. Львів, 2008. Вип. 18.12. С. 23–29.
14. Кучерявий В.П. Сади і парки Львова. Львів: Світ, 2008. 360 с.
15. Лазарев А.Г., Лазарева Е.В. Ландшафтна архітектура. М.: Феникс, 2005. 282с.
16. Полікарпова Л.В., Сілогаєва В.В. Аналіз сучасного стану благоустрою та озеленення архітектурного середовища міста Запоріжжя. *Сучасні проблеми архітектури та містобудування*. 2017. Вип. 47. С. 399–406.
17. Промышленная ботаника / [сост. Е.Н. Кондратюк, В.П. Тарабрин, В.И. Бакланов и др.]. Киев: Наук. думка, 1980. 260 с.
18. Рубцов Л.И. Деревья и кустарники в ландшафтной архитектуре. Справочник. К.: Наук. думка, 1977. 272 с.
19. Савельева Л.С. Устойчивость деревьев и кустарников в защитных лесных насаждениях. М.: Лесная промышленность, 1975. 168 с.
20. Тимошенко Л.М. Стан дендрофітів вуличних насаджень міста Лубен. *Агроекологічний журнал*. 2018. № 2. С. 28–32.

21. Терлига Н.С., Данильчук О.В., Юхименко Ю.С., Федоровський В.Д., Данильчук Н.М. Культурована дендрофлора парків і скверів Кривого Рогу: історичні аспекти формування та сучасний стан. *Вісник ХНАУ ім. Докучаєва*. Серія біологія. Вип. 2. 2015. С. 93–101.
22. Терлига Н.С., Федоровський В.Д., Юхименко Ю.С., Данильчук О.В., Данильчук Н.М., Лаптева О.В. Ботаніко-географічний аналіз і частота трапляння видів деревно-чагарникової рослинності зелених насаджень Кривого Рогу. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки*. 2014. № 1. С. 200–210.
23. Федоровський В.Д., Терлига Н.С., Юхименко Ю.С., Данильчук О.В., Данильчук Н.М., Лаптева О.В. Видовий склад та життєвий стан деревно-чагарникової рослинності парків та скверів м. Кривий Ріг. *Інтродукція рослин*. 2013. № 3. С. 73–79.
24. Krüssmann G. Handbuch der Laubgehölze: in 3 Bde. u. e. Reg. Berlin, Hamburg: Parey. Bd. 3. Pru Z. 2, neubearb. u. erw. Aufl., 1978. 496 p.
25. Rehder A. Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America. New York: The Macmillan Company, 1949. 996 p.

О.В. Данильчук, Ю.С. Юхименко, Л.І. Бойко, Н.М. Данильчук

Криворізький ботанічний сад НАН України

Відділ інтродукції та акліматизації рослин, вул. Маршака, 50, Кривий Ріг,
50089, Україна, e-mail: danylchuk.san@gmail.com

ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ *SALICACEAE* MIRB. В ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕННЯХ М. КРИВИЙ РІГ (ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ОБЛ.).

Резюме

Вступ. Стабілізувати і оптимізувати урбаносередовище можливо лише шляхом підтримки на високому рівні життєдіяльності рослин. У системі зелених насаджень міст деревні рослини відіграють основну роль у формуванні довкілля. Серед листопадних деревних рослин помірної зони Північної півкулі одними з найбільш використовуваних в озелененні є види родини Salicaceae Mirb. Швидкий ріст, фітонцидні якості, стійкість до загазованості повітря та невибагливість до ґрунтів – все це сприяло використанню вербових у садово-парковій архітектурі. Вивчення еколого-естетичної ролі їх в сучасних урбокомплексах є своєчасним та актуальним.

Мета. Метою роботи було дослідити видове представництво родини Salicaceae Mirb., що використані в озелененні м. Кривий Ріг, а також їхнього життєвого стану та морфометричних характеристик.

Методика. Вивчення реального стану зелених насаджень проводилося методом маршрутних обстежень з використанням методів ландшафтної таксації. Ступінь поширення виду або культивару визначали за коефіцієнтом трапляння виду, який розраховували за відношенням кількості парків (скверів) з даним видом до загальної кількості їх, вираженим у відсотках. Життєздатність дерев визначали за шкалою життєздатності деревних порід у захисних насадженнях Л. Савельєвої.

Основні результати. Серед покритонасінних, однією з найбільш чисельно представлених в озелененні парків і скверів Кривого Рогу є родина *Salicaceae* Lindl. В зелених насадженнях міста широко використовуються види та культивари з двох родів. Під *Salix* L. представлений 5 видами *Salix acutifolia* Willd.,

S. alba L., *S. babylonica* L., *S. exelsa* S. G. Gmel., *S. fragilis* L. та 2 декоративними культиварами *S. alba* 'Vitellina pendula' Rehd., *S. matsudana* Koidz. 'Tortuosa'. Водночас рід *Populus* L. в зелених насадженнях міста представлений більш широко і налічує 9 видів *Populus alba* L., *P. balsamifera* L., *P. bolleana* Lauche, *P. deltoides* Marsh., *P. italica* (Du Roi) Moench, *P. nigra* L., *P. simonii* Carr., *P. tremula* L., *P. trichocarpa* Torr. et Gray та 2 гібриди *P. x berolinensis* Dipp., *P. x wettsteinii*.

В ході досліджень встановлено, що верби та тополі в паркових насадженнях міста використані нерівномірно, тому за ступенем поширення їх можна розподілити на три категорії:

I категорія – найпоширеніші види, які трапляються у 32–50 об'єктах озеленення (ступінь поширення – 27,6–43,1%);

II категорія – середньопоширені види, що трапляються у 7–20 об'єктах озеленення (ступінь поширення трапляння – 6–17,2%);

III – малопоширені види, що зростають у 1–4 об'єктах озеленення (ступінь поширення – 0,9–3,5%).

До першої категорії належать *P. italica* (Du Roi) Moench, *P. deltoides* Marsh., *P. bolleana* Lauche, *P. nigra* L. та *S. alba* 'Vitellina pendula' Rehd., які зростають майже в половині з досліджених парків та скверів міста. За переважанням типів насаджень можна побудувати такий ряд: групові посадки → одиничні екземпляри → посадки рядами → масиви → алейні посадки.

До другої категорії належать *P. simonii* Carr., *S. alba* L., *S. babylonica* L., *S. matsudana* Koidz. 'Tortuosa', *S. fragilis* та *P. alba* L.

Третю категорію складають малопоширені види: *S. acutifolia* Willd., *S. exelsa* S. G. Gmel. та *P. tremula* L., *P. trichocarpa* Torr. et Gray, *P. balsamifera* L. і гібрид *P. x wettsteinii*.

Уперше в культивованих ценозах Правобережного степового Придніпров'я на прикладі великого індустріального міста вивчено та узагальнено інформацію щодо поширення верб і тополь, а також визначено їхні основні морфометричні характеристики. Отримані дані дають змогу вдосконалити планування щодо використання перспективних видів, гібридів та культиварів родини Salicaceae Mirb. з метою збагачення та підвищення цінності зелених насаджень парків і скверів в умовах Правобережного степового Придніпров'я. Більшість представників родини Salicaceae Mirb. пройшли первинне випробування в умовах району інтродукції, показали задовільну адаптованість та середні бали життєвого стану. Виключенням є культивари тополь *P. 'Hradizhka'*, *P. 'Sacrau-59'* та *P. 'Keliberdynska'*, які у віці 20 років мають відмінний стан і мають найвищий бал життєздатності.

Ключові слова: Salicaceae Mirb.; озеленення; культивари; ступінь поширення; життєвий стан; коефіцієнт трапляння

O. V. Danylchuk, Yu. S. Yukhymenko, L. I. Boyko, N. M. Danylchuk

Kryvyi Rih Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine

Department of introduction and acclimatization of plants, Marshak str., 50, Kryvyi

Rih, 50089, Ukraine, e-mail: danylchuk.san@gmail.com

REPRESENTATIVES OF THE FAMILY *SALICACEAE* MIRB. IN THE GREEN SPACES OF THE CITY OF KRYVYI RIH (DNIPROPETROVSK REGION)

Summary

Introduction. To stabilize and optimize the urban environment, it is possible only by maintaining a high level of plant activity. In the system of green spaces of cities, woody plants play the main role in shaping the environment. Among the deciduous woody plants of the temperate zone of the Northern Hemisphere, species of the family *Salicaceae* Mirb. are among the most used in landscaping. Fast growth, phytoncide qualities, resistance to air pollution and unpretentiousness to soils – all this contributed to the use of *Salicaceae* in garden and park architecture. The study of their ecological and aesthetic role in modern urban complexes is timely and relevant.

Aim. The purpose of our work was to investigate representative species of the family *Salicaceae* Mirb., used in the landscaping of the city of Kryvyi Rih, as well as their vital state and morphometric characteristics.

Methods. The study of the real state of green spaces was carried out by the method of route surveys using the methods of landscape taxation. The degree of spread of a species or a cultivar was determined by the occurrence rate of the species, which was calculated by the ratio of the number of parks (squares) with a given species to the total number of them, expressed as a percentage. The viability of trees was determined according to the scale of viability of tree species in protected plantations by L. Savelyeva.

Main results. Among the angiosperms, one of the most abundantly represented in the landscaping of parks and squares of Kryvyi Rih is the family *Salicaceae* Mirb. In the city's green spaces, species and cultivars from two genera are widely used. The genus *Salix* L. is represented by 5 species *Salix acutifolia* Willd., *S. alba* L., *S. babylonica* L., *S. exelsa* S.G. Gmel., *S. fragilis* L. and 2 decorative forms of *S. alba* 'Vitellina pendula' Rehd., *S. matsudana* Koidz. 'Tortuosa'. At the same time, the genus *Populus* L., in the green spaces of the city, is represented more widely and includes 9 species: *Populus alba* L., *P. balsamifera* L., *P. bolleana* Lauche, *P. deltoides* Marsh., *P. italica* (Du Roi) Moench, *P. nigra* L., *P. simonii* Carr., *P. tremula* L., *P. trichocarpa* Torr. et Gray and 2 hybrids – *P. x berlinensis* Dipp., *P. x wettsteinii*.

In the course of research, it was ascertained that willows and poplars in the city's parks are used unevenly, therefore, according to the degree of distribution, they can be divided into three categories:

I category – the most common species that occur in 32–50 landscaping objects (degree of distribution – 27.6–43.1%);

II category – moderately common species occurring in 7–20 landscaping objects (prevalence rate – 6–17.2%);

III category – rare species growing in 1–4 landscaping objects (degree of distribution – 0.9–3.5%).

The first category includes *P. italica* (Du Roi) Moench, *P. deltoides* Marsh., *P. bolleana* Lauche, *P. nigra* L. and *S. alba* 'Vitellina pendula' Rehd., which grow in almost half of the studied parks and city parks. According to the predominance of types of plantings, the following series can be built: group plantings → individual specimens → plantings in rows → massifs → alley plantings.

The second category includes *P. simonii* Carr., *S. alba* L., *S. babylonica* L., *S. matsudana* Koidz. 'Tortuosa', *S. fragilis* and *P. alba* L.

The third category consists of rare species: *S. acutifolia* Willd., *S. excelsa* S. G. Gmel. and *P. tremula* L., *P. trichocarpa* Torr. et Gray, *P. balsamifera* L. and the hybrid *P. x wettsteinii*.

For the first time, information on the distribution of willows and poplars was studied and summarized in the cultivated coenoses of the Right Bank Steppe of the Dnieper region, using the example of a large industrial city, and their main morphometric characteristics were determined.

The obtained data make it possible to improve planning for the use of promising species, hybrids and forms of the family *Salicaceae* Mirb. with the aim of enriching the value of green spaces of parks and squares in the conditions of the Right Bank Steppe of the Dnieper region. Most representatives of the family *Salicaceae* Mirb. passed the initial test in the conditions of the introduction area, showed satisfactory adaptability and average points of life status. The exceptions are the poplar cultivars *P. 'Hradizhka'*, *P. 'Sacrau-59'* and *P. 'Keliberdynska'*, which at the age of 20 years are in excellent condition and have the highest viability rate.

Keywords: *Salicaceae* Mirb.; landscaping; cultivars; spread rate; living condition; spread rate of a species.

References

1. Antipov, V.G. (1979). Resistance of woody plants to industrial gases [Ustoichivost' drevesnyh rastenij k promyshlennym gazam], Minsk: Nauka i tekhnika, 216 p.
2. Boiko, T.O., & Dementieva, O.I. (2018). Ecological foundations for the creation of green plantings on the territories of the zahalnosvetnih mortgages of the Kherson city [Ekolohichni osnovy stvorennia zelenykh nasadzhzen' na terytoriyakh zahal'noosvitnikh zakladiv mista Khersona]. *Taurian scientific bulletin*. № 100. Vol. 2. P. 220–229.
3. Hlushchenko, L.A., & Tymoshenko, L.M. (2020). Regarding the issue of expanding the assortment of trees, bushes and vines for street plantings of the Poltava geobotanical district [Do pytannya rozshyrennya asortymentu derev, kushchiv ta lian dlya vulychnykh nasadzhzen' poltavs'koho heobotanichnoho okruhu]. *Ecology*. № 2. P. 130–138. DOI: <https://doi.org/10.33730/2310-4678.3.2020.212615>
4. Danylchuk, O.V., & Grishko, V.M. (2009). Translocation of heavy metals in the vegetative organs of poplar hybrids during their simultaneous introduction into the soil [Translokatsiya vazhkykh metaliv u vehetatyvnykh orhanakh hibrydiv topol' za yikh sumisnoho vnesennya v grunt]. *Physiology of plants: problems and prospects of development: collection. of science works – Kyiv: Logos*. Vol. 2. – P. 247–254.
5. Dementieva, O.I., Boiko, T.O., & Omelianova, V. Iu. (2019). Peculiarities of greening of special purpose objects on the example of the memorial complex to fallen soldiers [Osoblyvosti ozelenennya ob'yektiv spetsial'noho pryznachennya na prykladi memorial'noho kompleksu zahyblym voyinam]. *Taurian scientific bulletin*. № 106. P. 262–266.
6. Dendroflora of Ukraine. (2002). Wild and cultivated trees and bushes. Angiosperms. Part 1: handbook [Dendroflora Ukrainy. Dykorošli y kul'tyvovani dereva i kushchi. Pokrytonasinni. Ch. 1: dovidnyk]. Ed. MA. Kokhno. Kyiv: Fitosociotsentr, 448 p.).
7. Dudnyk, Ye.H. (2020). Analysis of the influence of man-made factors on the dendrophore of Vinnytsia [Analiz vplyvu tekhnohennykh faktoriv na dendroforu m. Vinnytsi]. *Bulletin of the Khmelnytskyi National University*, № 6, (291) P. 51–55 DOI 10.31891/2307-5732-2020-291-6-51-55

8. Ishchuk, L.P. (2016). Peculiarities of the use of species and hybrids of the genus *Populus* L. in landscapes of an urbanized environment. [Osoblyvosti vykorystannya vydiv i hibrividu rodu *Populus* L. u landshaftakh urbanizovanoho seredovyscha]. *Scientific Bulletin of the National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine. Ser. Forestry and decorative horticulture*. Kyiv, Vol. 255. P. 107–120.
9. Ishchuk, L.P. (2013). Features of the use of members of the family *Salicaceae* Mirbel. in designing landscape compositions [Osoblyvosti vykorystannya predstavnykiv rodyny *Salicaceae* Mirbel. u proektuvanni landshaftnykh kompozytsiyakh]. *Scientific bulletin of the National Forestry University of Ukraine: coll. scientific and technical works*. Lviv: NLTUU. Issue 23.9. P. 197–202.
10. Kovalenko, M.H. Functions of urban green areas and their regulation. Urban planning and territorial planning [Funktsiyi mis'kykh zelenykh nasadzen' ta yikh normuvannya. Mistobuduvannya ta terytorial'ne planuvannya]. P. 194–201. URL: file:///D:/Downloads/MTP_2015_55_28.pdf (date of application: 16.07.2023)
11. Kuznetsov, S.I., Levon, F.M., & Pushkar, V.V. (2013). Assortment of trees, bushes and vines for landscaping in Ukraine [Assortyment derev, kushchiv ta lian dlya ozelenennya v Ukraini]. Kyiv: «CP «Komprint», 256 p.
12. Kucheriaviy, V.P. (2008). Landscaping of populated areas. Understudy. 2nd ed [Ozelenennya naselenykh mist'. Pidruchnyk. Vydannya 2-he]. Lviv: Svit, 456 p.
13. Kucheriaviy, V.P. (2008). Problems of sustainable development of the urban ecosystem of a large city [Problemy staloho rozvytku urboekosystemy velykoho mista]. *Scientific Bulletin: coll. science and technology Proceedings of the Ukrainian State Forestry University*. Ministry of Education of Ukraine, UkrDLTU. Lviv. Vol. 18.12. P. 23–29.
14. Kucheriaviy, V.P. (2008). Gardens and parks of Lviv [Sady i parky L'vova]. Lviv: Svit, 360 p.
15. Lazarev, A.G. & Lazarev, E.V. (2005). Landscape architecture [Landschaftnaja arhitektura]. Moscow: Phoenix, 282 p.
16. Polikarpova, L.V. & Silogayeva, V.V. (2017). Analysis of the current state of improvement and greening of the architectural environment of the city of Zaporizhzhia [Analiz suchasnoho stanu blahoustroju ta ozelenennya arkhitekturnoho seredovyscha mista Zaporizhzhya]. *Modern problems of architecture and urban planning*. Issue 47. P. 399–406.
17. Industrial botany (1980). [Promyshlennaja botanika] comp. E. N. Kondratiuk, V.P. Tarabryn, V.I. Baklanov et al.. Kyiv: Nauk. dumka, 260 p.
18. Savelyeva, L.S. (1975). Sustainability of trees and shrubs in protective forest plantations. Moscow: Lesnaya promyshlennost, 168 p.
19. Rubtsov, L.I. (1977). Trees and shrubs in landscape architecture. Handbook [Derev'ja i kustarniki v landshaftnoj arhitekture. Spravochnik]. Kyiv: Scientific opinion, 272 p.
20. Tymoshenko, L.M. (2018). The state of dendrophytes of street plantings in the city of Luben [Stan dendrofitiv vulychnykh nasadzen' mista Luben]. *Agroecological journal*. № 2. P. 28–32.
21. Terlyha, N.S., Danylchuk, O.V., Yukhymenko, Yu.S., Fedorovsky, V.D. & Danylchuk N.M. (2015). Cultivated dendroflora of parks and squares of Kryvyi Rih: historical aspects of formation and current state [Kul'tyrovana dendroflora parkiv i skveriv Kryvoho Rohu: istorychni aspekty formuvannya ta suchasny stan]. *Bulletin Dokuchaev KHNAU. Biology series*. Vol. 2. P. 93–101.
22. Terliga, N.S., Fedorovsky, V.D., Yukhymenko, Yu.S., Danilchuk, O.V., Danilchuk, N.M. & Lapteva O.V. (2014). Botanical-geographical analysis and frequency of trawling sights in the woody shrub thicket of green plantings of Kryvyi Rih [Botaniko-geohrafichnyy analiz i chastota traplyannya vydiv derevno- chaharnykovoyi roslynnosti zelenykh nasadzen' Kryvoho Rohu]. *Bulletin of the Zaporizhzhya National University. Biological sciences*. № . 1. P. 200–210.
23. Fedorovsky, V.D., Terliga, N.S., Yukhymenko, Yu.S., Danilchuk, O.V., Danilchuk N.M. & Lapteva O.V. (2013). Species warehouse and life camp of wood-chagarnikovo growth of parks and squares of metro Kriviy Rig [Vydovyy sklad ta zhytlyevyy stan derevno-chaharnykovoyi roslynnosti parkiv ta skveriv m. Kryvyi Rih]. *Introduction to Roslin*. № . 3. P. 73–79.
24. Krüssmann, G. (1978). *Handbuch der Laubgehölze*: in 3 Bd.u.e. Reg. / G. Krüssmann. – Berlin, Hamburg: Parey. Bd. 3. Pru Z. 2, neubearb.u. erw. Aufl., 496 p.
25. Rehder, A. (1949). *Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America*. New York: The Macmillan Company, 996 p.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).292595](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).292595)

УДК 581:9(477.74).

О. М. Попова, к.б.н., доцент

С. Ю. Рогозін, аспірант

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Кафедра ботаніки, фізіології рослин та садово-паркового господарства,

Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: olena-popova@ukr.net

ІСТОРІЯ БОТАНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ РАЙОНУ ТИЛІГУЛЬСЬКОГО ЛИМАНУ

Проведено аналіз 122 літературних джерел, що стосуються рослинного світу району Тилігульського лиману, від античного періоду до наших часів. Встановлено, що перші відомості про рослинний світ території з конкретною вказівкою місця та рослин датуються 1794 р. Загалом на території за літературними даними можна ідентифікувати трохи більше 400 видів рослин. Созофітна фракція виявленої флори складає 57 видів, з них 31 – з Червоної книги України. Підтверджено, що флора та рослинність району Тилігульського лиману комплексно не вивчалися, повного списку флори та созофітів не містить жодне літературне джерело.

Ключові слова: Тилігульський лиман; природно-заповідний фонд; регіональний ландшафтний парк; РЛП «Тилігульський»; созофіти; Червона книга України; історія ботанічних досліджень

Тилігульський лиман (далі – ТЛ) знаходиться на межі Одеської та Миколаївської областей України. Він витягнутий з півночі на південь на 80 км. Відповідно до геоботанічного районування України [11], цей лиман та його узбережжя лежать в межах чотирьох геоботанічних районів, трьох округів та двох смуг (різнотравно-типчаково-ковилових та типчаково-ковилових степів) Приазовсько-Чорноморської степової підпровінції, Причорноморської (Понтичної) степової провінції, Європейсько-Азіатської степової області. Це підкреслює різноманіття природних умов на узбережжі лиману. За сучасним геоботанічним районуванням, основною одиницею якого визнається геоботанічний округ, ТЛ лежить в межах Одеського округу злакових та полиново-злакових степів, засолених луків, солончаків і рослинності карбонатних відслонень, який відноситься до Чорноморсько-Азовської степової підпровінції Понтичної степової провінції Степової підобласті (зони) Євразійської степової області [15, 57].

Район досліджень характеризується значною природоохоронною цінністю. У 1995 році постановою Кабінету Міністрів України ТЛ було включено до переліку водно-болотних угідь міжнародного значення, відповідно до Рамсарської

конвенції (3UA008). Враховуючи це, на лівому березі лиману у 1995 р. організовано регіональний ландшафтний парк (далі – РЛП) «Тилігульський» (Миколаївська обл.), а в 1997 р. на правому березі – РЛП «Тилігульський» (Одеська обл.). У Миколаївській області парк займає площу 8195,4 га, у тому числі 4755,3 га припадає на акваторію лиману, в межах Одеської області площа парку становить 13954 га, у тому числі акваторія лиману – 9981 га. До складу РЛП «Тилігульський» (Миколаївська обл.) входить орнітологічний заказник місцевого значення «Пониззя Тилігульського лиману» (120 га, оголошено у 1976 р.). До складу РЛП «Тилігульський» (Одеська обл.) включено орнітологічні заказники загальнодержавного значення «Коса Стрілка» (394 га, 1974 р.) та місцевого значення «Тилігульський пересип» (390 га, 1983 р.), ландшафтні заказники місцевого значення «Новомиколаївський» (315 га) та «Каїрівський» (150 га), а також ботанічний заказник місцевого значення «Калинівський» (92 га, всі оголошені у 1993 р.). Поруч з РЛП «Тилігульський» (Одеська обл.) знаходиться загальнозоологічний заказник загальнодержавного значення «Петрівський». Також ТЛ входить до складу Смарагдової мережі Європи – мережі територій особливого природоохоронного значення, важливих для збереження біорізноманіття, які створюються у країнах Європи відповідно Бернської конвенції – Конвенції про охорону дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі (UA0000138 Tiligulskyi Lyman, 23243,0 га) [90].

Функціональне зонування РЛП «Тилігульський» (Одеська область) затверджено рішенням Одеської обласної ради № 1376-V-II від 10.08.2020 р. РЛП «Тилігульський» (Миколаївська область) на даний час функціонального зонування не має.

Враховуючи особливу ботанічну та зоологічну цінність території, на базі двох регіональних ландшафтних парків неоднаразово пропонувалося створення національного природного парку «Тилігульський» [20, 60, 98 та ін.]. На даний час рослинний світ території вивчений недостатньо. Немає цілісного уявлення про найбільш цінну фракцію флори – созофітну.

Метою даної роботи був ретроспективний аналіз досліджень рослинного світу ТЛ, його узбережжя та прилеглих ділянок.

Було поставлене завдання виявити літературні джерела, в яких розглядаються судинні рослини узбережжя, акваторії ТЛ та прилеглої території, встановити переліки судинних рослин, які наводяться в них, та виокремити созофіти.

Серед созофітів враховували види, занесені до Червоної книги України (далі – ЧКУ) [85] та до Червоних списків Одеської та Миколаївської областей (далі – ЧСОО та ЧСМО відповідно) [59].

Для Північного Причорномор'я виділяють чотири історичних етапи дослідження флори: античний, російсько-імперський, радянський та український [за 52, 53, 91, зі змінами].

Античний етап

Перші загальні відомості про рослинний світ території навколо ТЛ, яка у давні часи належала скіфам, знаходимо у четвертій книзі «Історії в дев'ятьох книгах» Геродота, написаних близько 440 р. до н.е. [12], у якій значено, що земля скіфів являє собою «багату травою й добре зрошену рівнину». Після цієї книги будь-якої біологічної інформації про дану територію не було аж до 1650 р. У 1650 році у книзі французького інженера і військового картографа Гійома Левассера надається загальний опис причерноморських степів України [5].

Більш конкретні дослідження рослинного світу тут почалися у XVIII ст., коли вже існувала Російська імперія.

Російсько-імперський етап (1721–1917 рр.)

Перша частина цього етапу характеризується відсутністю у регіоні місцевих ботанічних закладів. Район вивчався переважно російськими та іноземними фахівцями, які описували рослинний світ попутно з іншими спостереженнями у процесі подорожей до Криму, Кавказу та у більш східні землі. У цей період дані щодо флори району досить фрагментарні. Місцеві наукові центри почали створюватися у 1817–20 рр. (Ришельєвський ліцей в м. Одеса, Одеський міський ботанічний сад).

На початку етапу детальну характеристику півдня Російської імперії, в тому числі й рослинного покриву, надав інженер, офіцер російської армії С.І. Мишецький [56], який охарактеризував умови місцевості, де проживали козаки, основні природні об'єкти, описав ліси і трави, навів короткий перелік рослин під слов'янськими назвами та умови їх зростання в регіоні. Цю роботу можна вважати першими відомостями про рослинний світ території у нефахових роботах дослідників та мандрівників.

Пізніше флору Херсонської губернії вивчали П. Паллас [125], А.К. Мейер [47], Д. Девіль [121], С. Бруннер [120], О. Нордман [122], І.П. Хрустальов [104], К. Ледебур [123], А. Андржейовський [1], А. Реманн [126], М.К. Срединський [92], Е. Линдемманн [44, 45, 124], І.Ф. Шмальгаузен [114, 115]. Але у всіх цих роботах немає конкретних посилань на ТЛ та прилеглу територію, за виключенням праць А.К. Мейєра, А. Андржейовського та А. Реманна.

У А.К. Мейєра знаходимо перші згадки про флору узбережжя ТЛ. У роботі «Оповідальний, землемірний та природничий опис Очаківської землі» [47] для гирла річки Тилігул (Делігіол) наведено *Trifolium purpureum* Loisel. (конюшина пурпурова), *Hedysarum onobrychis* L. (солодушка еспарцетна), *Lotus corniculatus* L. (лядвенець рогатий). Також є згадка про дикий льон, коноплі, «пшеничку». А. Андржейовський конкретно для узбережжя ТЛ згадує тільки *Silene conica* L. (смілка напівконічна) [1]. А. Реманн, вивчаючи рослинність північних берегів Чорного моря, повідомляє про 17 видів флори для узбережжя ТЛ, у тому числі *Arenaria cephalotes* M.B. (піщанка головчаста), *Palimbia salsa*

Bess. (палімба солончакова), *Ferula tatarica* Fisch. (ферула татарська), *Echium italicum* L. (синяк італійський) [126].

Таким чином, це був рекогносцирувальний період, коли вивчалася флора цілих губерній, областей, або їх частин, значних за площею, у порівнянні з якими ТЛ є дуже малою ділянкою. Конкретних відомостей про флору даного району у цей період дуже мало.

Пізніше з'являються флористичні роботи П. С. Шестерикова та Й. К. Пачоського, які заслуговують особливої уваги.

П. С. Шестериков, все життя працюючи бібліотекарем, пізніше – керівником наукової бібліотеки Новоросійського імператорського університету, вивчав флору околиць Одеси, при цьому приділяв увагу і деяким віддаленим територіям. У роботі «Список явношлюбних рослин околиць Одеси» [112] для узбережжя ТЛ він наводить 1 вид (*Astragalus varius* Gmel. – астрагал мінливий), у «Матеріалах для флори південно-західної частини Одеського повіту Херсонської губернії» [109] – 5 видів: *Nigella segetalis* MB. (чорнушка нив'яна), *Melilotus dentata* Pers. (буркун зубчастий), *Astragalus subulatus* MB. (астрагал шиловидний), *Potentilla inclinata* Vill. (перстач сивуватий), *Coryspermum nitidum* Kit. (верблюдка блискуча), у першому випуску «Флори околиць Одеси» [113] – 2 види (*Astragalus subulatus*, *Potentilla inclinata*), пізніше кількість видів з даної території у його роботах збільшується. У праці «Нові додаткові дані для флори Одеського повіту» [110] зі списком 513 видів рослин для ТЛ та суміжних територій вказується 12 видів. У «Визначнику рослин околиць Одеси» (1912 р.) [111], у якому розглядаються 1178 видів з 497 родів не тільки з найближчих до Одеси територій, але й з досить віддалених, для узбережжя ТЛ та його околиць автор наводить 25 видів, з яких 5 знайдені у районі Коблево, 6 – на луках Тилігула та 11 – для околиць с. Березівка. Серед них є такі, що зараз занесені до ЧКУ: *Carex secalina* Wahl. (осока житня; по солончаковим піскам Тилігульського лиману), *Galanthus nivalis* L. (підсніжник білосніжний; на східному березі Тилігульського лиману на схилі балки біля колонії Нейзац – зараз с. Прогресівка, – знайдено І. К. Пачоським), *Adonis wolgensis* Stev. (горицвіт волзький; біля сел. Березівка), *Orchis laxiflora* Lam. (зозулинець рідкоkwітковий), а також рідкісні *Schoenus nigricans* L. (сашник черніючий), *Hypocoum pendulum* L. (гіпекоум повислий).

Найбільший внесок у вивчення флори тодішньої Херсонської губернії і її окремих ділянок зробив Й. К. Пачоський. Роботи даного автора заслуговують особливої уваги, оскільки вони відрізняються чіткою географічною приуроченістю та детальністю описів і не втратили свого значення дотепер. У Й. К. Пачоського знаходимо найбільш повні на той час переліки видів флори. Якщо спочатку у праці «Нові дані про флору Херсонської губернії» [65] для узбережжя ТЛ Й. К. Пачоський наводить 2 види, у роботі «Дикорослі злаки Херсонської губернії» [61] – 3 види, в «Описі рослинності Херсонської губернії Ч. І. Ліси» [66] відмічає один вид у лісі з *Rhus cotinus* L. (скупії звичайної) на правому

березі ТЛ неподалік с. Петрівка, то у подальшому кількість видів з даної місцевості у його роботах обраховується десятками. У першому томі «Херсонської флори» для ТЛ та суміжних територій вказано 31 вид вищих судинних рослин [64], а у другому, надрукованому лише у 2008 р., – 80 видів [63]. У третьому томі «Опис рослинності Херсонської губернії. Плавні, піски, солончаки, бур'янисті рослини» [62] детально розглянуто піщаний пересип ТЛ та наведено для нього 49 видів рослин. Сучасна номенклатура цих рослин представлена у роботі О. М. Попової [72]. Два види включено до чинного на час публікації другого видання ЧКУ (*Astrodaucus littoralis* (M. Bieb) Drude – морковниця прибережна, *Crambe pontica* Steven ex Rupr. – катран понтійський), два – до ЧСОО (*Ephedra distachya* L. – ефедра двоколоскова, *Zostera noltii* Hornem. – камка мала) та ще два – до Європейського червоного списку (далі – ЄЧС): *Senecio borysthenticus* (DC.) Andr. ex Czern. (жовтозілля дніпровське), *Tragopogon ucrainicus* Artemcz. (козельці українські).

Загалом російсько-імперський етап у вивченні флори регіону вважається дуже успішним саме завдяки роботам Й. К. Пачоського [53]. Цей етап можна підрозділити на два: ранній, який характеризується загальними описами природи півдня Російської імперії та більш пізній (приблизно з 90-х років XIX ст.), протягом якого виходили праці, присвячені безпосередньо вивченню флори регіону, у тому числі і узбережжя ТЛ.

Радянський етап (1917–1991 рр.)

Початок етапу пов'язаний з Жовтневою революцією, коли ситуація з науковими дослідженнями корінним чином змінилася [51].

Після відомих праць професора І. Ф. Шмальгаузена «Флора Південно-Західної Росії» [115] та «Флора Середньої та Південної Росії, Криму та Північного Кавказу» [114] в Україні не було відповідного інвентарного опису, хоча на її території вже були виявлені нові види як для регіону, так і для науки в цілому, тому дуже важливим було створення 12-томної «Флори УРСР» [101]. У цій праці для багатьох видів наводяться конкретні посилання на гербарні зразки та місцезростання, зокрема для району ТЛ зазначається 60 видів, у тому числі 5 таких, що зараз внесені до ЧКУ (*Astrodaucus littoralis*, *Adonis wolgensis*, *Carex secalina*, *Crocus reticulatus* Steven ex Adams (шафран сітчастий), *Galanthus nivalis*). Також протягом радянського періоду виходять три визначники рослин України: перший – у 1950 р. [8], другий – у 1965 [7], третій – у 1987 р. [58], 4-томна «Рослинність УРСР» [2, 6, 88, 89]. У радянський період за участі, зокрема, українських вчених розпочато випуск «Флори Європейської частини СРСР» [100]. У цих фундаментальних роботах рослини узбережжя ТЛ практично не вказуються.

У районі ТЛ проводили флористичні дослідження І. В. Матковський [46], М. Г. Кожура, Л. А. Шапошнікова [29], колективи авторів Одеського держуні-

верситету та Одеського сільськогосподарського інституту [26, 102], Л. І. Крицька [35–39, 41–43] та ін.

У статті І. В. Матковського про ліси Одещини [46] розглядається штучне урочище «Чубівка-Раухівка», у якому зростали ясен звичайний, акація біла, гледичія з домішками дубу, бересту, шовковиці, чумака (*Ailanthus* Desf.), софори, карагачу (*Ulmus campestris* L. var. *suberosa* (Moench) Wahl. – в'яз корковий). Серед трав'янистих рослин головну роль відігравали степові види та бур'яни, а саме: *Agropyron repens* (L.) P. Beauv., *Stipa capillata* L. (ковила волосиста), *Koeleria gracilis* Pers. (келерія струнка), *Festuca sulcata* (Hack.) Nyman (костриця борозниста), *Artemisia austriaca* Jacq. (полин австрійський), *Achillea millefolium* L. (деревій звичайний), *Delphinium consolida* L. (сокирки польові), *Ballota nigra* L. (м'яточник чорний), *Phlomis pungens* Willd. (залізник колючий), *Echinosperrum lappula* Lehm., *Xeranthemum annuum* L. (безсмертки однорічні), *Asparagus officinalis* L. (холодок лікарський), *Nepeta ucrainica* auct. non L. (котяча м'ята українська), а з чагарників часто – *Rosa canina* L. (шипшина собача) та *Caragana frutescens* (L.) DC. (карагана кушова). Всього для урочища наводиться 18 видів вищих судинних рослин.

При проведенні флористичних досліджень вищих рослин викладачі кафедри морфології і систематики рослин ОДУ імені Мечникова М. Г. Кожура та Л. А. Шапошнікова вперше встановили правильну назву виду підсніжника, що зростає на ТЛ, – *Galanthus elwesii* Hook. (підсніжник Ельвеза) [29]. До цього часу різні автори вважали, що тут зростає *G. nivalis* L. (п. білосніжний) [7, 64, 101].

У відомій праці В. В. Протопопової «Адвентивні рослини Лісостепу і Степу України» [84] для району ТЛ наводяться 2 види адвентивних рослин – *Amaranthus albus* L. (щириця біла) та *Solanum rostratum* Dun. (паслін рогатий) (ареали цих видів показані штриховим методом, до заштрихованого ареалу входить і ТЛ).

У 1970–80 рр. співробітники ботанічних кафедр ОДУ імені Мечникова та ОСГІ під керівництвом професора ОСГІ Ф. К. Тихомирова вивчали флору Північно-Західного Причорномор'я [26, 102]. У роботах наводиться визначення представників рослин регіону, що належать до 29 родин, але у них міститься всього одне посилання на узбережжя ТЛ – повідомляється, що тут зростає *Thalictrum simplex* L. (рутвиця проста).

У роботах Л. І. Крицької [35–39, 41–43] розглянуті основні закономірності структури флори степів та вапнякових відслонень Правобережного Злакового Степу, проведено систематичний, екологічний, еколого-ценотичний, географічний аналіз 916 видів. Для сучасної території РЛП «Тилігульський» у її опублікованих роботах наводяться посилання на гербарні зразки низки видів: *Galium odessanum* Klok. (підмаренник одеський), *Asperula bidentata* Klok. (ясменник двозубий) *Astragalus abruptus* Krytzka (астрагал нежданий), *A. albidus*

Waldst. et Kit (а. білуватий), *A. pseudoglaucus* Klok. (а. несправжньоосизий), *A. pseudotataricus* Boriss. (а. несправжньотатарський).

У монографії «Злаки України» 1977 р. [24], у якій різнобічно описано 334 види з 98 родів, для району ТЛ наведено 22 види: *Stipa lessingiana* Trin. & Rupr. (ковила Лессінга), *S. capillata*, *Elytrigia repens* (L.) Nevski (пирій повзучий) та ін.

В 1980 виходить перша ЧКУ [107]. В ній навколо ТЛ показані лише 4 види рослин: *Astragalus dasyanthus* Pall. (астрагал шерстистоквітковий), *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *Tulipa shrenkii* Regel (тюльпан Шренка) (ареали трьох останніх видів показані штриховим методом).

У монографії «Деревії» 1984 року [99], у якій викладено результати порівняльно-морфологічного, біоморфологічного, поліноморфологічного, анатомічного, каріологічного, цитогенетичного аналізу представників цього роду в Україні, для околиць ТЛ (гирла р. Тилігул) вказаний лише один вид – *Achillea setacea* Waldst. et Kit. (деревій щетинистий).

У «Хорології флори України», яка містить таксономічні, еколого-ценотичні та хорологічні характеристики, а також карти ареалів, виповнені сітковим методом для 520 видів з 43 родин, у районі ТЛ вказано 23 види, з них два наразі охороняються в Одеській області: *Ephedra distachya* та *Asragalus hypanicus* Krytzka (астрагал південнобузький) [103].

У цей період вивчалася також рослинність території навколо ТЛ.

В.Г. Танфильєв у 1928 р. досліджував заплаву р. Тилігул та її рослинність [93], які до того часу не вивчалися. Автором описані лучні і солончакові угруповання, в описах наведено 32 види рослин, у тому числі *Artemisia maritima* auct. non L. (полин морський), *Statice meyeri* Boiss. (кермек Мейєра), *S. caspia* Willd. (к. каспійський), *Petrosimonia triandra* (Pall.) Simonk. (петросимонія тритичинкова) та ін. З сучасних раритетних видів наводиться *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. (цмин пісковий).

Значний внесок у дослідження регіону зробив Г.Й. Потапенко, який вивчав флору та рослинність пересипу ТЛ. У 1925–1926 р. у статті «Використання солонцюватих земель причорноморського узбережжя для сільськогосподарських цілей» він наводить перелік деяких сільськогосподарських рослин, які добре росли неподалік с. Коблево, та бур'янів: це томати (*Solanum lycopersicum* L.), гарбузи (*Cucurbita pepo* L.), кавуни (*Citrullus vulgaris* L.), дині (*Cucumis melo* L.) та соняшник (*Helianthus annuus* L.), а також *Tribulus terrestris* L. (якірці сланкі), *Portulaca oleracea* L. (портулак городній), *Atropis distans* Giesb. s. l. (покісниця розставлена), *Salicornia herbacea* L. (солонець трав'янистий), *Suaeda maritima* С.А.М. (содник солончаковий), *Kochia hirsuta* Nolt. (віниччя шорстке) [79]. У 1929 році у праці «Тилігульський пересип (грунтово-ботанічний нарис)» [81], яка представляє собою попередній звіт про експедиції 1924–1926 рр. в с. Коблево, Г.Й. Потапенко надав детальну характеристику ґрунтів та рослинності пересипу ТЛ. Загалом у статті наведено 157 видів судинних рослин. У 1943 р.

в Одесі Г. Й. Потапенко захистив дисертацію «Рослинність північно-західного узбережжя Чорного моря: ґрунти, флора, рослинність та шляхи рослинницького освоєння Причорноморських пересипів» [80]. У роботі містяться детальні геоботанічні описи рослинності пересипу ТЛ, приуроченої до приморської частини, «сірих пісків пагорбів», «сірих вирівняних пісків», мокрих солончаків, солончакових лук та боліт, черепашкових піщаних наносів. Кількість видів в одному описі коливається від 9 до 69. Всього для території пересипу вказується 186 видів, у тому числі такі созофіти, як *Astrodaucus littoralis* (*Daucus bessarabicus* DC. – морква бесарабська), *Carex secalina*, *Crambe maritima* auct. non L. (катран понтійський), *Frankenia pulverulenta* L. (франкенія припорошена) [85], *Ephedra distachya*, *Eryngium maritimum* L. (миколайчики приморські), *Helichrysum arenarium*, *Tragopogon borysthenicus* Artemcz. (козельці дніпровські), *Zostera marina* L. (камка морська), *Z. noltii* [59].

Під час війни та в повоєнний час дослідження регіону не проводили. Після війни багато праць носили суто практичний характер.

Рослинність засоленних ґрунтів, в тому числі і півдня України, детально вивчав Г. І. Білик. В монографії «Рослинність засоленних ґрунтів України, її розвиток, використання та поліпшення» [3] для району ТЛ автор наводить 13 видів рослин.

У цей період дослідження альгофлори та деяких водних квіткових рослин у ТЛ здійснював І. І. Погребняк – на той час завідувач кафедри ботаніки Одеського госуніверситету. У статті «Про мікрофітобентос Тилігульського лиману» [69], у якій використані матеріали досліджень за 1956 та 1958 рр., автор вказує деякі квіткові рослини як субстрат для мікрофітобентосу: це рдест гребінчастий (*Potamogeton pectinatus* L.), рупія спіральна (*Ruppia spiralis* L. ex Dumort.), заннікелія велика (*Zannichellia major* Voem. ex Reicheb.). У 1965 році І. І. Погребняк захистив докторську дисертацію на тему: «Донна рослинність лиманів північно-західного Причорномор'я та суміжних з ним акваторій Чорного моря». Робота присвячена водоростям, але вивчалися і квіткові макрофіти як субстрат для обростання водоростями. У ТЛ для мулистопіщаних донних відкладів прибережної зони характерною є асоціація рдеста гребінчастого за участі заннікелії великої та рупії спіральної. На піщаних донних відкладах поблизу пересипу зустрічалася асоціація камки морської, а також к. малої. Останній вид, окрім району пересипу, зустрічався також в прибережній зоні майже усієї південної частини лиману. Після розширення у 1957 р. каналу, який з'єднує ТЛ з Чорним морем, у південній частині лиману рупія спіральна та камка мала стали більш розповсюдженими. Всього у ТЛ відмічено 5 вищих судинних рослин – *Potamogeton pectinatus*, *Zannichellia major*, *Ruppia spiralis*, *Zostera marina*, *Z. minor* [68]. У статті «Деякі підсумки вивчення донної рослинності лиманів Північно-Західного Причорномор'я та суміжних ним акваторій Чорного моря» [70] І. І. Погребняк визначає, що у дослідженому районі виявлено 735 видів

водоростей та 29 видів вищих судинних рослин (4%). Серед інших лиманів досліджено також акваторію ТЛ.

У 1977 році вийшла книга «Геоботанічне районування Української РСР» [11], в якій вся територія України була поділена на 5 провінцій, 12 підпровінцій, 49 округів, 173 райони. В праці наводиться опис фізико-географічних умов та рослинності всіх районів, у тому числі і тих, в межах яких знаходиться ТЛ, з вказівкою деяких домінуючих видів.

У 1981 р. Ю.Р. Шеляг-Сосонко та О.В. Костильов розглянули степову рослинність схилів ТЛ [108], яка представлена фрагментами чагарникового степу, залишками заростей степових чагарників, різнотравно-типчаково-ковилевими та типчаково-ковилевими степами. На території також виявлено лучно-солончаківу рослинність та невеликі зарості чагарників. Найбільш збережена степова рослинність представлена формаціями *Stipeta capillatae*, *Stipeta lessingiana*, дуже рідко – *Stipeta ucrainicae*. Запропоновано встановити охоронний режим на схилах степової балки поблизу с. Ташино (на лівому березі лиману), де на площі близько 5 га знаходяться рештки корінних степових угруповань зонального типу рослинності. Загалом для узбережжя ТЛ вказано 109 видів рослин. Серед них – раритетні види: *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. ucrainica* P. Smirn (ковила українська), *Adonis vernalis* L. (горицвіт весняний), *Clematis integrifolia* L. (ломиніс цілолистяний), *Iris pumila* L. (півники карликові).

У 1982 році у статті В.С. Ткаченка «Інтразональна рослинність на степових схилах Північно-Західного Причорномор'я» [94] детально описана одна з великих балок на правому березі ТЛ, поблизу с. Калинівка, у якій зафіксовано сильне пасовищне навантаження та зсуви. Для неї наведено 14 видів рослин, у тому числі созофіти *Stipa lessingiana* та *Paronychia cephalotes* (M. Bieb.) Besser. (загнітник головчастий).

У 80-х рр. низка робіт була присвячена оцінці екологічного стану флори, рослинності та прогнозу їх змін у зв'язку з проектуванням водогосподарського комплексу та будівництва каналу «Дунай-Дніпро», який мав охопити і акваторію ТЛ [28, 32, 34, 96 та ін.]. Разом з імовірністю знищення деяких ділянок внаслідок гідробудівництва постало питання щодо охорони та збереження найбільш цінних з них, тому даному питанню у роботах ботаніків у цей період починає приділятися суттєва увага.

Загалом степову рослинність Правобережного Причорномор'я та її можливі зміни внаслідок будівництва водогосподарського комплексу Дунай-Дніпро вивчав О.В. Костильов. В його кандидатській дисертації надана характеристика степової рослинності Правобережного Причорномор'я, яка включає справжні (різнотравно-типчаково-ковилеві, типчаково-ковилеві), пустельні, чагарникові та тим'яникові степи, приділена увага ендемічним видам рослин, рекомендовано брати під охорону невеликі степові ділянки, багаті на ендемічні види, зокрема для узбережжя ТЛ запропоновано дві такі території: «Калинівська» (біля с. Калинівка, правий берег ТЛ) та «Ташинська» (біля с. Ташине, на лівому бе-

резі ТЛ) [34]. У статті «Прогноз змін степової рослинності під впливом каналу Дунай – Дніпро», яка вийшла у 1983 р., О. В. Костильов [32] розглянув можливі зміни степової рослинності під впливом каналу Дунай – Дніпро і зазначив, що в умовах Півдня України, де розораність досягає 95% території, степова рослинність зберіглася виключно на схила річок, лиманів та балок, які при піднятті рівня води в лиманах значною мірою будуть затоплені. У статті «Степові ділянки Правобережного Причорномор'я, що заслуговують на охорону» [33] цей автор обґрунтував створення нових об'єктів ПЗФ на території степового Правобережжя. В статті детально описана рослинність перспективної ділянки біля с. Калинівка на правому березі ТЛ. У її рослинному покриві переважають угруповання формацій *Festuceta valesiacaе*, *Stipeta lessingianaе*. Загалом для цієї ділянки наводиться 60 видів рослин, у тому числі *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. ucrainica*, *Amygdalus nana* L. (мигдаль степовий), *Helichrysum arenarium*, *Iris pumila*, *Polygala moldavica* Kotov (китятки молдавські), *Spiraea hypericifolia* L. (таволга звіробоелиста), які зараз підлягають особливій охороні.

У статті «Ретроспекція та прогноз змін степів півдня України під впливом ірригації» [95], В. С. Ткаченко та О. С. Артюшенко розглянули історичний розвиток степів півдня України, їх теперешній стан, зазначили, що в доісторичні часи (4–5 тис.р. до н.е.) степи району відзначалися великим різноманіттям травостоїв, значним поширенням степових чагарників і незрівнянно більшою, ніж сьогодні, залісненістю. Від тих лісів залишилися переважно чагарникові ценози на схилах лиманів, в тому числі і ТЛ, які складаються із видів родів *Crataegus* L., *Rosa* L., *Berberis* L., *Euonymus* L., *Prunus* L., *Rhamnus* L., *Sambucus* L., *Viburnum* L. та реліктових лісових елементів в трав'яному ярусі – *Corydalis solida* (L.) Clairv. (ряст ущільнений), *Gymnospermium odessanum* (DC.) Takht. (гімносперміум одеський), *Anemone sylvestris* L. (анемона лісова), *Galanthus elwesii*, *Pulsatilla nigricans* Störk. (сон чорніючий), *Gagea paczoskii* (Zapał.) Grossh. (зірочки Пачоського), *G. bulbifera* (Pall.) Salisb. (з. цибулиноносні).

У книзі «Фітоекологічні аспекти гідромеліорації Північно-Західного Причорномор'я», що вийшла у 1985 р., В. С. Ткаченко та О. В. Костильов особливу увагу приділили структурі, динаміці та тенденціям розвитку зонального типу рослинності – степів – та азональним типам (луки, болота, ліси), охарактеризували можливі зміни їх структури під впливом гідробудівництва, при цьому детально охарактеризували рослинність ТЛ, для нього та суміжних територій наводиться 57 видів рослин. До охорони рекомендована ділянка між с. Калинівка (на 3 км північніше) та с. Каїри площею 30–35 га [96].

У 1987 р. було узагальнено пропозиції вчених-ботаніків щодо створення в Україні нових об'єктів ПЗФ різного рангу [67]. Для узбережжя ТЛ було запропоновано дві ділянки: біля с. Калинівка («Калинівський») та навколо с. Коблево («Тилігульський»). Для кожної з ділянок наводиться по 34 види флори, для «Тилігульського» вказуються созофіти *Genista scythica* Pacz. (дрік скіфський), *Arenaria cephalotes*, *Crambe tataria* Sebeök (катран татарський) (від-

повідно ЧКУ [85]). Останній вид для верхів'їв ТЛ вказується і у більш пізній роботі [27].

У праці Д. В. Дубини та Ю. Р. Шеляг-Сосонка «Плавні Причорномор'я» [16] на мапі ТЛ созофіти не наводяться, але в околицях с. Коблево запропоновано створити державний заказник республіканського значення «Тилігульський», який мав включати пересип ТЛ і акваторію шириною до 1 км. Для заповідання перспективна вся територія пересипу з водоймами, схили лиману, а також акваторія у його пониззях на площі 1000 га. Масив включав угруповання, типові для відповідних геокомплексів плавневого ландшафту: солончакові, солонцеві та лучно-галофітні, а на мілководдях – гідрогалофітні. Також розглянута рослинність пісків, що заростають, у її складі зафіксовані ендемічні види – *Apera maritima* Klokov (метлюг приморський), *Astragalus borysthenticus* Klokov (астрагал дніпровський), *Medicago kotovii* Wissjul. (люцерна Котова), *Elytrigia maeotica* (Prokud.) Prokud. (пирій азовський) та ін. У складі петрофітно-степового комплексу на схилах виявлені ендемічні види *Genista scythica*, *Eremogone cephalotes* та ін.

У цей період співробітники кафедри ботаніки ОДУ імені І. І. Мечникова у районі ТЛ вивчали розповсюдження рідкісних рослин: *Gymnospermium odessanum*, *Colchicum ancyrense* N. L. Burtt (пізньоцвіт анкарський), представників роду *Ornithogalum* L. – *O. boucheanum* (Kunth) Aschers (рястка Буше), *O. kochii* Parl. (р. Коха) та інших, а також можливості їх збереження при перетворенні середовища під впливом гідробудівництва [14, 17, 18, 30].

Цей етап також можна поділити на два підетапи: довоєнний та післявоєнний.

Український етап (1991 р. – даний час)

Як зазначав І. І. Мойсієнко [53], ознаками цього етапу є, з одного боку, розширення тематики досліджень, а з іншого – погіршення матеріальної бази наукових робіт. Продовжується вивчення регіону фахівцями провідної ботанічної установи України – Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного, інших установ (зокрема, ботанічного саду ім. М. М. Гришка). Але у зв'язку з частковою децентралізацією все більшу роль починають відігравати регіональні наукові центри. У цей період значно поживляється наукова робота в ОДУ ім. І. І. Мечникова. Протягом періоду продовжуються дослідження флори та рослинності, а також окремих раритетних видів на значних за площею територіях, які включають і ТЛ [53].

У 1996 році виходить друге видання ЧКУ (рослинний світ) [106], у якому для району ТЛ на мапах показані 12 видів рослин.

У 2002 році друкується стаття Ф. П. Ткаченка, О. О. Ковтуна «Макрофіти Тилігульського лиману Чорного моря» [97]. При вивченні макрофітів виявлено 2 види нових для лиману вищих судинних рослин: *Myriophyllum spicatum* L. (водопериця колосиста) та *Typha angustifolia* L. (рогіз вузьколистий). Не-

зважаючи на виявлені зміни складу макрофітів у порівнянні з минулими періодами, основні риси макрофітобентосу ТЛ зберігаються. Крім зазначених рослин, у лимані ростуть *Ceratophyllum demersum* L. (кушир темнозелений), *Phragmites australis* (Cuv.) Trin. ex Steud. (очерет звичайний), *Potamogeton pectinatus*, *Zannichellia major*, *Zostera noltii* – всього 7 видів судинних рослин.

У статті О. М. Попової «Судинні рослини Одеської області з Червоної книги України, Світового та Європейського Червоних списків» [73] наведено уточнений перелік видів судинних рослин, занесених до ЧКУ, ЄЧС та Червоного списку Міжнародного Союзу охорони природи (далі – ЧС МСОП), і їх відомі місцезростання в Одеській області. Для району ТЛ вказано 16 видів.

У «Конспекті флори пониззя межиріччя Дністер-Тилігул» [4], який є результатом дисертаційної роботи О. Ю. Бондаренко, відображені географічні та біоморфологічні характеристики видів, їх еколого-ценотична приуроченість, господарське значення, гідроморфи тощо. Для ТЛ та суміжних територій наводиться 408 видів, у тому числі 12 видів з ЧКУ: *Adonis vernalis*, *A. wolgensis*, *Astragalus dasyanthus*, *A. odessanus* Besser (астрагал одеський), *Astrodaucus littoralis*, *Bulbocodium versicolor* (Ker Gawl.) Spreng. (брандушка різнокольорова) (пониззя р. Тилігул, Березівка, верхів'я ТЛ, Каїри – за [117], *Carex secalina* (за Пачоським, солончаки), *Crocus reticulatus*, *Galanthus elwesii* (за ЧКУ, 1996), *Eremogone cephalotes*, *Fritillaria ruthenica* Wikstr. (рябчик руський) (за даними А. Погорельського, околиці пгт Березівка), *Stipa capillata*, *S. lessingiana*; 15 видів з ЧСОО: *Allium guttatum* Steven (цибуля крапчаста), *Amygdalus nana*, *Astragalus hypanicus*, *Ephedra distachya*, *Helichrysum arenarium*, *Hyacinthella leucophaea* (K. Koch) Schur (гіацинтик блідий), *Iris halophilla* Pall. (півники солелюбні), *I. pumila*, *Kohlruschia prolifera* (L.) Kunth (кольраушія пагононосна), *Linum linearifolium* Jáv. (льон лінійнолистий), *Minuartia hypanica* Klokov (мінуарція бузька), *Muscari neglectum* Guss. ex Ten. (гадюча цибулька занедбана), *Ornithogalum kochii*, *Phlomis hybrida* Zelen. (залізняка гібридний), *Senecio borysthenticus* (за даними Пачоського).

У п'яти томах «Екофлори України» [21], у яких наводиться різноманітна характеристика покритонасінних рослин з 38 родин флори України та розміщені карти їх ареалів, складені за гербарними даними, для району ТЛ показано 62 види рослин, у т.ч. созофіти *Adonis vernalis*, *A. wolgensis*, *Eremogone cephalotes* з ЧКУ, *Bufonia parviflora* Griseb. (бюфонія дрібноквіткова), *Minuartia hypanica*, *Paronychia cephalotes* з ЧСОО.

Досить ретельно вивчив флору усього Північного Причорномор'я, куди також входить і ТЛ, І. І. Мойсієнко. У його дисертаційній роботі здійснена інвентаризація флори Північного Причорномор'я, яка налічує 2025 видів вищих судинних рослин, у тому числі 281 раритетний вид. Для району ТЛ наводиться 7 видів [53].

У третьому виданні ЧКУ [105], до якого загалом включено 611 видів вищих судинних рослин, для району ТЛ показано 15 видів.

У цей період вчені досліджують окремі види рослин України, включених до ЧКУ, місцезнаходження яких виявлені, у тому числі, і на узбережжі ТЛ (*Adonis vernalis*, *A. wolgensis*, *Bulbocodium versicolor*, *Carex secalina*, *Gymnospermium odessanum*) [13, 48–50, 54, 116–118].

У 1993 р. у статті «Розповсюдження, еколого-ценотичні особливості та структура ценопопуляцій *Galanthus elwesii* на східній межі ареалу (Одеська обл., Україна)» В. І. Мельник наводить результати комплексного хорологічного та еколого-ценотичного вивчення виду у Березівському та Комінтернівському р-нах. Для узбережжя ТЛ вказані такі локалітети: балка на березі ТЛ в околицях с. Калинівка та Каїри; балка на березі ТЛ в околицях сел. Соловйовка та Петрівка на території мисливського господарства Одеського військового округу; балка на березі ТЛ в околицях с. Ряснопіль в Березівському р-ні. Крім цього, відомо місцезнаходження у Миколаївській обл. в окол. с. Прогресівка (Березанський р-н). В околицях сс. Калинівка та Каїри автор також наводить інші раритетні рослини: *Adonis vernalis*, *A. wolgensis*, *Bellevalia sarmatica* (Pall. ex Georgi) Woronow (белевалія сарматська), *Colchicum ancyrense*, *Muscari neglectum*, *Ornithogalum boucheanum*, *O. kochii*, *Scilla bifolia* L. (проліска дволиста), *Tulipa biebersteiniana* Schult. & Schult. f. s. l. (тюльпан Біберштейна), *T. schrenkii* Regel (т. Шренка), *Amygdalus nana*, *Gymnospermium odessanum*, *Corydalis solida*. Описані вікові стани, чисельність підсніжника. Запропоновано взяти цю територію під охорону [48].

У 2009 році знайдено та детально вивчено 3 популяції *Carex secalina* (біля пгт. Коблево; недалеко від села Любопіль та за 2 км від с. Калинівка); зроблено геоботанічні описи угруповань, які об'єднують 41 вид вищих судинних рослин [54].

На початку третього тисячоліття галофільну рослинність Північно-Західного Причорномор'я вивчав Б. Ю. Войтюк [9]. Для узбережжя ТЛ він наводить 16 асоціацій рослинності: *Suaedo-Frankenietum*, *Salicornietum prostratae*, *Limonio caspici-Salicornietum*, *Bolboschoenetum maritimaе*, *Bolboschoeno-Phragmitetum*, *Tripolio vulgare-Bolboschoenetum*, *Phragmito-Juncetum maritimi*, *Limonio-meyeri-Artemisietum santonicae*, *Junco gerardii-Taraxacetum bessarabicae*, *Plantagini salsae-Juncetum gerardii*, *Juncetum gerardii*, *Puccinellietum bilykianaе*, *Puccinellietum giganteae*, *Agrosti-Caricetum distantis*, *Caricetum distantis*, *Spergulario-Tripolietum*, які об'єднують 39 видів квіткових рослин.

У 2007 виходить монографія «Галофитна рослинність України» [10]. У ній наводяться 13 геоботанічних описів з околиць с. Коблево, які разом включають 45 видів рослин.

У 2009 році вийшла «Зелена книга України» (далі – ЗКУ), яка є першим офіційним документом щодо державної охорони рослинних угруповань. У ній міститься 160 статей про 800 асоціацій рослинності України. Трав'яна і чагарникова степова рослинність розглянута у 25 статтях і охоплює 222 асоціації.

Для зони ТЛ наведені лише три степові формації: *S. capillatae*, *S. lessingiana* та *S. ucrainicae* (їх ареали показані штриховим методом) [22].

Рослинний покрив лісів та чагарників Північного Причорномор'я вивчали І. В. Соломаха, Є. О. Воробйов, та І. І. Мойсієнко [91]. В анотованому списку флори деревно-чагарникових рослин наведено більше ніж 800 видів, але тільки для 8 з них вказана локалізація на узбережжі ТЛ або р. Тилігул. Інформацію про деякі інші види можна отримати з геоботанічних описів, проведених авторами на узбережжі лиману з боку Одеської та Миколаївської областей. Таких описів 26, а видів в їхньому складі – 81. Наводяться два раритетних види з ЧКУ – *Galanthus elwesii*, *Gymnospermium odessanum*, та два види з ЧСОО – *Amygdalus nana* між селами Краснопілля і Ташине та *Scilla bifolia* [91].

У цей період також низка робіт присвячується флористичній цінності безпосередньо узбережжя ТЛ. У 2003 р. публікуються дві статті: «Фітосоцологічна оцінка Тилігульського регіонального ландшафтного парку (Одеська область)» [74] та «Раритетні судинні рослини Тилігульського регіонального ландшафтного парку» [25]. У них для узбережжя ТЛ наводяться 6 видів з ЧС МСОП [119], 5 видів з ЄЧС [19], 19 видів з другого видання ЧКУ (1996) [106]: *Allium sphaeropodum* Клок. (цибуля круглонога), *Astragalus borysthenticus*, *A. dasyanthus*, *Astrodaucus littoralis*, *Colchicum ancyrense*, *Crocus reticulatus*, *Eremogone cephalotes*, *Galanthus elwesii*, *Genista scythica*, *Gymnospermium odessanum*, *Ornithogalum boucheanum*, *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill. (сон лучний), *Sternbergia colchiciflora* Waldst. et Kit. (штернбергія морозникоквіткова), *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. pennata* L. (ковила пірчаста), *S. ucrainica*, *Tulipa hypanica* Клок. (тюльпан бузький), *T. shrenkii*, та 26 видів з ЧСОО: *Adonis vernalis*, *A. wolgensis* (ці два види зараз внесені до ЧКУ), *Amygdalus nana*, *Anemone sylvestris* та ін. П'ять формацій включені до ЗКУ [23]. Це найбільш обширні переліки раритетних видів, які наводилися для узбережжя ТЛ.

У 2001 р. було опубліковано детальний опис рослинного світу проектованого заказника «Ташинський», розташованого між сс. Ташине та Прогресівка на східному узбережжі ТЛ [40]. Флора території включає 407 видів; у роботі перераховано 85 з них, у тому числі 32 созофіти: 15 з сучасної ЧКУ (*Adonis vernalis*, *Crocus reticulatus*, *Eremogone cephalotes*, *Galanthus elwesii*, *Genista scythica*, *Gymnospermium odessanum*, *Ornithogalum bousheanum*, *Pulsatilla pratensis*, *Stipa asperella* – ковила шорстка, *S. capillata*, *S. lessingiana*, *S. pulcherrima* – ковила найкрасивіша, *S. ucrainica*, *Tulipa hypanica*, *T. schrenkii*) [за 85], 11 з ЧСМО (*Amygdalus nana*, *Astragalus abruptus*, *Bellewalia sarmatica*, *Clematis integrifolia*, *Iris halophila*, *Limonium platyphyllum*, *Linaria macroura*, *Linum linearifolium*, *Malus praecox*, *Polygala moldavica*, *Thymus moldavicus*) [за 59] та по три з ЄЧС та ЧС МСОП.

У 2004 році вийшла стаття Г. В. Коломієць «Мережа природоохоронних територій Миколаївської області в контексті збереження фітобіоти» [31]. Серед інших об'єктів ПЗФ розглянуто РЛП «Тилігульський» (Миколаївська область).

Для нього наведено 13 видів вищих судинних рослин. Охарактеризовано справжні (типчачово-ковилові) та петрофітні степи, деревно-чагарникові угруповання, лучно-солончаківі і літоральні фітоценози, формації чебрецю дво-видного (*Thymeta dimorpha*) та чебрецю молдавського (*Th. moldavici*), унікальна для регіону асоціація *Stipa lessingiana* + *Polygala moldavica*. Автор зазначає, що флора парку нараховує 407 видів, в тому числі з ЧКУ: підсніжник Ельвеза (*Galanthus elwesii*), голонасінник одеський, ряска Буше, еремогоне головчата, сон чорніючий, ковили волосиста, Лессінга, українська, Граффа, шорстка, тюльпани Шренка та бузький, шафран сітчастий, дрік скіфський, а також види ЧСМО: льоннок великохвостий, півники солелюбні, ломиніс цілолистий, яблуня рання (*Malus praecox* (Pall.) Borkh.), горицвіт весняний, валеріана пагононосна (*Valeriana stolonifera* Czern.), тринія багатостеблова (*Trinia multicaulis* Schischk.), льон лінійнолистий та ін. На території заповідного об'єкту зростають західнопричорноморські і причорноморські ендеміки, серед яких глід Попова (*Crataegus popovii* Chrshan.), мінуарція бузька (*Minuartia hypanica*), смілка українська (*Silene ucrainica* Klokov), юринея короткоголова (*Jurinea brachycephala* Klokov), волошка Маршалла (*Centaurea marschalliana* Spreng.), пижмо одеське (*Tanacetum odessanum* (Klokov) Tzvelev) та ін. Південну частину сучасного РЛП ще в 1976 р. було оголошено орнітологічним заказником місцевого значення «Пониззя Тилігульського лиману».

У статті О.М. Попової «Ботанічна цінність узбережжя Тилігульського лиману» [71] зазначено, що досліджувана територія характеризується високою флористичною різноманітністю (30% видів Одеської області), тут росте не менше ніж 28 ендеміків, 51 вид судинних рослин підлягає охороні в Одеській області, з них 11 – на міжнародному рівні, 21 – державному, 24 – місцевому. 5 формацій рослинності включені до ЗКУ, генофонд корисних рослин налічує більше 400 видів. Тому узбережжя ТЛ дуже цінне у ботанічному відношенні. Вказується 78 видів рослин.

У період з 2013 до 2018 рр. О.М. Попова та С.Ю. Рогозін вивчали флору суміжної з узбережжям ТЛ Чигринської балки [75–77, 87]. Було виявлено 363 види судинних рослин, проведено систематичний, біоморфологічний, екологічний, соціологічний аналіз, надана характеристика господарського значення флори балки, встановлено наявність 36 созофітів, серед яких 15 включені до ЧКУ [105] (*Adonis vernalis*, *A. wolgensis*, *Astragalus dasyanthus*, *Colchicum ancyrense*, *Crocus reticulatus*, *Eremogone cephalotes*, *Iris pontica* L. – півники понтичні, *Ornithogalum boucheanum*, *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. pennata*, *S. pulcherrima* K. Koch (ковила найкрасивіша), *S. ucrainica*), а 34 – до ЧСОО [59], 4 види – до ЄЧС [19] та 4 види – до ЧС МСОП [55]. На основі отриманих даних було рекомендовано взяти Чигринську балку під територіальну охорону шляхом включення її до РЛП «Тилігульський» (Одеська область).

У цей період значна увага приділяється інвентаризації заповідних об'єктів. У 2006 р. опубліковано «Реєстр природно-заповідного фонду Одеської облас-

ті» [78], у якому надана коротка характеристика всіх об'єктів ПЗФ області та перераховане раритетне біорізноманіття рослин і тварин. Для РЛП «Тилігульський» наводяться 22 види рослин міжнародного та державного рівня охорони, 27 – місцевого, 5 формацій, занесених до ЗКУ. Окремо охарактеризовані заказники на території РЛП та їх раритетна флора. У 2010 р. ці матеріали були передруковані без збереження вказівок на авторство матеріалів [82].

На початку третього тисячоліття приймається Закон України «Про Загальнодержавну програму формування національної екологічної мережі на 2000–2015 роки» [84]. 24 червня 2004 року був прийнятий і 1 січня 2005 року набрав чинності Закон України «Про екологічну мережу» [83]. У зв'язку з цим розробляються схеми екологічної мережі України, у яких ТЛ розглядається як ключова територія національного рівня «Тилігульська» [зокрема, 20]. У цій роботі надається досить детальна характеристика рослинного покриву узбережжя ТЛ: розглядаються засолено-лучна, псамофітно-літоральна, степова, чагарникова, лісова рослинність, наводиться перелік 83 видів рослин, у тому числі 16 раритетних видів, занесених до ЧКУ: *Astragalus dasyanthus*, *Astrodaucus littoralis*, *Colchicum ancycense*, *Crambe tataria*, *Crocus reticulatus*, *Galanthus ehwesii*, *Genista scythica*, *Gymnospermium odessanum*, *Orchis palustris* Jacq. (зозуленець болотний), *Ornithogalum boucheanum*, *Pulsatilla pratensis*, *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. ucrainica*, *Tulipa hypanica*, *T. schrenkii*. Згадуються рослинні угруповання трьох формацій, занесені до ЗКУ, а саме: *Amygdaleta nanae*, *Stipeta capillatae*, *S. lessingiana*.

Отже, з розглянутих робіт можна побачити, що флора узбережжя ТЛ як цілісного природного комплексу не вивчалася. Флора власне РЛП «Тилігульський» з боку як Миколаївської, так і Одеської областей також не розглядалася. Одеському узбережжю лиману присвячено більше робіт, ніж Миколаївському.

Найбільша кількість видів наводиться у роботі О. Ю. Бондаренко [4], але її список неповний, у ньому відсутні досить розповсюджені види, а перелік созофітів вкрай обмежений. Для відносно незначної території – околиць Коблево на пересипу лиману – об'ємний список видів наводить Г. Й. Потапенко [80]. Проведена нами робота свідчить, що для максимального виявлення флористичного багатства слід аналізувати всі доступні літературні джерела.

Кількість видів з даної території у ЧКУ від видання до видання помітно збільшувалася (4 види у 1980 р. [107], 12 – у 1996 р. [106] та 15 – у 2009 р. [105]), але все різноманіття раритетних рослин з ТЛ досі у ЧКУ не враховано.

Спеціальна увага созофітній фракції флори приділялася у роботах О. М. Попової [25, 71, 74], у яких наводиться найбільша кількість созофітів, але деякі з них пропущені. На даний час ці дані застарілі. Єдиною працею, що відповідає сучасному списку червонокнижних рослин [85], є «Екомережа степової зони України» [20]. З робіт попередніх дослідників до цього списку додаються ще 14 видів: *Adonis vernalis*, *A. wolgensis*, *Allium sphaeropodium*, *Astragalus borysthenticus*, *A. odessanus*, *Bulbocodium versicolor*, *Carex secalina*, *Eremogone*

cephalotes, *Frankenia pulverulenta*, *Palimbia salsa*, *Sternbergia colchiciflora*, *Stipa asperella*, *S. pulcherrima*, *Crambe pontica*. Цей список доповнює *Iris pontica* з суміжної території.

Отримані дані дозволяють удосконалити функціональне зонування РЛП «Тилігульський» (Одеська обл.) та обґрунтовано розробити його для РЛП «Тилігульський» (Миколаївська обл.).

Висновки

1. Флора та рослинність узбережжя Тилігульського лиману як цілісного природного комплексу досі не вивчалися. У літературних джерелах розглядалися флора, рослинність окремих ділянок, досліджувалися деякі созофіти, описані та запропоновані до охорони особливо цінні ділянки.

2. Більшість літературних джерел містить посилання на незначну кількість рослин на території досліджень. Найбільш повні роботи також не охоплюють всього різноманіття флори. Загалом, за літературними даними, для лиману, його узбережжя та прилеглої території можна ідентифікувати трохи більше 400 видів судинних рослин.

3. Перелік созофітів загальнодержавного і місцевого рівня сучасної охорони, встановлений за літературними даними, включає 57 видів, у тому числі 31 вид з Червоної книги України (за списком 2021 року).

Стаття надійшла до редакції 4.11.2023

Список використаної літератури

1. Андржейовский А. Ботанический очерк местностей, лежащих между Бугом и Днестром от р. Збручи до Черного моря. Зап. Импер. об-ва сельск. хоз-ва Юж. России. Одесса. 1855. № 2. С. 63–73. № 3. С. 93–108. № 4. С. 149–164.
2. Афанасьев Д. Я. Рослинність УРСР: Природні луки. Київ: Наукова думка, 1968. 256 с.
3. Білик Г. І. Рослинність засоленних ґрунтів України, її розвиток, використання та поліпшення. Київ: Видавництво АН УРСР, 1963. 299 с.
4. Бондаренко О. Ю. Конспект флори пониззя межиріччя Дністер-Тилігул: монографія. Київ: Фітосоціоцентр, 2009. 332 с.
5. Боплан Г. Л. Опис України, кількох провінцій Королівства Польського, що тягнуться від кордонів Московії до границь Трансільванії, разом з їхніми звичаями, способом життя і веденням воєн. Київ: Наукова думка; Кембрідж: Укр. наук. ін-т, 1990. 256 с.
6. Брадїс Є. М., Бачурина Г. Ф. Рослинність УРСР: Болота. Київ: Наукова думка, 1969. 243 с.
7. Визначник рослин України. Київ: Урожай, 1965. 887 с.
8. Визначник рослин УРСР. Київ: Державне видавництво сільськогосподарської літератури УРСР, 1950. 932 с.
9. Войтюк Б. Ю. Рослинність засоленних ґрунтів Північно-Західного Причорномор'я (сучасний стан, класифікація, напрямки трансформації, охорона). Київ: Фітосоціоцентр, 2005. 224 с.
10. Галофітна рослинність / Д. В. Дубина та ін. Київ: Фітосоціоцентр, 2007. 315 с.
11. Геоботанічне районування Української РСР. / Т. Л. Андрієнко та ін.; за редакцією А. І. Барбарича. Київ: Наукова думка, 1977. 343 с.
12. Геродот. Книга 4. *История в 9-ти книгах*. Ленинград: Наука, 1972. С. 187–239.

13. Голонасінник одеський – *Gymnospermium odessanum* (DC.) Takht.: систематика, морфологія, хорологія, екологія, філогенія, структура популяцій, інтродукція, соціологія. / О. Ф. Щербаківа, В. В. Новосад, Л. І. Крицька та ін. Київ, 2021. 185 с.
14. Гусяков Н. Е., Дятлов С. Е., Ружицкая И. П. Современное состояние и прогноз изменения распределения гимноспермиума одесского в зоне влияния водохозяйственного комплекса Дунай-Днепр. *Мат-лы науч. конф. молодых ученых Одесского гос. ун-та. Серия «Биология» (г. Одесса, 29–30 марта 1984 г.)*. Рук. деп. в УкрНИИТИ 91Ук-85Деп. С. 155–158.
15. Дідух Я. П., Шеляг-Сосонко Ю. Р. Геоботаничне районування України та суміжних територій. *Укр. ботан. журн.* 2003. Т. 60, № 1. С. 6–18.
16. Дубина Д. В., Шеляг-Сосонко Ю. Р. Плавни Причерномор'я. Київ: Наукова думка, 1989. 272 с.
17. Дятлов С. Е. Распространение безвременника анкарского в зоне влияния водохозяйственного комплекса Дунай-Днепр. *Мат-лы науч. конф. молодых ученых Одесского гос. ун-та. Сер. «Биология» (г. Одесса, 29–30 марта 1984 г.)*. Рук. деп. в УкрНИИТИ 91Ук-85Деп. С. 139–141.
18. Дятлов С. Е., Гусяков Н. Е., Ружицкая И. П. Об охране редких и исчезающих видов растений северо-западного Причерноморья. *Мат-лы науч. конф. молодых ученых Одесского гос. ун-та. Сер. «Биология» (г. Одесса, 9–30 марта 1984 г.)*. Рук. деп. в УкрНИИТИ 91Ук-85Деп. С. 144–146.
19. Европейский красный список животных и растений, находящихся под угрозой исчезновения во всемирном масштабе. Нью-Йорк: ООН, 1992. 167 с.
20. Екомережа степової зони України: принципи створення, структура, елементи / За ред. д.б.н., проф. Д. В. Дубини, д.б.н., проф. Я. І. Мовчана. Київ: LAT&K, 2013. 409 с.
21. Екофлора України / відп. ред. Я. П. Дідух. Київ: Фітосоціоцентр, 2000–2010. Т. 1–3, 5, 6.
22. Зелена книга України. Рідкісні і такі, що перебувають під загрозою зникнення, та типові рослинні угруповання, які підлягають охороні / за заг. ред. Я. П. Дідуха. Київ: Альтерпрес, 2009. 448 с.
23. Зеленая книга Украинской ССР: Редкие, исчезающие и типичные, нуждающиеся в охране растительные сообщества / под общ. ред. Ю. Р. Шеляг-Сосонко. Киев: Наукова думка, 1987. 216 с.
24. Злаки Украины / Ю. Н. Прокудин и др.; отв. ред. Ю. Р. Шеляг-Сосонко. Киев: Наукова думка, 1977. 445 с.
25. Златова С. І. Попова О. М. Раритетні судинні рослини Тилігульського регіонального ландшафтного парку. *Академік В. І. Вернадський і світ у третьому тисячолітті*. Полтава: ТОВ «АСМІ», 2003. С. 251–253.
26. Исследование флоры Северо-Западного Причерноморья. *Сб. науч. трудов кафедры ботаники ОСХИ*. Одесса, 1974–1975. Вып. 1–3.
27. Ільїнська А. П. Катран татарський. *Судинні рослини Смарагдової мережі України під охороною Бернської конвенції*. Житомир: вид-во О. О. Євенок, 2017. С. 64–65.
28. Клоков В. М., Дьяченко Т. Н., Мальцев В. И. Возможные изменения в растительности и ее продуктивности Тилигульского и Бердянского лиманов в связи со строительством водохозяйственного комплекса Дунай-Днепр. *Проблемы экологии Прибайкалья*. Тез. докл. Всесоюз. науч. конф (г. Иркутск, окт. 1982). Иркутск. 1982. С. 97–98.
29. Кожура М. Г., Шапошникова Л. А. *Galanthus elwesii* Hook. – новий вид підсніжника для півдня України. *Укр. ботан. журн.* 1969. Т. 29, № 5. С. 115–117.
30. Козицкая В. П., Дятлов С. Е., Ткаченко Ф. П. Новые местонахождения представителей рода *Ornithogalum* на территории Одесской и Николаевской областей. *Мат-лы науч. конф. молодых ученых Одесского гос. ун-та. Сер. «Биология» (г. Одесса, 22–23 сентября 1988 г.)*. Рук. деп. в УкрНИИТИ 2308Ук-89Деп. С. 229–233.
31. Коломиєць Г. В. Мережа природоохоронних територій Миколаївської області в контексті збереження фітобіоти. *Агроекол. журн.* 2004. № 3. С. 13–18.
32. Костильов О. В. Прогноз змін степової рослинності під впливом каналу Дунай – Дніпро. *Укр. ботан. журн.* 1983б. Т. 40, № 4. С. 65–70.
33. Костильов О. В. Степові ділянки Правобережного Причорномор'я, що заслуговують на охорону. *Укр. ботан. журн.* 1983а. Т. 40, № 1. С. 93–97.
34. Костылев А. В. Степная растительность правобережного Причерноморья УССР и ее изменения вследствие строительства водохозяйственного комплекса Дунай-Днепр: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.05 «Ботаника». Киев, 1982. 23 с.
35. Крицкая Л. И. Критические заметки к флоре Правобережной злаковой степи. *Актуальные вопросы современной ботаники*. Киев: Наукова думка, 1976а. С. 70–78.
36. Крицкая Л. И. Новые данные о флоре Правобережной злаковой степи. *Вопросы физиологии, биохимии, цитологии и флоры Украины*. Киев: Наукова думка, 1976б. С. 70–76.
37. Крицкая Л. И. Новые данные о флоре Правобережной злаковой степи. *Вопросы физиологии, биохимии, цитологии и флоры Украины*. Киев: Наукова думка, 1974. С. 8–11.

38. Крицкая Л. И. Новые материалы к изучению рода астрагал (*Astragalus* L.) на Украине. *Новости систематики высших и низших растений*. Киев: Наукова думка, 1978. С. 126–139.
39. Крицкая Л. И. Флора степей и известняковых обнажений Правобережной злаковой степи: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.05 «Ботаника». Киев, 1987. 17 с.
40. Крицкая Л. И., Новосад В. В. Флоросоциологические особенности степных флор региона западного Причерноморья в связи с вопросами оптимизации его природно-заповедной сети. *Вісник нац. наук.-природн. музею*. 2001. С. 147–188.
41. Крицька Л. І. Аналіз флори степів та вапнякових відслонень Правобережного злакового степу. *Укр. ботан. журн.* 1985. Т. 42, № 2. С. 1–5.
42. Крицька Л. І. Ендемізм флори степів та вапнякових відслонень Правобережного злакового степу. *Укр. ботан. журн.* 1988а. Т. 45, № 4. С. 15–19.
43. Крицька Л. І. Ендемічне ядро флори Правобережного злакового степу. *Укр. ботан. журн.* 1988б. Т. 45, № 5. С. 15–19.
44. Линдеманн Э. Очерк флоры Херсонской губернии. *Зап. Новоросс. об-ва естествоисп.* Первое приложение к т. 1. 1872а. С. 1–229 с.
45. Линдеманн Э. Список потребительнейших растений Херсонской флоры. *Зап. Новорос. об-ва естествоисп.* Второе приложение к т. 1. 1872 б. С. 1–41.
46. Матковський І. В. Ліси та лісорослині райони Одещини у зв'язку з питанням меліорації та степових культур. *Зап. Одеського наук. при УАН товариства. Секція природно-математична*. 1930. № 8. С. 29–54.
47. Мейер А. Повествовательное, землемерное и естественнословное описание Очаковской земли, содержащееся в двух донесениях. Санкт-Петербург: типография И. К. Шнора, 1794. 203 с.
48. Мельник В. И. Распространение, эколого-ценотические особенности и структура ценопопуляций *Galanthus elwesii* Hook.f. на восточном пределе ареала (Одесская обл., Украина). *Раст. ресурсы*. 1993. Вып. 3. С. 43–50.
49. Мельник В. И., Шевченко Д. Ю., Парубок М. И. Закономерности географического распространения *Adonis wolgensis* Stev. (*Ranunculaceae* Juss.) в Украине. *Інтродукція рослин*. 2007. № 4. С. 53–63.
50. Мельник В. И., Парубок М. И. Горицивіт весняний (*Adonis vernalis* L.) в Україні. Київ: Фітосоціоцентр, 2004. 163 с.
51. Мельник В. И., Шевченко Д. Ю., Гриценко В. В. Еколого-ценотичні умови місцезростають *Adonis wolgensis* Steven (*Ranunculaceae* Juss.) в Україні. *Інтродукція рослин*. 2015. № 4. С. 37–44. DOI:10.5281/zenodo.2527189
52. Мойсієнко І. І. Історія ботанічних досліджень Північного Причорномор'я. *III відкритий з'їзд фітобіологів Херсонщини (м. Херсон, 20 травня 2010 р.)*: збірник тез доповідей / відп. ред. Ф. М. Бойко. Херсон: Айлант, 2010. С. 28.
53. Мойсієнко І. І. Флора Північного Причорномор'я (структурний аналіз, синантропізація, охорона): дис... докт. біол. наук: 03.00.05 / КНУ імені Т. Шевченка, Київ, 2011. 437 с.
54. Мойсієнко І. І., Соломаха В. А., Соломаха Т. Д. *Carex secalina* Willd ex Wahlenb. (*Cyperaceae*) на Тилігульському лимані. *Укр. ботан. журн.* 2009. Т. 66. № 1. С. 35–43.
55. Мосякін С. Л. Рослини України у Світовому Червоному списку. *Укр. ботан. журн.* 1999. Т. 56, № 1. С. 79–88.
56. Мышечкий С. И. История о козаках запорожских: как они из древних лет зачались и какое происхождение имеют, и в каком состоянии ныне находятся. Москва: университетская типография (по рукописи 1740 г.), 1847. 198 с.
57. Національний атлас України / голов. ред. Л. Г. Руденко; голова ред. кол. Б. С. Патон. Київ: ДНВП «Картографія», 2007. 435 с.
58. Определитель высших растений Украины / отв. ред. Ю. Н. Прокудин. Киев: Наукова думка, 1987. 548 с.
59. Офіційні переліки регіонально рідкісних рослин адміністративних територій України (довідкове видання) / Укладачі: д.б.н., проф. Т. Л. Андрієнко, к.б.н. М. М. Перегрим. Київ: Альтерпрес, 2012. 149 с.
60. Патрушева Л. І. Щодо оптимізації природно-заповідного фонду Миколаївської області. *Культура народів Причорномор'я*. 2006. Вип. 82. С. 15–18.
61. Пачоский И. К. Дикорастущие злаки Херсонской губернии. Распространение. Экология. Таблицы для определения. Херсон: Естеств.-ист. музей Херсон. губернии. земства, 1913. 182 с.
62. Пачоский И. К. Описание растительности Херсонской губернии. Вып. 3. Плавни, пески, солончаки, сорные растения. Материалы по исследованию почв и грунтов Херсонской губернии. Херсон, 1927. 187 с.
63. Пачоский И. К. Херсонская флора. Двудольные. Познань: УАМ, 2008. Т. II. 505 с.

64. Пачоский И. К. Херсонская флора: высшие тайнобрачные, голосеменные, однодольные. Херсон, 1914. Т. I. 518 с.
65. Пачоский И. Новые данные о флоре Херсонской губернии. *Зап. Новорос. об-ва естествоисп.* 1909. Т. 34. С. 85–108.
66. Пачоский И. К. Описание растительности Херсонской губернии. Вып. 1. Леса. Херсон: Естеств.-ист. музей Херсон. губерн. земства, 1915. 203 с.
67. Перспективная сеть заповедных объектов Украины. / Ю. Р. Шеляг-Сосонко и др. Киев: Наукова думка, 1987. 292 с.
68. Погребняк И. И. Донная растительность лиманов северо-западного Причерноморья и сопредельных им акваторий Черного моря: дис... докт. биол. наук. 03.00.05. Одеса, 1965. 683 с.
69. Погребняк И. И. О микрофитобентосе Тилигульского лимана. *Науч. ежегод. ОГУ им. И. И. Мечникова.* 1960. Вып. 2. С. 5–7.
70. Погребняк И. И. Некоторые итоги изучения донной растительности лиманов Северо-Западного Причерноморья и сопредельных им акваторий Черного моря. *Биоокеанографические исследования южных морей.* Киев: Наукова думка, 1969. С. 89–107.
71. Попова Е. Н. Ботаническая ценность побережья Тилигульского лимана. *Причерноморский экологический бюллетень.* 2004. № 2–3. С. 82–91.
72. Попова Е. Н. Роль И. К. Пачоского в изучении флоры Одесской области. *Поляки на півдні України і в Криму.* Одеса – Ополе – Вроцлав: Гермес, 2007. С. 277–288.
73. Попова О. М. Судинні рослини Одеської області з Червоної книги України, Світового та Європейського Червоних списків. *Вісник ОНУ. Біологія.* 2002. Т. 7, вип. 1. С. 278–290.
74. Попова О. М. Фітосозологічна оцінка Тилигульського регіонального ландшафтного парку (Одеська область). *Роль природно-заповідних територій у підтриманні біорізноманіття.* Канів: Канівський природний заповідник, 2003. С. 135–137.
75. Попова О. М., Рогозін С. Ю. Аналіз созофітної фракції флори Чигринської балки (Одеська область, Україна). *Вісник ОНУ. Біологія.* 2016б. Т. 21, вип. 2(39). С. 49–60. DOI: [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2\(39\).81201](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2(39).81201)
76. Попова О. М., Рогозін С. Ю. Нове місцезнаходження рідкісного виду *Iris pontica* (Iridaceae) на Причерноморській низовині та стан його популяції. *Укр. ботан. журн.* 2015. Т. 72, № 5. С. 439–444. DOI: [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2\(39\).81201](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2(39).81201)
77. Попова О. М., Рогозін С. Ю. Созофіти Чигринської балки (Одеська область, Україна). *Рідкісні рослини і гриби України та прилеглих територій: реалізація природоохоронних стратегій: мат-ли IV міжнар. конф. (м. Київ, 16–20 травня 2016 р.).* Київ: Паливода А. В., 2016а. С. 125–127.
78. Попова О. М., Ужеська С. П., Юрченко Ю. Ю. Реєстр природно-заповідного фонду Одеської області. Одеса: Південний науковий центр НАНУ, 2006. 112 с.
79. Потапенко Г. И. Использование солонцеватых земель причерноморского побережья для сельскохозяйственных целей. *Вісті Одеського сільськогосподарського університету.* 1925–1926. Вип. 1. С. 111–124.
80. Потапенко Г. И. Растительность северо-западного побережья Черного моря: почвы, флора, растительность и пути растениеводческого освоения Причерноморских пересыпей: дис... докт. биол. наук. 03.00.05. Одесса, 1943. 612 с.
81. Потапенко Г. Тилигульская пересыпь (почвенно-ботанический очерк). *Зап. Одес. ин-та народ. освіти.* 1929. № 1. С. 195–209.
82. Природно-заповідна спадщина Одещини. / Відп. ред. Л. Харіна. Одеса: Печатний дом, 2010. 160 с.
83. Про екологічну мережу: Закон України від 24.06.2004 № 1864-IV. Дата оновлення: 13.12.2022. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1864-15#Text> (дата звернення: 28.10.2023).
84. Про Загальнодержавну програму формування національної екологічної мережі на 2000–2015 роки: Закон України від 21.09.2000. № 1989-III. Дата оновлення: 17.05.2012. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1989-14#Text> (дата звернення: 28.10.2023).
85. Про затвердження переліків видів рослин та грибів, що заносяться до Червоної книги України (рослинний світ), та видів рослин та грибів, що виключені з Червоної книги України (рослинний світ): наказ Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів від 15.02.2021 р. № 111. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0370-21#Text> (дата звернення 28.10.2023).
86. Протопопова В. В. Адвентивні рослини Лісостепу і Степу України. Київ: Наукова думка, 1973. 192 с.
87. Рогозін С. Ю., Попова О. М. Шляхи збереження степової флори Чигринської балки (Одеська область). *Наукові основи збереження біотичної різноманітності: мат-ли II (XIII) Міжнар. наук. конф. молодих вчених (м. Львів, 11–13 жовтня 2017 р.) / Інститут екології Карпат.* Львів: Простір М, 2017. С. 56–58.
88. Рослинність УРСР: Ліси. / Відп. ред. Є. М. Брадїс. Київ: Наукова думка, 1971. 460 с.

89. Рослинність УРСР: Степи, кам'яністі відслонення, піски / За ред. А. І. Барбарича. Київ: Наукова думка, 1973. 428 с.
90. Смарагдова мережа в Україні / Ред. Проценко Л. Д. Київ: Хімджест, 2011. 192 с.
91. Соломаха І. В., Воробйов Є. О., Мойсієнко І. І. Рослинний покрив лісів та чагарників Північного Причорномор'я. Київ: Фітосоціоцентр, 2015. 387 с.
92. Срединский Н. К. Материалы для флоры Новороссийского края и Бессарабии. *Зап. Новоросс. об-ва естествоисп.* 1872. Т. 1. С. 73–138. 1873. Т. 2. С. 17–131.
93. Танфильев В. Г. Пойма реки Тилигула и её растительность. *Зап. Одес. об-ва естествоисп.* 1929. С. 90–117.
94. Ткаченко В. С. Интразональна рослинність на степових схилах Північно-Західного Причорномор'я. *Укр. ботан. журн.* 1982. Т. 39, № 6. С. 42–46.
95. Ткаченко В. С., Артюшенко О. С. Ретроспекція та прогноз змін степів півдня України під впливом іригації. *Укр. ботан. журн.* 1984. Т. 41, № 4. С. 1–5.
96. Ткаченко В. С., Костылев А. В. Фитоэкологические аспекты гидромелиорации Северо-Западного Причерноморья. Киев: Наукова думка, 1985. 196 с.
97. Ткаченко Ф. П., Ковтун О. О. Макрофіти Тилігульського лиману Чорного моря. *Укр. ботан. журн.* 2002. № 59, № 2. С. 184–191.
98. Тучковенко О. А., Тучковенко Ю. С. Оцінка змін характеристик гідроекологічного режиму Тилігульського лиману під дією кліматичних чинників. *Водні біоресурси та аквакультура*. 2021. Т. 10, № 2. С. 176–186. DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2021.2.15>
99. Тысячелистники / К. М. Сытник и др.; под общ. ред. К. М. Сытника. Киев: Наукова думка, 1984. 272 с.
100. Флора Европейской части СССР / под ред. А. А. Федорова и Н. Н. Цвелева. Ленинград: «Наука», 1974–1994. Т. 1–7.
101. Флора УРСР. Київ: вид-во АН УРСР. 1936–1965. Т. 1–12.
102. Флористические исследования в северо-западном Причерноморье. Сб. науч. трудов. Одесса: ОСХИ, 1982. Вып. 4. 45 с.
103. Хорология флоры Украины. / А. И. Барбарыч и др. Киев: Наукова думка, 1986. 272 с.
104. Хрусталева И. П. Исчисление растений лекарственных, масляных, красильных и вообще торговых, находящихся в диком состоянии в Херсонской губернии. *Зап. об-ва сельского хоз-ва Юж. России*. 1847. Вып. 4.
105. Червона книга України. Рослинний світ / Відп. ред. Я. П. Дідух. Київ: Глобалконсалтинг, 2009. 912 с.
106. Червона книга України. Рослинний світ / Ред. Ю. Р. Шеляг-Сосонко. Київ: Наукова думка, 1996. 608 с.
107. Червона книга Української РСР / Відп. ред. В. І. Чопик, Київ: Наукова думка, 1980. 404 с.
108. Шеляг-Сосонко Ю. Р., Костильов О. В. Степова рослинність схилів Тилігульського лиману. *Укр. ботан. журн.* 1981. Т. 38, № 4. С. 10–13.
109. Шестериков П. С. Материалы для флоры юго-западной части Одесского уезда Херсонской губернии. Одесса: типография А. Шульце, 1894. 136 с.
110. Шестериков П. С. Новые дополнительные данные для флоры Одесского уезда. *Зап. Новороссийского об-ва естествоисп.* 1909. Т. 33. С. 1–136.
111. Шестериков П. С. Определитель растений окрестностей Одессы. Одесса: комм. тип. Б. Сапожникова, 1912. 539 с.
112. Шестериков П. С. Список явнотрачных растений окрестностей Одессы. *Отч. и труд. Одесск. отдела Импер. Росийск. общ. садоводства*. 1887. С. 1–80.
113. Шестериков П. С. Флора окрестностей Одессы. Вып. 1. Одесса: лито-типография А. Шульце, 1903. 385 с.
114. Шмальгаузен И. Ф. Флора Средней и Южной России, Крыма и Северного Кавказа. Киев: тип. т-ва печ. дела и торг. И. Н. Кушнерев и Ко в Москве, Киевск. отд-ние, Т. I. 1895. 468 с.; Т. II. 1897. 752 с.
115. Шмальгаузен И. Ф. Флора Юго-Западной России. Киев: тип. С. В. Кульженко, 1886. 783 с.
116. Щербакова О. Ф., Новосад В. В. Хорологічні, еколого-ценотичні та соціологічні особливості *Gutnospermatium odessanum* (DC.) Takht. *Рослинний світ у Червоній книзі України: впровадження Глобальної стратегії збереження рослин: матеріали V Міжнародної конференції (м. Херсон, 25–28 червня 2018 р.)*. Херсон: книжкове вид-во ФОП Вишемирський В. С., 2018. С. 98–102.
117. *Bulbocodium versicolor* (Melanthiaceae) – редкий вид флоры Европы (географическое распространение, условия местообитаний и структура популяций). / В. И. Мельник, В. В. Гриценко, Д. Ю. Шевченко, С. Я. Диденко. Киев: Фитосоциоцентр, 2007. 44 с.
118. *Tulipa gesneriana* L. (Liliaceae) в Україні / М. М. Перегрим, І. І. Мойсієнко, Ю. С. Перегрим, В. О. Мельник. Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2009. 135 с.

119. 1997 IUCN Red List of Threatened Plants / Edrs. Walter K. S., Gilett H. G. Gland (Switzerland) and Cambridge (UK), 1998. 862 p.
120. Brunner S. Ausflug über Konstantinopel nach Taurien in Sommer. St. Gallen und Bern, 1833. 394 s.
121. D'Urville D. Enumeratio plantarum quas in insulis Archipelagi aut littoribus Ponti Euxini, annis 1819–1820. Parisiis, 1822. 135 p.
122. Démidoff, A. de. Voyage dans la Russie méridionale et la Crimée, par la Hongrie, la Valachie et la Moldavie. Paris, 1842. 621 p.
123. Ledebour K. F. Flora Rossica sive Enumeratio plantarum intotius Imperii Rossici provinciis Europaeis, Asiaticis et Americanis husque observatorum. Stuttgartiae: Schweizerbart, 1842–1853. Vol. I–IV.
124. Lindemann E. Flora Chersonensis. Odessa, 1889. Vol. 1. 393 p. 1892. Vol. 2. 371 p.
125. Pallas P. S. Flora Rossica. Petropoli: Typographia Imperiali J. J. Weitbrecht, 1784. T. I. Pars 1. 142 p. 1788. Pars 2. 165 p.
126. Rehmann A. Einige Notizen über die Vegetation der Nördlichen Gestade des Schwarzen meeres. Verhandlugen des naturforschenden Vereines in Brunn. 1872. Bd. 10. 88 p.

О. М. Попова, С. Ю. Рогозін

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра ботаніки, фізіології рослин і садово-паркового господарства, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: olena-popova@ukr.net

ІСТОРІЯ БОТАНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ РАЙОНУ ТИЛІГУЛЬСЬКОГО ЛИМАНУ

Резюме

Вступ. На узбережжі Тилігульського лиману створено два регіональних ландшафтних парки та 5 заказників. Пропонується організація єдиного національного природного парку. Цей лиман – об'єкт Смарагдової мережі Європи. Але на даний час рослинний світ території вивчений недостатньо. Немає цілісного уявлення про найбільш цінну фракцію флори – созофітну. Для більш повного розуміння стану флори території та її природоохоронної цінності необхідно розглянути результати попередніх ботанічних досліджень.

Мета роботи – ретроспективний аналіз досліджень рослинного світу Тилігульського лиману, його узбережжя та прилеглих ділянок.

Методика. Використано класичний метод аналізу літературних джерел.

Основні результати. Загалом дані про флору та рослинність району Тилігульського лиману виявлено у 122 літературних джерелах, які являють собою як спеціальні роботи, з вказівкою видів рослин та локалітетів, так і більш загальні праці, в яких досліджуються більш обширні території, але з охопленням і району Тилігульського лиману. Історію досліджень території поділено на 4 етапи. В античний етап спеціальних ботанічних робіт району не проводилося, праці цього періоду носять загальний характер та описують великі території, куди входить і район Тилігульського лиману. Більш конкретні дослідження розпочинаються в XVIII ст. при настанні російсько-імперського етапу. Перші вказівки на конкретні види рослин на території, що досліджується, належать А. К. Мейєру та датуються 1794 р. За кількістю праць та видів рослин, що приводяться в них, в цей період особливої уваги заслуговують роботи П. С. Ше-

стерикова та Й.К. Пачоського. В радянський етап відзначилися такі вчені, як В.Г. Танфільєв, Г.Й. Потапенко, І.І. Погребняк, Л.І. Крицька, В.С. Ткаченко, О.В. Костильов. Ю.Р. Шеляг-Сосонко та О.В. Костильов ретельно дослідили рослинність схилів Тилігульського лиману. В український етап найбільший внесок у вивчення рослинного світу території внесли Б.Ю. Войтюк (вивчав галофільну рослинність регіону), Л.І. Крицька та В.В. Новосад, О.Ю. Бондаренко (найбільша кількість вказаних видів – 408) та О.М. Попова, в працях якої значну увагу приділено созофітам території і яка наводить їх найбільший перелік. Загалом, за літературними даними, для лиману, його узбережжя та прилеглої території можна ідентифікувати трохи більше 400 видів судинних рослин. Перелік созофітів загальнодержавного і місцевого рівня, встановлений за літературними даними, включає 57 видів, у тому числі 31 вид з Червоної книги України (за списком 2021 року).

Ключові слова: Тилігульський лиман; природно-заповідний фонд; регіональний ландшафтний парк; РЛП «Тилігульський»; созофіти; Червона книга України; історія ботанічних досліджень

O. M. Popova, S. Y. Rohozin

I. I. Mechnikov Odesa National University Department of Botany, Plant Physiology and Park Management, Odesa, Dvoryanska Street, 2, 65082, Ukraine
e-mail: olena-popova@ukr.net

HISTORY OF BOTANICAL RESEARCH IN THE TILIGUL ESTUARY REGION

Summary

Introduction. Two regional landscape parks and 5 reserves have been established on the shores of the Tiligulsky Lagoon. The proposal is to organize a single national natural park in this area. This lagoon is part of the Emerald Network of Europe. However, the flora of the area is currently insufficiently studied, and there is no comprehensive understanding of the most valuable fraction of the flora, the halophytes. To gain a more complete understanding of the state of the territory's flora and its environmental value, it is necessary to review the results of previous botanical research.

Objective. The purpose of this work is a retrospective analysis of research on the plant world of the Tiligulsky Lagoon, its shores and adjacent areas.

Methodology. The classical method of analyzing literary sources was used.

Main results. In total, data on the flora and vegetation of the Tiligulsky Lagoon region were found in 122 literary sources, which include both specialized works with information on plant species and locations and more general studies covering larger territories, including the Tiligulsky Lagoon area. The history of research on the territory is divided into 4 stages. In the ancient stage, no specific botanical work was conducted in the region, and the works of this period are of a general nature, describing extensive territories that include the Tiligulsky Lagoon area. More specific research began in the 18th century during the Russian imperial period.

The first references to specific plant species in the studied territory belong to A. K. Meyer and date back to 1794. Works by P. S. Shesterikov and Y. K. Pachosky are particularly noteworthy in this period for the number of publications and plant species they mention. During the Soviet period, scientists such as V. G. Tanfiliev, G. Y. Potapenko, I. I. Pogrebnyak, L. I. Kritska, V. S. Tkachenko, O. V. Kostilyov, Y. R. Shelyag-Sosonko, and O. V. Kostilyov extensively studied the vegetation of the slopes of the Tiligulsky Lagoon. In the Ukrainian stage, the most significant contributions to the study of the area's plant world were made by B. Y. Voiytiuk (who studied the halophytic vegetation of the region), L. I. Kritska and V. V. Novosad, O. Y. Bondarenko (with the largest number of listed species – 408), and O. M. Popova, who focused on halophytes of the territory and listed the most extensive variety. Overall, according to literary data, more than 400 species of vascular plants can be identified for the lagoon, its shores, and the adjacent area. The list of halophytes at the national and local levels, established based on literary data, includes 57 species, including 31 species from the Red Book of Ukraine (according to the 2021 list).

Key words: Tiligulsky estuary; Natural reserve fund; regional landscape park; RLP «Tilygulsky»; sozofits; Red Data Book of Ukraine; history of botanical research

References

1. Andrzeiovskii, A. (1855). Botanicheskii ocherk mestnostei, lezhashchikh mezhdru Bugom i Dnestrom ot r. Zbruchi do Chernogo morya [Botanical essay of the areas lying between the Bug and the Dniester from the river Zbruchi to the Black Sea]. Zapysky ymperatorskoho obshchestva selskoho khoziaistva Yuzhnoi Rossyy, 2, 63–73, 3, 93–108, 4, 149–164 [in Russian].
2. Afanasev, D. Ya. (1968). *Roslynnist URSSR: Pryrodni luky* [Vegetation of the Ukrainian SSR. Natural meadows]. Naukova dumka [in Ukrainian].
3. Bilyk, H. I. (1963). *Roslynnist zasolenykh gruntiv Ukrainy, yii rozvytok, vykorystannia ta polipshennia* [Vegetation of saline soils of Ukraine, its development, use and improvement]. Vydavnytstvo AN URSSR [in Ukrainian].
4. Bondarenko, O. Yu. (2009). *Konspekt flory ponyzzia mezhyrichchia Dnister-Tylihul: monohrafiia* [Synopsis of the flora of the lower interfluvies of the Dniester – Tiligul]. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
5. Boplan, H. L. (1990). *Opys Ukrainy, kilkokh provintsii Korolivstva Polskoho, shcho tiahnutsia vid kordoniv Moskovii do hranyts Transilvanii, razom z yikhnimy zvychaiamy, sposobom zhyttia i vedenniam voien* [Description of Ukraine, some provinces of the Kingdom of Poland from the borders of Muscovy to the borders of Transylvania, along with their customs, way of life and warfare]. Naukova dumka; Kembridzh [in Ukrainian].
6. Bradis, Ye. M., & Bachuryna, H. F. (1969). *Roslynnist URSSR: Bolota* [Vegetation of the Ukrainian SSR. Swamps]. Naukova dumka [in Ukrainian].
7. Zerov, D. K. (Ed.). (1965). *Vyznachnyk roslyn Ukrainy* [Manual of the plants of Ukraine]. Urozhai [in Ukrainian].
8. Klovov M. V. (Ed.). (1950). *Vyznachnyk roslyn URSSR* [Manual of the plants of USSR]. Derzhavne vydavnytstvo silskohospodarskoi literatury URSSR [in Ukrainian].
9. Voiytiuk, B. Yu. (2005). *Roslynnist zasolenykh gruntiv Pivnichno-Zakhidnoho Prychornomia (suchasnyi stan, klasyfikatsiia, napriamky transformatsii, okhorona)* [Vegetation of saline soils of the Northwestern Black Sea Region (current state, classification, directions of transformation, protection)]. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
10. Dubyna, D. V., Dziuba, N. P., Neuhäuslová, Z., Solomakha, B. A., Tyshchenko, O. V., & Shelyag-Sosonko, Yu. R. (2007). *Halofitna roslynnist* [Halophytic vegetation]. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
11. Barbarych, A. I. [Ed.]. (1977). *Heobotanichne raionuvannia Ukrainskoi RSR* [Geobotanical zoning of the Ukrainian SSR]. Naukova dumka [in Ukrainian].
12. Gerodot (1972). *Kniga 4. Istoriya v 9-ti knigakh* [History in nine books]. Nauka, P. 187–239 [in Russian].
13. Shcherbakova, O. F., Novosad, V. V., Krytska, L. I., Lytvynenko, O. I., & Melnyk, V. I. (2021). *Holonasynnyk odeskyi – Gymnospermium odessanum (DC.) Takht.: systematyka, morfolohiia, khorolohiia, ekotopolohiia, filoheniia, struktura populiatsii, introduktsiia, sozoloheia* [Gymnospermium odessanum (DC.) Takht.:

- systematics, morphology, chorology, ecotopology, population biology, introduction, zoology]. National Museum of Natural History of NAS of Ukraine [in Ukrainian].
14. Guslyakov, N. Ye., Dyatlov, S. Ye., & Ruzhitskaya, I. P. (1985). Sovremenoe sostoyanie i prognoz izmeneniya raspredeleniya gimnospermiya odesskogo v zone vliyaniya vodokhozyaistvennogo kompleksa Dunai-Dnepr [Current state and forecast of changes in the distribution of Odessa Gymnospermium in the zone of influence of the Danube-Dnieper water management complex]. *Mat-li nauch. konf. molodikh uchenikh Odesskogo gos. un-ta. Seriya «Biologiya»* (g. Odessa, 29–30 marta 1984 g.). Ruk. dep. v UkrNIINTI 91Uk-85Dep., 155–158 [in Russian].
 15. Didukh, Ya. P., & Sheliag-Sosonko, Yu. R. (2003). Heobotanichne raionuvannia Ukrainy ta sumizhnykh terytorii [Geobotanical zoning of Ukraine and adjusting territories]. *Ukrainian Botanical Journal*, 60(1), 6–18 [in Ukrainian].
 16. Dubina, D. V., & Shelyag-Sosonko, Yu. R. (1989). *Plavni Prichernomor'ya [Plavni of the Black Sea Region]*. Naukova dumka [in Russian].
 17. Dyatlov, S. Ye. (1985). Rasprostranenie bezvremennika ankarskogo v zone vliyaniya vodokhozyaistvennogo kompleksa Dunai-Dnepr [Distribution of Colchicum ancyrense in the zone of influence of the Danube-Dnieper water management complex]. *Mat-li nauch. konf. molodikh uchenikh Odesskogo gos. un-ta. Ser. «Biologiya»* (g. Odessa, 29–30 marta 1984 g.). Ruk. dep. v UkrNIINTI 91Uk-85Dep., 139–141 [in Russian].
 18. Dyatlov, S. Ye., Guslyakov, N. Ye., & Ruzhitskaya, I. P. (1985). Ob okhrane redkikh i ischezayushchikh vidov rastenii severo-zapadnogo Prichernomor'ya [On the protection of rare and endangered plant species in the Northwestern Black Sea Region]. *Mat-li nauch. konf. molodikh uchenikh Odesskogo gos. un-ta. Ser. «Biologiya»* (g. Odessa, 9–30 marta 1984 g.). Ruk. dep. v UkrNIINTI 91Uk-85Dep., 144–146 [in Russian].
 19. ECE (1992). *Evropeiskii krasnii spisok zhyvotnikh i rastenii, nakhodyashchikhsya pod ugrozoi ischeznoventiya vo vseмирnom masshtabe [European Red List of Globally Threatened Animals and Plants]*. OON [in Russian].
 20. Dubyna D. V., & Movchan Ya. I. (Eds.). (2013). *Ekomezha stepovoi zony Ukrainy: pryntsyipy stvorennia, struktura, elementy [Econet of the steppe zone of Ukraine: principles of formation, structure and elements]*. LAT&K [in Ukrainian].
 21. Didukh Ya. P. (Ed.) (2000–2010). *Ekoflora Ukrainy [Ecoflora of Ukraine]*, Vol. 1–3, 5, 6. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
 22. Didukh Ya. P. (Ed.) (2009). *Zelena knyha Ukrainy. Ridkisi i taki, shcho perebuvaiut pid zahrozoiu znyknennia, ta typovi roslynni uhrupovannia, yaki pidliahaiut okhoroni [Green Book of Ukraine. Rare, endangered and typical plant communities subject to protection]*. Alterpres [in Ukrainian].
 23. Shelyag-Sosonko Yu. R. (Ed.) (1987). *Zelenaya kniga Ukrainskoi SSR: Redkie, ischezayushchie i tipichnie, nuzhdayushchiesya v okhrane rastitelnie soobshchestva [Green Book of the Ukrainian SSR: Rare, endangered and typical plant communities in need of protection]*. Naukova dumka [in Russian].
 24. Prokudin, Yu. N., Vovk, A. G., Petrova, O. A., Yermolenko, Ye., D., & Vernichenko Yu. V. (1977). *Zlaki Ukrainy [Grasses of Ukraine]*. Naukova dumka [in Russian].
 25. Zlatova, Ye. I., & Popova, O. M. (2003). Raryetni sudynni roslyny Tylihul'skoho rehionalnogo landshaftnogo parku [Rare vascular plants of the Tiligul regional landscape park]. *Akademik V.I. Vernadskiy i svit u tretomu tysiacholitti*. Poltava: TOV «ASMI», 251–253 [in Ukrainian].
 26. Tikhomirov, F. K. (Ed.). (1974–1975). *Issledovanie flori Severo-Zapadnogo Prichernomor'ya [Study of the flora of the Northwestern Black Sea Region]*, 1–3. OSKhI [in Russian].
 27. Ilinska, A. P. (2017). Katran tatarskyi [Crambe tatarica]. *Sudynni roslyny Smaragdovoi merezhi Ukrainy pid okhoronoiu Bernskoi konventsii*. Zhytomyr: vyd-vo O. O. Yevenok, 64–65 [in Ukrainian].
 28. Klovov, V. M., Dyachenko, T. N., & Maltsev, V. I. (1982). Vozmozhnie izmeneniya v rastitelnosti i yee produktivnosti Tiligul'skogo i Berdyanskogo limanov v svyazi so stroitelstvom vodokhozyaistvennogo kompleksa Dunai-Dnepr [Possible changes in vegetation and its productivity of the Tiligul and Berdyansk estuaries in connection with the construction of the Danube-Dnieper water management complex]. *Problemi ekologii Pribaikalya*. Tez. dokl. Vsesoyuz. nauch. konf (g. Irkutsk, okt. 1982). Irkutsk, 97–98 [in Russian].
 29. Kozhura, M. H. & Shaposhnykova, L. A. (1969). *Galanthus elwesii* – novyi vyd pidsnizhnyka v Ukraini [Galanthus elwesii Hook. – a new species Galanthus L. for the South of the Ukraine]. *Ukrainian Botanical Journal*, 29(5), 115–117 [in Russian].
 30. Kozitskaya, V. P., Dyatlov, S. Ye., & Tkachenko F. P. (1989). Novie mestonakhozhdeniya predstavitelei roda Ornithogalum na territorii Odesskoi i Nikolaevskoi oblasti [New locations of representatives of the genus Ornithogalum in the Odessa and Nikolaev regions]. *Mat-li nauch. konf. molodikh uchenikh Odesskogo gos. un-ta. Ser. «Biologiya»* (g. Odessa, 22–23 sentyabrya 1988 g.). Ruk. dep. v UkrNIINTI 2308Uk-89Dep., 229–233 [in Russian].

31. Kolomyiets, H. V. (2004). Merezha pryrodookhoronnykh terytorii Mykolaivskoi oblasti v konteksti zberzhennia fitiobioty [Network of protected territories of the Nikolaev region in the context of phytobiota conservation]. *Agroekological Journal*, 3, 13–18 [in Ukrainian].
32. Kostylov, O. V. (1983b). Prohnoz zmin stepovoi roslynnosti pid vplyvom kanalu Dunai – Dnipro [Prediction of Steppe Plant Changes Caused by the Danube-Dnieper Canal]. *Ukrainian Botanical Journal*, 40(4), 65–70 [in Ukrainian].
33. Kostylov, O. V. (1983a). Stepovi dilianky Pravoberezhnogo Prychornomoria, shcho zasluhovuiut na okhoronu [Steppe Sites of the Right-Bank Black Sea Area Worthy to Be protected]. *Ukrainian Botanical Journal*, 40(1), 93–97 [in Ukrainian].
34. Kostilev, A. V. (1982). *Stepnaya rastitelnost pravoberezhnogo Prichernomorya USSR i yee izmeneniya v sledstvii stroitelstva vodokhozyaistvennogo kompleksa Dunai-Dnestr* [Steppe vegetation of the right bank Black Sea Region of the Ukrainian SSR and its changes as a result of the construction of the Danube-Dnieper water] (avtoref. dis... kand. biol. nauk [Candidate's dissertation abstract in biological sciences], 23 p.), Kyiv [in Russian].
35. Kritskaya, L. I. (1976a). Kriticheskie zametki k flore pravoberezhnoi zlakovoi stepi [Critical notes on the flora of the Right Bank Grass Steppe.]. *Aktualnie voprosi sovremennoi botaniki*. Naukova dumka, 70–78 [in Russian].
36. Kritskaya, L. I. (1976b). Novie dannie o flore Pravoberezhnoi zlakovoi stepi [New data on the flora of the Right Bank Grass Steppe]. *Voprosi fiziologii, biokhimi, tsitologii i flori Ukraini*. Naukova dumka, 70–76 [in Russian].
37. Kritskaya, L. I. (1974). Novie dannie o flore Pravoberezhnoi zlakovoi stepi [New data on the flora of the Right Bank Grass Steppe]. *Voprosi fiziologii, biokhimi, tsitologii i flori Ukraini*. Naukova dumka, 8–11 [in Russian].
38. Kritskaya, L. I. (1978). Novie materialy k izucheniyu roda astragal (*Astragalus* L.) na Ukraine [New materials for the study of the genus *Astragalus* L. in Ukraine.]. *Novosti sistematiki visshikh i nizshikh rastenii*. Naukova dumka, 126–139 [in Russian].
39. Kritskaya, L. I. (1987). *Flora stepi i izvestnyakovikh obnazhenii Pravoberezhnoi zlakovoi stepi* [Flora of steppes and limestone outcrops of the Right Bank Grass Steppe] (avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [Candidate's dissertation abstract in biological sciences], 17 p.), Kyiv [in Russian].
40. Kritskaya, L. I., & Novosad, V. V. (2001). Florozozologicheskie osobennosti stepnikh flor regiona zapadnogo Prichernomorya v svyazi s voprosami optimizatsii yego prirodno-zapovednoi seti [Florozozological features of the steppe floras of the western Black Sea Region in connection with the optimization of its natural reserve network]. *Proceedings of the National Natural History Museum of Ukraine*, 147–188 [in Russian].
41. Krytska, L. I. (1985). Analiz flory stepiv ta vapniakovykh vidslonen Pravoberezhnogo zlakovoho stepu [Analysis of flora from steppes and limestone outcrops of the Right-Bank Grass Steppe]. *Ukrainian Botanical Journal*, 42(2), 1–5 [in Ukrainian].
42. Krytska, L. I. (1988a). Endemizm flory stepiv ta vapniakovykh vidslonen Pravoberezhnogo zlakovoho stepu [Endemism of steppes and limestone outcrops flora of the Right-Bank Grass Steppe]. *Ukrainian Botanical Journal*, 45(4), 15–19 [in Ukrainian].
43. Krytska, L. I. (1988b). Endemichne yadro flory Pravoberezhnogo zlakovoho stepu [Endemic nucleus of the Right-Bank Grass Steppe flora]. *Ukrainian Botanical Journal*, 45(5), 15–19 [in Ukrainian].
44. Lindemann, E. (1872a). Ocherk flori Khersonskoi gubernii [Essay on the flora of the Kherson province]. *Zapiski Novorossiiskogo obshchestva yestestvoispitatelei, pervoe prilozhenie k t. 1*, 1–229 [in Russian].
45. Lindemann, E. (1872). Spisok potrebitelneishikh rastenii Khersonskoi flori [List of the most consumer plants of the Kherson flora]. *Zapiski Novorossiiskogo obshchestva yestestvoispitatelei, vtoroe prilozhenie k t. 1*, 1–49 [in Russian].
46. Matkovskiy, I. V. (1930). Lisy ta lisoroslynni raiony Odeshchyny u zviazku z pytanniam melioratsii ta stepovykh kultur [Forests and forest growing areas of Odessa region in connection with the issue of land reclamation and steppe crops]. *Zapysky Odeskoho naukovo pry UAN tovarystva. Sektsiia pryrodno-matematychna*, 8, 29–54 [in Ukrainian].
47. Meier, A. (1974). *Povestvovatelnoe, zemlemernoie i yestestvennoslovnnoe opisanie Ochakovskoi zemli, sodержashcheesya v dvukh doneseniyakh* [Narrative, land surveying and natural description of the Ochakovo land, contained in two reports]. Tipografiya I. K. Shnora [in Russian].
48. Melnik, V. I. (1993). Rasprostraneniye, ekologo-tsenoticheskie osobennosti i struktura tsenopopulyatsii *Galanthus elwesii* Hook na vostochnom predele areala (Odesskaya obl., Ukraina) [Distribution, ecological-coenotic features and structure of coenopopulations of *Galanthus elwesii* Hook at the eastern limit of its area (Odessa region, Ukraine)]. *Plant resources*, 3, 43–50 [in Russian].
49. Melnik, V. I., Shevchenko, D. Yu. & Parubok M. I. (2007). Zakonomernosti geograficheskogo rasprostraneniya *Adonis wolgensis* Stev. (*Ranunculaceae* Juss.) v Ukraine [Regularity of geographical distribution of *Adonis wolgensis* Stev. (*Ranunculaceae* Juss.) in Ukraine]. *Plant Introduction*, 4, 53–63 [in Russian].

50. Melnyk, V. I. & Parubok, M. I. (2004). *Horytsvit vesnianyi (Adonis vernalis L.) v Ukraini* [*Adonis vernalis L. in Ukraine*]. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
51. Melnyk, V. I., Shevchenko, D. Yu. & Hrytsenko, V. V. (2015). Ekolocho-tsenotychni umovy mistsezrostan *Adonis wolgensis* Steven (*Ranunculaceae* Juss.) v Ukraini [Ecological and coenotical conditions of habitats of *Adonis wolgensis* Steven (*Ranunculaceae* Juss.) in Ukraine]. *Plant Introduction*, 4, 37–44 [in Ukrainian]. DOI:10.5281/zenodo.2527189
52. Moisiienko, I. I. (2010). Istoriia botanichnykh doslidzhen Pivnichnoho Prychornomoria [History of botanical research of the Northern Black Sea Region]. *III vidkrytyi zizd ftobiologiv Khersonshchyny (m. Kherson, 20 travnia 2010 r.): zbirnyk tez dopovidei / vidp. red. F.M. Boiko*. Kherson: Ailant, 28 [in Ukrainian].
53. Moisiienko, I. I. (2011). *Flora Pivnichnoho Prychornomoria (strukturnyi analiz, synantropizatsiia, okhorona)* [*Flora of the Northern Black Sea Region (structural analysis, synanthropization, protection)*] (Dis... doct. biol. nauk [Doctor's thesis in biological sciences], 437 p.), Kyiv [in Ukrainian].
54. Moisiienko, I. I., Solomakha, V. A., & Solomakha, T. D. (2009). *Carex secalina* Willd ex Wahlenb. (*Cyperaceae*) na Tylihulskomiu lymani [*Carex secalina* Willd ex Wahlenb. (*Cyperaceae*) in the Tiligul Estuary]. *Ukrainian Botanical Journal*, 66(1), 35–43 [in Ukrainian].
55. Mosiakin, S. L. (1999). Roslyny Ukrainy u Svitovomu Chervonomu spysku [Plants of Ukraine in the 1997 IUCN Red List of Threatened Plants]. *Ukrainian Botanical Journal*, 56(1), 79–88 [in Ukrainian].
56. Mishetskii, S. I. (1847). *Istoriya o kozakakh zaporozhskikh: kak oni iz drevnikh let zachalis, i kakoe proiskhozhdenie imeyut, i v kakom sostoyanii nune nakhodyatsya* [The story of the Zaporozhye Cossacks: how they were conceived from ancient times, and what origin they have, and in what condition they are now]. Moskva: universitetskaja tipografija (po rukopisi 1740 g.) [in Russian].
57. Rudenko L. H. (Ed.). (2007). *Natsionalnyi atlas Ukrainy* [*National atlas of Ukraine*]. DNVP «Kartografija» [in Ukrainian].
58. Prokudin Yu. N. (Ed.). (1987). *Opredelitel visshikh rastenii Ukraini* [*Manual of the higher plants of Ukraine*]. Naukova dumka [in Russian].
59. Andrienko T. L., & Perehrym M. M. ([Eds.]). (2012). *Ofitsiini pereliky rehionalno ridkisnykh roslin administratyvnykh terytorii Ukrainy (dovidkove vydannia)* [*Official lists of regional rare plants of administrative territories of Ukraine (reference book)*]. Alterpress [in Ukrainian].
60. Patrusheva, L. I. (2006). Shchodo optymizatsii pryrodno-zapovidnoho fondu Mykolaivskoi oblasti [To optimize the natural reserve fund of the Mykolayiv region]. *Kultura narodov Prychornomoria*, 82, 15–18 [in Ukrainian].
61. Pachoskii, I. K. (1913). *Dikorastushchie zlaki Khersonskoi gubernii. Rasprostranenie. Ekologiya. Tablitsi dlya opredeleniya* [*Wild Grasses of the Kherson province. Distribution. Ecology. Tables for definition*]. Yestestv.-ist. muzei Kherson. gubern. zemstva [in Russian].
62. Pachoskii, I. K. (1927). *Opisanie rastitelnosti Khersonskoi gubernii. Vip. 3. Plavni, peski, solonchaki, sornie rasteniya. Materiali po issledovaniyu pochv i gruntov Khersonskoi gubernii* [*Description of the vegetation of the Kherson province, 3. Plavni, sands, salt marshes, weeds. Materials on the study of soils of the Kherson province*]. Yestestv.-ist. muzei Kherson. gubern. zemstva [in Russian].
63. Pachoskii, I. K. (2008). *Khersonskaya flora. Dvudolnie* [*Kherson flora. Dicotyledons*], 2. UAM [in Russian].
64. Pachoskii, I. K. (1914). *Khersonskaya flora: visshie tainobrachnie, golosemennie, odnodolnie* [*Kherson flora: higher cryptogams, gymnosperms, monocotyledons*], 1 [in Russian].
65. Pachoskii, I. (1909). Novie dannie o flore Khersonskoi gubernii [New data on the flora of the Kherson province]. *Zapiski Novorossiiskogo obshchestva yestestvoispytatelei*, 34, 85–108 [in Russian].
66. Pachoskii, Y. K. (2015). *Opisanie rastitelnosti Khersonskoi gubernii. Vip. 1. Lesa*. [Description of the vegetation of the Kherson province, 1. Forests.]. Yestestv.-ist. muzei Kherson. gubern. zemstva [in Russian].
67. Shelyag-Sosonko Yu. R. (Ed.). (1987). *Perspektivnaya set zapovednikh obektov Ukraini* [*A promising network of protected areas in Ukraine*]. Naukova dumka [in Russian].
68. Pogrebnyak, I. I. (1965). *Donnaya rastitelnost limanov severo-zapadnogo Prichornomor'ya i sopredelnikh im akvatorii Chernogo morya* [*Bottom vegetation of the estuaries of the northwestern Black Sea Region and adjacent waters of the Black Sea*] (Dis... doct. biol. nauk [Doctor's thesis in biological sciences], 683 p.), Odesa [in Russian].
69. Pogrebnyak, I. I. (1960). O mikrofitobentose Tiligul'skogo limana [About microphytobenthos of the Tiligul estuary]. *Nauchnii yezhegodnik OGU im. I. I. Mechnikova*, 2, 5–7 [in Russian].
70. Pogrebnyak, I. I. (1969). Nekotore itogi izucheniya donnoi rastitelnosti limanov Severo-Zapadnogo Prichornomor'ya i sopredelnikh im akvatorii Chernogo morya [Some results of the study of bottom vegetation of the estuaries of the North-Western Black Sea Region and the adjacent waters of the Black Sea]. *Biooceanograficheskie issledovaniya yuzhnikh morei*. Naukova dumka, 89–107 [in Russian].

71. Popova, Ye. N. (2004). Botanicheskaya tsennost poberezhya Tiligul'skogo limana [Botanical value of the coast of the Tiligul estuary]. *Prichornomorskii yekologichnii byuleten*, 2–3, 82–91 [in Russian].
72. Popova, Ye. N. (2007). Rol I. K. Pachoskogo v izuchenii flori Odesskoi oblasti [The role of I. K. Pachosky in the study of the flora of the Odessa region]. *Polyaki na pivdni Ukraïni i v Krimu*. Odesa – Opole – Vrotslav: Germes, 277–288 [in Russian].
73. Popova, O. M. (2002). Sudynni roslyny Odesskoi oblasti z Chervonoï knyhy Ukrainy, Svitovoho ta Yevropeiskoho Chervonykh spyskiv [The Odessa region vascular plants from the Red Data Book of Ukraine, European and World Red Lists]. *Odesa National University Gerald. Biology*, 7(1), 278–290 [in Ukrainian].
74. Popova, O. M. (2003). Fitosozolohichna otsinka Tylihul'skoho rehionalnogo landshaftnogo parku (Odeska oblast) [Phytosozological assessment of the Tiligul regional landscape park (Odessa region)]. *Rol pryrodno-zapovidnykh terytorii u pidtrymanni bioriznomanittia*. Kaniv Nature Reserve, 135–137 [in Ukrainian].
75. Popova, O. M. & Rohozin, S. Yu. (2016b). Analiz sozofitnoi fraktsii flory Chyhyrnskoi balky (Odeska oblast, Ukraina) [Analysis of the Sozophytes of the Chyhyrnskyi Ravine (Odessa region, Ukraine)]. *Odesa National University Gerald. Biology*, 2(39), 49–60. [in Ukrainian]. DOI: [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2\(39\).81201](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2(39).81201)
76. Popova, O. M., & Rohozin, S. Yu. (2015). Nove mistseznakhodzhennia ridkisnogo vydu *Iris pontica* (Iridaceae) na Prychornomorskii nyzovyni ta stan yoho populatsii [New locality of a rare species *Iris pontica* (Iridaceae) on the Black Sea Low-land and the status of its population]. *Ukrainian Botanical Journal*, 72(5), 439–444 [in Ukrainian]. DOI: [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2\(39\).81201](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.2(39).81201)
77. Popova, O. M., & Rohozin, S. Yu. (2016a). Sozofity Chyhyrnskoi balky (Odeska oblast, Ukraina) [Sozophytes of the Chyhyrnsky Ravine (Odessa region, Ukraine)]. *Ridkisini roslyny i hryby Ukrainy ta prylyehlykh terytorii: realizatsiia pryrodokhoronnykh stratehii: mat-ly IV mizhnar. konf. (m. Kyiv, 16–20 travnia 2016 r.)*. Kyiv: PALYVODA A.V., 125–127 [in Ukrainian].
78. Popova, O. M., Uzhevskaya, S. P., & Yurchenko, Yu. Yu. (2006). Reiestr pryrodno-zapovidnogo fondu Odesskoi oblasti [Register of natural reserve fund of the Odessa region]. Pivdennyi naukovyi tsentr NANU [in Ukrainian].
79. Potapenko, G. I. (1925–1926). Ispolzovanie solontsevatikh zemel prichornomorskogo poberezhya dlya selskokhozyaistvennykh tselei [Use of saline lands of the Black Sea coast for agricultural purposes]. *Visti Odeskoho silskohospodarskoho universytetu*, 1, 111–124 [in Russian].
80. Potapenko, G. I. (1943). Rastitelnost severo-zapadnogo poberezhya Chernogo morya: pochvi, flora, rastitelnost i puti rasteniievodcheskogo osvoeniya Prichernomorskikh peresipei [Vegetation of the northwestern coast of the Black Sea: soils, flora, vegetation and ways of plant growing development of the Black Sea bay bars] (Dis... doct. biol. nauk [Doctor's thesis in biological sciences], 612 p.). Odessa [in Russian].
81. Potapenko, G. (1929). Tiligul'skaya peresip (pochvenno-botanicheskii ocherk) [Tiligul bay-bar (soil-botanical essay)]. *Zapysky Odeskoho instytutu narodnoi osvity*, 1, 195–209 [in Russian].
82. Harina L. [Ed.]. (2010). Pryrodno-zapovidna spadshchyna Odeshchyny [Natural reserve heritage of Odessa region]. Printing house [in Ukrainian].
83. *Pro ekolohichnu merezhu* [On Environmental Network of Ukraine]: Zakon Ukrainy vid 24.06.2004 № 1864-IV. Data onovlennia: 13.12.2022. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1864-15#Text> (data zvernennia: 28.10.23). [in Ukrainian].
84. *Pro Zahalnodержавnu prohramu formuvannia natsionalnoi ekolohichnoi merezhi na 2000–2015 roky* [On the National Program for Creating the National Environmental Network of Ukraine for the Years 2000–2015]: Zakon Ukrainy vid 21.09.2000. № 1989-III. Data onovlennia: 17.05.2012. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1989-14#Text> (data zvernennia: 28.10.23). [in Ukrainian].
85. *Pro zatverdzhennia perelikiv vydiv roslyn ta hrybiv, shcho zanosyatsia do Chervonoï knyhy Ukrainy (roslynnyi svit), ta vydiv roslyn ta hrybiv, shcho vykliucheni z Chervonoï knyhy Ukrainy (roslynnyi svit)* [About the confirmation of overgrowth of species of plants and mushrooms that are included in the Red Book of Ukraine (Plant world), and types of plants and mushrooms that are included in the Red Book of Ukraine (Plant world)]: nakaz Ministerstva zakhystu dovkillia ta pryrodnykh resursiv vid 15.02.2021 r. № 111. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0370-21#Text> (data zvernennia 28.10.23). [in Ukrainian].
86. Protopopova, V. V. (1973). *Adventywni roslyny Lisostepu i Stepu Ukrainy* [Adventive plants of the Forest-steppe and Steppe of Ukraine]. Naukova dumka [in Ukrainian].
87. Rohozin, S. Yu. & Popova, O. M. (2017). Shliakhy zberezhennta stepovoi flory Chyhyrnskoi balky (Odeska oblast) [Ways to preserve the steppe flora of Chyhyrnskyi ravine (Odessa region)]. *Naukovi osnovy zberezhennta biotychnoi riznomanitnosti: mat-ly II (XIII) Mizhnar. nauk. konf. molodykh vchenykh (m. Lviv, 11–13 zhovtnia 2017 r.)* / Instytut ekolohii Karpat. Lviv: Prostir M, 56–58. [in Ukrainian].
88. Bradis, Ye. M. (Ed.). (1971). *Roslynnist URSR: Lisy* [Vegetation of the Ukrainian SSR. Forests]. Naukova dumka [in Ukrainian].

89. Barbarych, A. I. (Ed.). (1973). *Roslynnist URSS: stepy, kamianisti vidslonennia, pisky* [Vegetation of the Ukrainian SSR: steppes, rocky outcrops, sands]. Naukova dumka [in Ukrainian].
90. Protsenko, L. D. (Ed.). (2011). *Smarahdova merezha v Ukraini* [Emerald network in Ukraine]. Khimdzhest [in Ukrainian].
91. Solomakha, I. V., Vorobiov, Ye. O., & Moisiienko, I. I. (2015). *Roslynni pokryv lisiv ta chaharnykyv Pivnichnoho Prychornomoria* [Vegetation cover of forests and shrubs of the Northern Black Sea Region]. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
92. Sredynskyi, N. K. (1872–1873). Materiali dlya flori Novorossiiskogo kraia i Besarabii [Materials for the flora of the Novorossiisk region and Bessarabia]. *Zapiski Novorossiiskogo obshchestva yestestvoispytatelei*, 1, 73–138; 2, 17–131 [in Russian].
93. Tanfylev, V. G. (1929). Poima reki Tiligula i yeyo rastitelnost [Floodplain of the Tiligul River and its vegetation]. *Zapiski Novorossiiskogo obshchestva estvoispytatelei*, 90–117 [in Russian].
94. Tkachenko, V. S. (1982). Intrazonalna roslynnist na stepovykh skhylakh Pivnichno-Zakhidnoho Prychornomoria [Intrazonal Vegetation on the Steppe Slopes of the North-Western Black Sea Area]. *Ukrainian Botanical Journal*, 39(6), 42–46 [in Ukrainian].
95. Tkachenko, V. S., & Artiushenko, O. S. (1984). Retrospektiia ta prohnoz zmin stepiv pivdnia Ukrainy pid vplyvom iryhatyii [Retrospection and Prediction of Possible Changes in Steppes of the South of the Ukrainian SSR Under the Effect of Irrigation]. *Ukrainian Botanical Journal*, 41(4), 1–5 [in Ukrainian].
96. Tkachenko, V. S., & Kostylev, A. V. (1985). *Fytoekolohycheskye aspekty hydromelioratsyy Severo-Zapadnoho Prychornomoria* [Phytocological aspects of hydromelioration of the North-Western Black Sea Region]. Naukova dumka [in Russian].
97. Tkachenko, F. P., & Kovtun, O. O. (2002). Makrofyty Tylihulskoho lymanu Chornoho moria [The macrophytes of the Tylihulskyi Estuary of the Black Sea]. *Ukrainian Botanical Journal*, 59(2), 184–191 [in Ukrainian].
98. Tuchkovenko, O. A., & Tuchkovenko, Yu. S. (2021). Otsinka zmin kharakterystyk hidroekolohichnoho rezhymu Tylihulskoho lymanu pid diieiu klimatychnykh chynnykyv [Assessment of changes in the characteristics of the hydroecological regime of the Tiligul estuary under the influence of climatic factors]. *Vodni bioresursy ta akvakultura*, 10(2), 176–186 [in Ukrainian]. DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2021.2.15>
99. Sitnik, K. M. [Ed.]. (1984). *Tisyachelistniki* [Milfoils]. Naukova dumka [in Russian].
100. Fedorov, A. A., & Tsvelev, N. N. (Eds.). (1974–1994). *Flora Yevropeiskoi chasti SSSR* [Flora of the European part of the USSR]. Nauka, Mir i semya. [in Russian].
101. Bordzylivskyi, Ye. I., Lavrenko, Ye. M., Kotov, M. I., Barbarych A. I., Visiulina, O. D., Zerov, D. K., & Klovov, M. V. (Eds.). (1936–1965). *Flora URSS* [Flora of the Ukrainian SSR], Vol. 1–12. vyd-vo AN URSS. [in Ukrainian].
102. Tikhomirov, F. K. (Ed.). (1982). *Floristicheskie issledovaniya v severo-zapadnom Prichernomore* [Floristic research in the northwestern Black Sea Region], 4. OSKHi [in Russian].
103. Barbarich, A. I. (Ed.). (1986). *Khorologiya flori Ukraini* [Chorology of flora of Ukraine]. Naukova dumka [in Russian].
104. Khrustalev, I. P. (1847). Ischislenie rastenii lekarstvennikh, maslyanikh, krasilnikh i voobshche torgovikh, nakhodyashchikhsya v dikom sostoyanii v Khersonskoi gubernii [Calculation of medicinal, oil, dyeing and generally commercial plants that are in the wild in the Kherson province]. *Zapysky ymperatorskogo obshchestva selskoho khoziaistva Yuzhnoi Rossyy*, 4. [in Russian].
105. Didukh, Ya. P. [Ed.]. (2009). *Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit* [Red Data Book of Ukraine. Plants] Hlobalkonsaltnyh [in Ukrainian].
106. Sheliakh-Sosonko, Yu. R. (Ed.). (1996). *Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit* [Red Data Book of Ukraine. Plants]. Naukova dumka [in Ukrainian].
107. Chopyk, V. I. (Ed.). (1980). *Chervona knyha Ukrainiskoi RSR* [Red Data Book of Ukrainian SSR]. Naukova dumka [in Ukrainian].
108. Sheliakh-Sosonko, Yu. R., & Kostylev, O. V. (1981). Stepova roslynnist skhylyv Tylihulskoho lymanu [Steppe Vegetation of the Tiligul Estuary Slopes]. *Ukrainian Botanical Journal*, 38(4), 10–13 [in Ukrainian].
109. Shesterikov, P. S. (1984). Materiali dlya flori yugo-zapadnoi chasti Odesskogo uiezda Khersonskoi gubernii [Materials for the flora of the southwestern part of the Odessa district of the Kherson province]. Tipografiya A. Shultse [in Russian].
110. Shesterikov, P. S. (1909). Novie dopolnitelnie dannie dlya flori Odesskogo uiezda [New additional data for the flora of Odessa district]. *Zapiski Novorossiiskogo obshchestva yestestvoispytatelei*, 33, 1–136 [in Russian].
111. Shesterikov, P. S. (1912). *Opredelitel rastenii okrestnostei Odessi* [Manual of the plants in the vicinity of Odessa]. Komm. tip. B. Sapozhnikova [in Russian].

112. Shesterikov, P. S. (1887). Spisok yavnobrachnykh rastenii okrestnosti Odessi [List of angiosperms in the vicinity of Odessa]. *Otchet i trudi Odesskogo otdela Imperatorskogo Rosiiskogo obshchestva sadovodstva*, 1–80. [in Russian].
113. Shesterikov, P. S. (1903). Flora okrestnosti Odessi [Flora of the vicinity of Odessa]. 1. Lito-tipografiya A. Shultse [in Russian].
114. Shmalgauzen, I. F. (1895; 1897). *Flora Srednei i Yuzhnoi Rosii, Krima i Severnogo Kavkaza* [Flora of Central and Southern Russia, Crimea and the North Caucasus]. Tip. t-va pech. dela i torg. I.N. Kushnerev i Ko v Moskve, Kievsk. otd-nie, 1–2 [in Russian].
115. Shmalgauzen, I. F. (1886). *Flora Yugo-Zapadnoi Rossii* [Flora of Southwestern Russia]. Tip. S.V. Kulzhenko [in Russian].
116. Shcherbakova, O. F., & Novosad, V. V. (2018). Khorolohichni, ekolohto-tsenotychni ta sozolozhichni osoblyvosti *Gymnospermium odessanum* (DC.) Takht. [Chorological, ecological-coenotic and sosological features of *Gymnospermium odessanum*(DC.) Takht.]. *Roslynnyi svit u Chervonii knyzi Ukrainy: vprovadzhenia Hlobalnoi stratehii zberezhennia roslyn: materialy V Mizhnarodnoi konferentsii (m. Kherson, 25–28 chervnia 2018 r.)*. Kherson: knyzhkove vyd-vo FOP Vyshemyrskyi V. S., 98–102 [in Ukrainian].
117. Melnik, V. I., Gritsenko, V. V., Shevchenko, D. Yu., & Didenko, S. Ya. (2007). *Bulbocodium versicolor* (Melanthiaceae) – redkii vid flori Yevropi (geograficheskoe rasprostraneniye, usloviya mestoobitanii i struktura populyatsii) [Bulbocodium versicolor (Melanthiaceae) is a rare species of European flora (geographical distribution, habitat conditions and population structure)]. Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
118. Perehrym, M. M., Moisiienko, I. I., Perehrym, Yu. S., & Melnyk, V. O. (2009). *Tulipa gesneriana* L. (Liliaceae) v Ukraini [Tulipa gesneriana L. (Liliaceae) in Ukraine]. Vydavnycho-polihrafichnii tsentr «Kyivskyi universytet» [in Ukrainian].
119. Walter, K. S., & Gillett, H. G. (Eds). (1998). *1997 IUCN Red List of Threatened Plants*. Gland and Cambridge.
120. Brunner, S. (1833). *Ausflug über Konstantinopel nach Taurien in Sommer*. St. Gallen und Bern.
121. D'Urville, D. (1822). *Enumeratio plantarum quas in insulis Archipelagi aut littoribus Ponti Euxini, annis 1819–1820*. Parisiis.
122. Démidoff, A. de (1842). *Voyage dans la Russie méridionale et la Crimée, par la Hongrie, la Valachie et la Moldavie*. Paris.
123. Ledebour, K. F. (1842–1853). *Flora Rossica sive Enumeratio plantarum intotius Imperii Rossici provinciis Europaeis, Asiaticis et Americanis usque observatorum*. Stuttgartiae: Schweizerbart, Vol. 1–4.
124. Lindemann, E. (1889–1892). *Flora Chersonensis*. Vol. 1–2. Odessa.
125. Pallas, P. S. (1784, 1788). *Flora Rossica. Petropoli*. Typographia Imperiali J. J. Weitbrecht. Vol. 1. Pars 1–2.
126. Rehmann, A. (1872). *Einige Notizen über die Vegetation der Nördlichen Gestade des Schwarzen meeres*. Verhandlugen des naturforschenden Vereines in Brunn. Bd. 10.

ГЕНЕТИКА І МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ



[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).292999](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).292999)

УДК 577.113.5 + 582.675.1

Ю. О. Тинкевич¹, к.б.н., асистент
Д. В. Біляй¹, магістрантка
О. В. Череватов¹, к.б.н., асистент
О. О. Кагало², к.б.н., завідувач відділу
Р. А. Волков¹, д.б.н., завідувач кафедри

¹ Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Кафедра молекулярної генетики та біотехнології, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2, 58012, Україна, e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

² Інститут екології Карпат НАН України, Відділ охорони природних екосистем, Львів, вул. Козельницька, 4, 79026, Україна, e-mail: o.kagalo@nas.gov.ua

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА УКРАЇНСЬКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ КОМПЛЕКСНОГО ВИДУ *ACONITUM ANTHORA* НА ОСНОВІ ДІЛЯНКИ ITS1-5.8S-ITS2 ЯДЕРНОГО ГЕНОМУ

В складі комплексного виду *Aconitum anthora* L. s. l. деякі таксономісти нараховують чотири окремі види: *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii*, *A. pseudanthora*. Останні два види занесені до Червоної книги України. Щоб перевірити спорідненість між цими таксонами та філогенетичне положення групи *A. anthora* s. l. ми використали маркерну ділянку ядерного геному ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК. Отримані нами сиквенси для представників всіх чотирьох таксонів з території України виявилися високоподібними, що підтверджує припущення про необхідність вважати видові епітети *A. eulophum*, *A. jacquinii*, *A. pseudanthora* синонімами до *A. anthora*. Філогенетичний аналіз показав значну дистанцію *A. anthora* s. l. до підродів *Aconitum* та *Lycostonum*. Отже, *A. anthora* s. l. варто розглядати як третій підрид в роді *Aconitum*.

Ключові слова: генетичний поліморфізм; біорізноманіття; філогенія; таксономія; *Aconitum*; молекулярні маркери; рДНК

Проблема визначення границь біологічних видів є одним із питань, що викликають довготривалу дискусію та досі не мають однозначної відповіді [8, 13, 32]. Особливо складним є визначення границь видів для рослин, у яких часто відбувається міжвидова та навіть міжродова гібридизація [14, 27]. Крім віддаленої гібридизації додатковими факторами, що ускладнюють визначення видів рослин є системи безстатевого та вегетативного розмноження, ало- та автополіплоїдія [28]. Важливим суб'єктивним фактором є неоднозначне трактування різними дослідниками таксономічної ваги певних морфологічних ознак, що призводить до численних суперечностей щодо визначення та дискримінації видів рослин [28]. Проблема визначення границь виду має і важливий практич-

ний аспект у ракурсі природоохоронної діяльності та збереження біологічного різноманіття. Відсутність чіткого розмежування видів у складі комплексних таксонів ускладнює впровадження необхідних заходів по захисту та збереженню рідкісних і зникаючих форм [31].

Одним з перспективних шляхів вирішення проблеми ідентифікації видів та визначення границь між ними є використання молекулярно-генетичних підходів до таксономії та ДНК-баркодингу рослин [18]. Активне впровадження цих методів впродовж останніх десятиріч дозволило краще зрозуміти границі видів для багатьох складних у таксономічному відношенні груп рослин [12, 20, 31]. Проте, для флори України молекулярно-таксономічні дослідження залишаються епізодичними і охоплюють лише незначну кількість груп Покрито-насінних [1, 4, 5, 15, 21, 29].

Однією з важливих та недостатньо охарактеризованих груп рослин є агрегатний комплекс *A. anthora* L. s. l., представники якого поширені в Українських Карпатах та лісостеповій зоні [23, 24]. В межах цього комплексу у флорі України виділяють до чотирьох окремих видів: *A. anthora* L., *A. eulophum* Rchb., *A. jacquinii* Rchb., *A. pseudanthora* Błocki ex Pacz. Останні два види занесені до Червоної книги України [9]. Також, *A. pseudanthora* та *A. jacquinii* (у якості підвиду *A. anthora*) наведені і в IUCN Red List у статусі рідкісних рослин [25]. Проте, в базі даних World Flora Online усі згадані вище назви наводяться як синоніми до *A. anthora*.

В проведених раніше дослідженнях ми оцінили можливість використання молекулярних маркерів ядерної (міжгенний спейсер 5S рДНК) та хлоропластної (*psbA-trnH*) локалізації для уточнення таксономічного статусу представників комплексу *A. anthora* s. l. [3, 30]. Однак, найбільш популярним маркером для молекулярної таксономії рослин залишається ділянка ядерного геному ITS1-5.8S-ITS2 [10, 16]. Відповідно, у цій роботі для зразків з території України, які були попередньо ідентифіковані на основі морфологічних даних як *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii*, *A. pseudanthora* ми ампліфікували і сиквенували послідовності ITS1-5.8S-ITS2 та порівняли їх між собою та з послідовностями з геномів інших видів роду *Aconitum*.

Матеріали та методи дослідження

Зразки представників комплексного виду *A. anthora* s. l. були зібрані протягом польових сезонів 1995, 2007 та 2009 років (табл. 1). Геномну ДНК виділяли з гербаризованих листків модифікованим цетавлоновим методом [2, 26].

Ампліфікацію ділянки ITS1-5.8S-ITS2 проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), використовуючи пару праймерів, комплементарних до фланкуючих внутрішні транскрибовані спейсери 1 та 2 (internal transcribed spacers: ITS1 та ITS2) ділянок генів 18S та 26S рРНК. ПЛР-продукти очищали екстракцією хлороформом та сиквенували із застосуванням праймерів, вико-

ристаних для ампліфікації. Сиквенування очищених ПЛР-продуктів проводили за Сенгером на фірмі LGC Genomics (Німеччина).

Первинний аналіз сиквенування послідовностей проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакету програм DNASTAR Lasergene 14. Пошук гомологічних послідовностей у базі даних GenBank здійснювали з використанням програми BLAST [7]. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей здійснювали методом G-INS-i, реалізованим на сервері MAFFT [17].

Параметри отриманої матриці, зокрема, модель найкращої відповідності нуклеотидних замінів, кількість варіабельних та парсимоній-інформативних сайтів оцінювали за допомогою програми Mega X [19].

Генетичні дистанції між зразками візуалізували за допомогою методу основних компонент (principal component analysis – PCA). PCA проводили в програмі Jalview [33] на основі вирівнювання послідовностей ділянки ITS1-5.8S-ITS2. Філогенетичний аналіз проводили методом Maximum Likelihood за допомогою плагіна PhyML для Geneious Prime 2023.2.1 [11]. Статистична підтримка гілок була розрахована за допомогою тесту aLRT Chi2 [6]. Обраховане дерево експортували у форматі Newick та анутовали з використанням онлайн інструменту iTOL v6 – Interactive tree of life.

Результати дослідження та їх обговорення

Для чотирьох зразків (табл. 1), які за морфологічними ознаками було визначено як *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii* та *A. pseudanthora*, ми просиквенували ділянку ITS1-5.8S-ITS2, довжина якої для всіх чотирьох зразків виявилась однаковою і складає 630 нп.

Таблиця 1

Характеристика використаного у роботі рослинного матеріалу

Назва виду	Синонім	Назва зразку	Походження зразку	Період збору матеріалу
<i>A. anthora</i> L.	<i>A. anthora</i> L. s. str.	AcAnt2	Закарпатська обл., Ужгородський р-н.	Серпень, 2009
	<i>A. eulophum</i> Rchb.	AcEul5	Тернопільська обл., Підволочиський р-н.	Серпень, 1995
	<i>A. jacquinii</i> Rchb.	AcJac5	Закарпатська обл., Рахівський р-н.	Серпень, 2007
	<i>A. pseudanthora</i> Błocki ex Pacz.	AcPse6	Тернопільська обл., Бережанський р-н.	Серпень, 2007

В деяких позиціях у отриманих послідовностях на хроматограмах спостерігались подвійні піки, що свідчить про наявність всередині геномів зразків AcAnt2, AcJac5 та AcPse6 двох варіантів ITS1-5.8S-ITS2 35S, які відрізняються між собою наявністю від однієї до трьох транзицій.

Використовуючи сиквенувані нами послідовності ділянки ITS1-5.8S-ITS2 для пошукового запиту методом BLAST, ми виявили депоновані в базі даних

GenBank послідовності для 963 зразків роду *Aconitum*, із рівнем подібності до запиту від 82,9 до 97,6%. Для подальшого аналізу ми обрали 26 репрезентативних послідовностей, які мають різний ступінь подібності до *A. anthora* та представляють обидва загальновизнані підроди роду *Aconitum*: *Aconitum* та *Lycoctonum*. Як зовнішню групу використали послідовність ITS1-5.8S-ITS2 представника близькоспорідненого роду *Delphinium*, *D. balansae*. Завантажені з GenBank послідовності разом із сиквенкованими нами були вирівняні і довжина отриманого вирівнювання склала 641 нп (рис. 1). При цьому середня парна подібність між всіма вирівняними послідовностями (рис. 1) становить 95,4% (табл. 2).



Рис. 1. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей ділянки ITS1-5.8S-ITS2 для зразків родів *Aconitum* та *Delphinium*.

Найбільш варіабельною виявилась ділянка ITS1, яка містить 93 поліморфні позиції, 52 з яких – парсимоній-інформативні. Найменш мінливою очікувано виявилась кодувальна ділянка 5.8S рДНК, де наявні лише 5 варіабельних сайтів, з яких лише один інформативний. Останній відрізняє всі три використані для аналізу послідовності представників підроду *Lycoctonum* від інших видів *Aconitum*. Загалом, повна ділянка ITS1-5.8S-ITS2 містить 164 варіабельні сайти, з яких 82 є парсимоній-інформативними (табл. 2). Цей показник значно перевищує мінливість для таких популярних у таксономії локусів хлоропластної ДНК, як *psbA-trnH*, *trnT-trnL*, *trnL-trnF* [5, 29]. Крім нуклеотидних замін, наявні також 14 однонуклеотидних інсерцій/делецій (інделів), дев'ять в ділянці ITS1 та п'ять в ITS2.

Таблиця 2

Параметри вирівнювання нуклеотидних послідовностей ділянки ITS1-5.8S-ITS2

Параметр / ділянка	ITS1	5,8S	ITS2	ITS1-5,8S-ITS2
Довжина вирівнювання, нп	256	164	221	641
Середня попарна подібність послідовностей,%	92,7	99,7	95,3	95,4
Кількість варіабельних сайтів, нп	93	5	66	164
Кількість парсимоній-інформативних сайтів, нп	52	1	29	82

Послідовності зразків *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii*, *A. pseudanthora* виявились майже ідентичними, рівень подібності між ними знаходиться в межах 99,6–99,8%. При цьому, зразки, які відносять до комплексного виду *A. anthora* s. l. відрізняються між собою лише у п'яти позиціях. Так, зразок AcEul5 відрізняється від трьох інших трансверсією G→C у позиції 34 вирівнювання. Інші чотири сайти є поліморфними, зокрема, і між послідовностями ITS1-5.8S-ITS2 всередині геномів окремих зразків.

Для оцінки генетичних дистанцій між зразками, які відносять до комплексного виду *A. anthora* s. l., та іншими видами роду *Aconitum*, ми використали аналіз методом основних компонент. На отриманому графіку чотири зразки *A. anthora* s. l. утворюють щільний кластер, добре відокремлений від двох інших, які утворені видами підродів *Aconitum* та *Lycostonum* (рис. 2). В той же час, висока подібність зразків *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii* та *A. pseudanthora* між собою узгоджується із поглядами про приналежність цих рослин до одного виду – *A. anthora* L., і, відповідно, синонімічний характер згаданих видових епітетів [3, 23, 30, 34]. Проте, утворення подібних щільних кластерів спостерігаються (рис. 3) і для деяких визнаних у міжнародній систематиці видів підроду *Aconitum*. Отже, проблема визначення границь видів є актуальною і для інших таксонів роду *Aconitum*.

На наступному етапі дослідження з використанням вирівнювання послідовностей ITS1-5.8S-ITS2 було побудовано філогенетичну дендрограму, на який присутні дві основні клади (рис. 3). Перша клада містить всі три обрані для дослідження види підроду *Lycostonum*, тоді як друга клада об'єднує представників підроду *Aconitum* та групи *A. anthora* s. l. При цьому *A. anthora* s. l. формує окрему групу, яка є сестринською до всіх представників підроду *Aconitum*. Обидва загально визнані підроди, так само, як і *A. anthora* s. l. утворюють монофілетичні клади з високою статистичною підтримкою.

Значні дистанції між кластерами підродів *Aconitum* та *Lycostonum*, а також групою *A. anthora* s. l., які були виявлені за результатами PCA аналізу (рис. 2), та монофілетичний характер відповідних клад на філогенетичному дереві

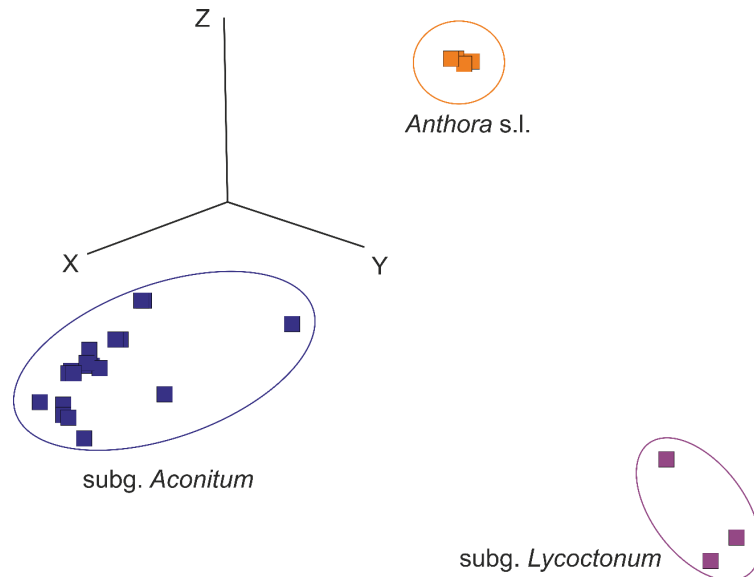


Рис. 2. Візуалізація результатів PCA аналізу генетичної спорідненості зразків роду *Aconitum* за послідовностями ділянки ITS1-5.8S-ITS2.

(рис. 3) свідчать на користь надання групі *A. anthora* s. l. статусу підроду, разом з підродами *Aconitum* та *Lycoctonum*.

Аналогічний висновок було зроблено і у наших попередніх дослідженнях з використанням ділянки хлоропластного геному *psbA-trnH* [1] та ділянки ядерного геному, міжгенного спейсеру 5S рДНК [30]. Проте, на відміну від цих двох попередніх робіт, де зразки *A. anthora* s. l. демонстрували вищу спорідненість із видами підроду *Lycoctonum*, у філогенії, відтвореній шляхом аналізу ділянки ITS1-5.8S-ITS2 група *A. anthora* s. l. виявилась більш наближеною до підроду *Aconitum*. Часткові протиріччя у топології філогенетичних дерев роду *Aconitum*, отриманих з використанням різних маркерів можуть свідчати про успадкування відповідних послідовностей від різних предкових видів у результаті міжвидової гібридизації в еволюційному минулому таксонів роду *Aconitum*. Тобто складається враження, що внаслідок міжвидової гібридизації еволюція роду мала сітчастий (ретикулярний) характер.

Висновки

Використання ділянки ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК для філогенетичного аналізу підтверджує необхідність надання групі *A. anthora* s. l. статусу окремого підроду в межах роду *Aconitum*. Висока генетична спорідненість між зразками *A. anthora* s. l. з території України свідчить про те, що видові епітети *A. eulophum*, *A. jacquinii* та *A. pseudanthora* варто розглядати як синоніми до *A. anthora*.

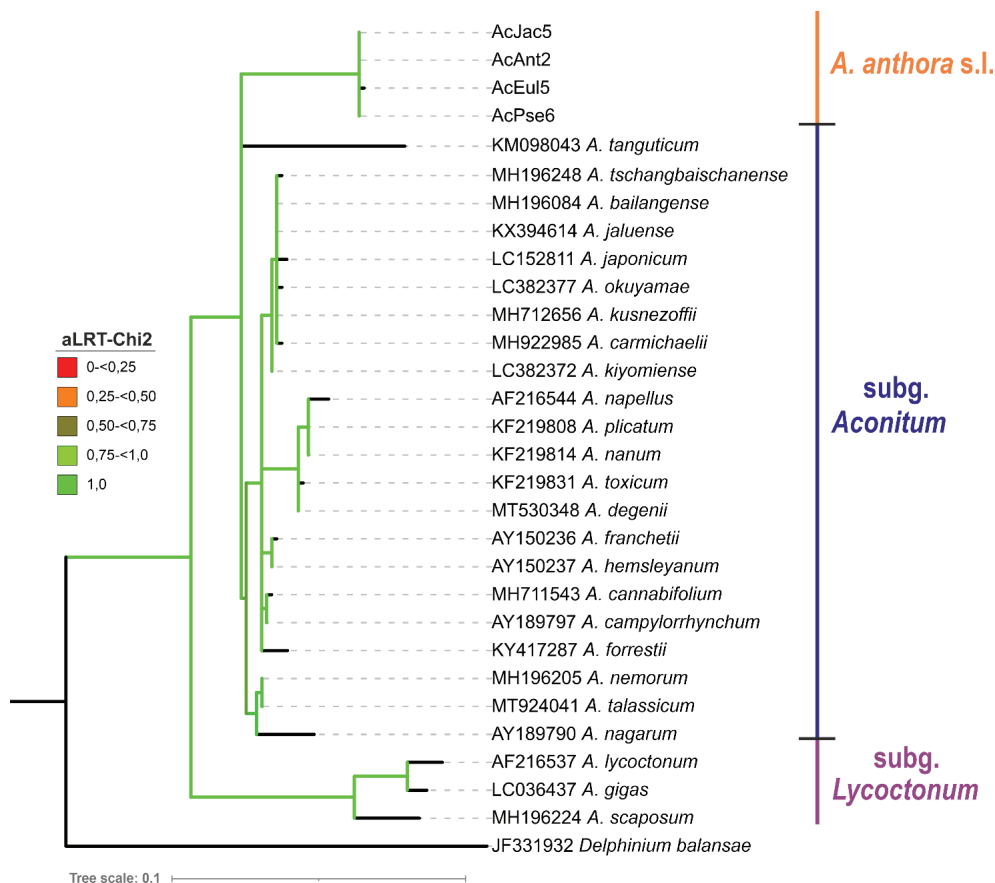


Рис. 3. Maximum Likelihood філогенетична дендрограма, отримана при порівнянні послідовностей ділянки ITS1-5.8S-ITS2 представників роду *Aconitum*. Колір гілок на дендрограмі відповідає значенням aLRT-Chi2 статистичної підтримки (див. легенду). Показані лише гілки з рівнем aLRT-Chi2 підтримки вище 0,5. Для послідовностей, завантажених з бази даних GenBank перед назвою таксону наведені номери доступу. Поділ роду *Aconitum* на підроди наведений за Jabbour et al., 2012 [16].

Подяки. Автори висловлюють щире подяку старшому науковому співробітнику Національного науково-природничого музею НАН України Новікову А. В. за наданий рослинний матеріал.

Фінансування. Дослідження проводились за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0122U001335).

Стаття надійшла до редакції 15.11.2023

Список використаної літератури

1. Андреев І. О., Мельник В. М., Кунах В. А. Поліморфізм міжгенного спейсера генів 5S рРНК деяких видів роду *Gentiana* L. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. 20, 42–46. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v20.731>
2. Панчук І. І., Волков Р. А. *Практикум з молекулярної генетики*. Чернівці: Рута. 2007. 120 с.
3. Тинкевич Ю. О., Біляй Д. В., Волков Р. А. Використання ділянки *psbA-trnH* для ДНК-баркодингу *Aconitum anthora* L. та споріднених таксонів. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2022. 31, 134–41. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v31.1450>
4. Тинкевич Ю. О., Валін М. О., Волков Р. А. Організація та поліморфізм ділянки хлоропластного геному *psbA-trnH* у представників роду *Goniolimon* Boiss. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2022. 14 (2), 137–142. <https://doi.org/10.31861/biosystems2022.02.124>
5. Тинкевич Ю. О., Деревенко Т. О., Чорней І. І. Філогенетична спорідненість українських зразків чини рябої (*Lathyrus venetus* (Mill.) Wohlf.) та чини весняної (*L. vernus* (L.) Bernh.) за даними аналізу ділянки хлоропластного геному *psbA-trnH*. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2022. 14 (1), 135–140. <https://doi.org/10.31861/biosystems2022.02.124>
6. Anisimova M., Gascuel O. Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. *Syst. Biol.* 2006. 55, 539–552. <https://doi.org/10.1080/10635150600755453>
7. Boratyn G. M., Camacho C., Zaretskaya I. BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucl. Acid Res.* 2013. 41 (W1), W29–33. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt282>
8. De Queiroz K. Different species problems and their resolution. *BioEssays*, (2005). 27 (12), 1263–1269. <https://doi.org/10.1002/bies.20325>
9. Didukh, Y.P. Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit (Red Data Book of Ukraine. Plant Kingdom). 2009. Kyiv: Global consulting. Didukh, Ya. P. (2010). The «Red Data Book of Ukraine. Plant Kingdom». *Ukraine botanical journal*, 67 (4), 481–503.
10. Grimm G. W., Schlee M., Hemleben, V. Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants. From plant taxonomy to evolutionary biology. *Nova Acta Leopold., NF*. 2005. 92 (342), 129–145.
11. Guindon S., Gascuel O.A. Simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst. Biol.* 2003. 52 (5), 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
12. Hajrudinović-Bogunić A., Frajman B., Bogunić F. Apomictic mountain whitebeam (*Sorbus austriaca*, Rosaceae) comprises several genetically and morphologically divergent lineages. *Biology*. 2023. 12 (3), 380. <https://doi.org/10.3390/biology12030380>
13. Hey J. The mind of the species problem. *Trends Ecol. Evol.* 2001. 16 (7), 326–329. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02145-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02145-0)
14. Hong D.Y. Gen-morph species concept – A new and integrative species concept for outbreeding organisms. *J. Syst. Evol.* 2020. 58 (5), 725–742. <https://doi.org/10.1111/jse.12660>
15. Ishchenko O. O., Bednarska I. O., Panchuk I. I. Application of 5S ribosomal DNA for molecular taxonomy of subtribe Loliinae (Poaceae). *Cytol. Genet.* 2021. 55, 10–18. <https://doi.org/10.3103/S0095452721010096>
16. Jabbour F., Renner S.S. A phylogeny of Delphinieae (Ranunculaceae) shows that *Aconitum* nested within *Delphinium* and that Late Miocene transitions to long life cycles in the Himalayas and Southwest China coincide with bursts in diversification. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2012. 62 (3), 928–942. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.12.005>
17. Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief. Bioinf.* 2017. 20 (4), 1160–6. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
18. Kress, W.J. Plant DNA barcodes: Applications today and in the future. *J. Syst. Evol.*, 55. 2017. (4), 291–307. <https://doi.org/10.1111/jse.12254>
19. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.*, 2018. 35 (635), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
20. Lakušić D., Liber Z., Stefanović S. Molecular phylogeny of the *Campanula pyramidalis* species complex (Campanulaceae) inferred from chloroplast and nuclear non-coding sequences and its taxonomic implications. *Taxon*. 2013. 62 (3), 505–524. <https://doi.org/10.12705/623.1>
21. Lykholat Y. V., Rabokon A. M., Blume Y. B. Characterization of β -tubulin genes in *Prunus persica* and *Prunus dulcis* for fingerprinting of their interspecific hybrids. *Cytol. Genet.* 2022. 56 (6), 481–493. <https://doi.org/10.3103/S009545272206007X>

22. Mitka J., Sutkowska A., Joachimiak A. Reticulate evolution of high-alpine *Aconitum* (Ranunculaceae) in the Eastern Carpathians (Central Europe). *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 2007. 49 (2), 15–26.
23. Novikov A., Mitka J. Nomenclature, history and taxonomic identity of *Aconitum pseudanthora* Blocki (Ranunculaceae). *Adansonia*. 2023. 45 (23), 363–371. <https://doi.org/10.5252/adansonia2023v45a23>
24. Novikov A., Prylutskiy O. Genus *Aconitum* (Ranunculaceae) in the Ukrainian Carpathians and adjacent territories. *Biodivers. Data J.* 2023. 11, e98828. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e98828>
25. Onyshchenko V. A., Mosyakin S. L., Protopopova V. V. IUCN Red List categories of vascular plant species of Ukrainian flora. *M. G. Kholodny Institute of Botany of the NAS of Ukraine, Kyiv*, 2022. 197.
26. Porebski S., Bailey L. G., Baum B. R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1997. 15 (1), 8–15. <https://doi.org/10.1007/bf02772108>
27. Rieseberg L. H. Hybrid origins of plant species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1997. 28 (1), 359–389. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.28.1.359>
28. Rieseberg L. H., Wood T. E., Bawa E. J. The nature of plant species. *Nature*. 2006. 440 (7083), 524–527. <https://doi.org/10.1038/nature04402>
29. Tynkevich Y. O., Boychuk S. V., Volkov R. A. Molecular phylogeny and genetic diversity of Carpathian members of the genus *Muscari* inferred from plastid DNA sequences. *Cytol. Genet.*, 2023. 57 (5), 387–398. <https://doi.org/10.3103/S0095452723050079>
30. Tynkevich Y. O., Novikov A. V., Volkov R. A. Organization of the 5S rDNA intergenic spacer and its use in the molecular taxonomy of the genus *Aconitum* L. *Cytol. Genet.* 2022. 56 (6), 494–503. <https://doi.org/10.3103/S0095452722060111>
31. Wagner N. D., Clements M. A., Nargar K. Conservation in the face of hybridisation: genome-wide study to evaluate taxonomic delimitation and conservation status of a threatened orchid species. *Conserv. Genet.*, 2021. 22 (1), 151–168. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01325-y>
32. Wang X., He Z., Wu C. I. Genes and speciation: is it time to abandon the biological species concept? *Natl. Sci. Rev.* 2020. 7 (8), 1387–1397. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwz220>
33. Waterhouse A. M., Procter J. B., Barton G. J. Jalview Version 2-a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinf.* 2009. 25 (9), 1189–1191. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
34. *WFO World Flora Online*. (2023, October 7). URL: <http://www.worldfloraonline.org/>

**Ю. О. Тинкевич¹, Д. В. Біляй¹, О. В. Череватов¹, О. О. Кагало²,
Р. А. Волков¹**

¹Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Кафедра молекулярної генетики та біотехнології, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2, 58012, Україна, e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

²Інститут екології Карпат НАН України, Відділ охорони природних екосистем, Львів, вул. Козельницька, 4, 79026, Україна, e-mail: o.kagalo@nas.gov.ua

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА УКРАЇНСЬКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ КОМПЛЕКСНОГО ВИДУ *ACONITUM ANTHORA* НА ОСНОВІ ДІЛЯНКИ ITS1-5.8S-ITS2 ЯДЕРНОГО ГЕНОМУ

Резюме

Проблема. Питання визначення границь виду поруч із фундаментальними аспектами має практичне значення у природоохоронній діяльності. Однією із проблемних у таксономічному плані груп є комплексний вид *A. anthora* s. l. У флорі України в його межах виділяють чотири таксони із суперечливим

статусом: *A. anthora* L., *A. eulophum* Rchb., *A. jacquinii* Rchb., *A. pseudanthora* Włoski ex Racz. Останні два види занесені до Червоної книги України та списку IUCN. Визначення таксономічного положення цих близькоспоріднених форм потребує використання молекулярно-генетичних підходів. Найбільш популярним та інформативним маркером для таксономії та баркодингу рослин вважається ділянка ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК.

Мета. Уточнити таксономічний статус та філогенетичні зв'язки представників *A. anthora* s. l. з використанням молекулярного маркеру ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК.

Методика. Гербарні зразки чотирьох представників групи *A. anthora* s. l. були зібрані на території Західної України. ДНК було виділено модифікованим цетавлоновим методом, після чого використано для ПЛР-ампліфікації ділянки ITS1-5.8S-ITS2. ПЛР-продукти очищали та сиквенували за Сенгером. Отримані нами послідовності вирівнювали разом з депонованими у базі даних GenBank послідовностями для представників двох підродів роду *Aconitum*: номінативного підроду та підроду *Lycoctonum*. Отриману матрицю використовували для аналізу методом основних компонент (PCA) та філогенетичного аналізу методом Maximum Likelihood.

Основні результати. Сиквеновані нами послідовності ITS1-5.8S-ITS2 для зразків *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii* та *A. pseudanthora* виявились майже ідентичними. Вони відрізнялися між собою лише у п'яти з 641-ї позиції вирівнювання. Причому, чотири з п'яти позицій виявились поліморфними і в межах окремих геномів. За результатами PCA аналізу всі чотири зразки *A. anthora* s. l. утворювали щільний кластер, відокремлений значними дистанціями від кластерів утворених представниками підродів *Aconitum* та *Lycoctonum*. На отриманому філогенетичному дереві наявні три основні монофілетичні клади, що відповідають підродам *Aconitum* і *Lycoctonum* та групі *A. anthora* s. l. Клада *Lycoctonum* виявилась сестринською до інших представників роду, а клади *Aconitum* та *A. anthora* s. l. – сестринськими між собою.

Висновки. Використання ділянки ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК для філогенетичного аналізу підтверджує необхідність надання групі *A. anthora* s. l. статусу окремого підроду в межах роду *Aconitum*. Висока генетична спорідненість між зразками *A. anthora* s. l. з території України свідчить про те, що видові епітети *A. eulophum*, *A. jacquinii* та *A. pseudanthora* варто розглядати як синоніми до *A. anthora*.

Ключові слова: генетичний поліморфізм; біорізноманіття; філогенія; таксономія; *Aconitum*; молекулярні маркери; рДНК

Y. O. Tynkevich¹, D. V. Biliai¹, O. V. Cherevatov¹, O. O. Kagalo², R. A. Volkov¹

¹ Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Department of Molecular Genetics and Biotechnology, Chernivtsi, Kotsiubynski str., 2, 58012, Ukraine, e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

²Institute of Ecology of the Carpathians of The National Academy of Sciences of Ukraine, Department of Natural Ecosystems, Lviv, Kozelnytska str., 4, 79026, Ukraine, e-mail: o.kagalo@nas.gov.ua

MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION OF UKRAINIAN REPRESENTATIVES OF THE COMPLEX SPECIES *ACONITUM ANTHORA* BASED ON THE ITS1-5.8S-ITS2 REGION OF THE NUCLEAR GENOME

Summary

Problem. The question of determining the boundaries of a species, in addition to the fundamental aspects, is of practical importance for nature conservation activities. One of the taxonomically problematic groups is the complex species *A. anthora* s. l. In the flora of Ukraine, four taxa with controversial status are distinguished within its borders, *A. anthora* L., *A. eulophum* Rchb., *A. jacquinii* Rchb. and *A. pseudanthora* Błocki ex Pacz. The last two species are included in the Red Book of Ukraine and the IUCN list. Determining the taxonomic position of these closely related forms requires the use of molecular genetic approaches. The ITS1-5.8S-ITS2 region of 35S rDNA is considered the most popular and informative marker for plant taxonomy and barcoding.

Aim. To clarify the taxonomic status and phylogenetic relationships of representatives of *A. anthora* s. l. using the molecular marker ITS1-5.8S-ITS2 of 35S rDNA.

Methods. Herbarium specimens of four representatives of the group *A. anthora* s. l. were collected on the territory of Western Ukraine. DNA was isolated by a modified CTAB method and then used for PCR amplification of the ITS1-5.8S-ITS2 region. PCR products were purified and Sanger sequenced. The sequences obtained were aligned with the sequences deposited in the GenBank database for representatives of two subgenera of the genus *Aconitum*, i.e. the nominative subgenus and the subgenus *Lycocotnum*. The resulting matrix was used for principal component analysis (PCA) and phylogenetic analysis using the Maximum Likelihood method.

Main results. The sequences of ITS1-5.8S-ITS2 that we obtained for *A. anthora*, *A. eulophum*, *A. jacquinii*, and *A. pseudanthora* samples were found to be almost identical. They differed from each other in only five of the 641 alignment positions. Among them, four out of five positions appeared to be polymorphic even within individual genomes. According to the results of PCA analysis, all four samples of *A. anthora* s. l. formed a dense cluster separated by significant distances from the clusters formed by representatives of the subgenera *Aconitum* and *Lycocotnum*. In the generated phylogenetic tree, three main monophyletic clades are present, which correspond to the subgenera *Aconitum* and *Lycocotnum* and the *A. anthora* s. l. group. The *Lycocotnum* clade was sister to other members of the genus, and the *Aconitum* and *A. anthora* s. l. clades were sister to each other.

Conclusions. The use of the ITS1-5.8S-ITS2 region of 35S rDNA for phylogenetic analysis confirms the need to grant the *A. anthora* s. l. group the status of a separate subgenus within the genus *Aconitum*. The high genetic affinity between samples of *A. anthora* s. l. from the territory of Ukraine indicates that the species names *A. eulophum*, *A. jacquinii*, and *A. pseudanthora* should be considered synonyms of *A. anthora*.

Key words: genetic polymorphism; biodiversity; phylogeny; taxonomy; *Aconitum*; molecular markers; rDNA

References

1. Andreev, I. O., Melnyk, V. M., & Kunakh, V. A. (2017). Polymorphism of 5S rDNA intergenic spacer in some *Gentiana* species. *Faktori eksperimental'noi evoliucii organizmiv*, (20), 42–46. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v20.731>
2. Panchuk, I. I., & Volkov, R. A. *Practical course in molecular genetics*. Chernivtsi: Ruta. 2007; 120 p.
3. Tynkevich, Y. O., Biliay, D. V., & Volkov, R. A. (2022). Utility of the *trnH-psbA* region for DNA barcoding of *Aconitum anthora* L. and related taxa. *Faktori eksperimental'noi evoliucii organizmiv*, (31), 134–41. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v31.1450>
4. Tynkevich, Y. O., Valin, M. O., & Volkov, R. A. (2022). Organization and polymorphism of the chloroplast genome region *psbA-trnH* in representatives of the *Goniolimon* Boiss. *Scientific Herald of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems)*, 14 (2), 137–142. <https://doi.org/10.31861/biosystems2022.02.124>
5. Tynkevich, Y. O., Derevenko, T. O., & Chorney, I. I. (2022). Phylogenetic relationships of Ukrainian accessions of *Lathyrus venetus* (Mill.) Wohlf. and *L. Vernus* (L.) Bernh. based on the analysis of the *psbA-trnH* region of the chloroplast genome. *Scientific Herald of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems)*, 14 (1), 135–140. <https://doi.org/10.31861/biosystems2022.02.124>
6. Anisimova, M., & Gascuel, O. (2006). Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. *Syst. Biol.*, 55, 539–552. <https://doi.org/10.1080/10635150600755453>
7. Boratyn, G. M., Camacho, C., & Zaretskaya, I. I. (2013). BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucl. Acid Res.*, 41 (W1), W29–33. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt282>
8. De Queiroz, K. (2005). Different species problems and their resolution. *BioEssays*, 27 (12), 1263–1269. <https://doi.org/10.1002/bies.20325>
9. Didukh, Y. P. *Chervonaknyha Ukrainy. Roslynnnyi svit (Red Data Book of Ukraine. Plant Kingdom)*. 2009. Kyiv: Global consulting.
10. Grimm, G. W., Schlee, M., & Hemleben, V. (2005). Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants. From plant taxonomy to evolutionary biology. *Nova Acta Leopold.*, NF, 92 (342), 129–145.
11. Guindon, S., & Gascuel, O. A. (2003). Simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst. Biol.*, 52 (5), 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
12. Hajrudinović-Bogunić, A., Frajman, B., & Bogunić, F. (2023). Apomictic mountain whitebeam (*Sorbusaustriaca*, Rosaceae) comprises several genetically and morphologically divergent lineages. *Biology*, 12 (3), 380. <https://doi.org/10.3390/biology12030380>
13. Hey, J. (2001). The mind of the species problem. *Trends Ecol. Evol.*, 16 (7), 326–329. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02145-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02145-0)
14. Hong, D. Y. (2020). Gen-morph species concept – A new and integrative species concept for outbreeding organisms. *J. Syst. Evol.*, 58 (5), 725–742. <https://doi.org/10.1111/jse.12660>
15. Ishchenko, O. O., Bednarska, I. O., & Panchuk, I. I. (2021). Application of 5S ribosomal DNA for molecular taxonomy of subtribe Loliinae (Poaceae). *Cytol. Genet.*, 55, 10–18. <https://doi.org/10.3103/S0095452721010096>
16. Jabbour, F., & Renner, S. S. (2012). A phylogeny of Delphinieae (Ranunculaceae) shows that *Aconitum* is nested within *Delphinium* and that Late Miocene transitions to long life cycles in the Himalayas and Southwest China coincide with bursts in diversification. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 62 (3), 928–942. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.12.005>
17. Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2017). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief. Bioinf.* 20 (4), 1160–6. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>

18. Kress, W. J. (2017). Plant DNA barcodes: Applications today and in the future. *J. Syst. Evol.*, 55 (4), 291–307. <https://doi.org/10.1111/jse.12254>
19. Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms, *Mol. Biol. Evol.*, 35 (635), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
20. Lakušić, D., Liber, Z., & Stefanović, S. (2013). Molecular phylogeny of the *Campanula pyramidalis* species complex (Campanulaceae) inferred from chloroplast and nuclear non-coding sequences and its taxonomic implications. *Taxon*, 62 (3), 505–524. <https://doi.org/10.12705/623.1>
21. Lykholat, Y. V., Rabokon, A. M., & Blume, Y. B. (2022). Characterization of β -tubulin genes in *Prunus persica* and *Prunus dulcis* for fingerprinting of their interspecific hybrids. *Cytol. Genet.*, 56 (6), 481–493. <https://doi.org/10.3103/S009545272206007X>
22. Mitka, J., Sutkowska, A., & Joachimiak, A. (2007). Reticulate evolution of high-alpine *Aconitum* (Ranunculaceae) in the Eastern Carpathians (Central Europe). *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.*, 49 (2), 15–26.
23. Novikov, A., & Mitka, J. (2023). Nomenclature, history and taxonomic identity of *Aconitum pseudanthora* Blocki (Ranunculaceae). *Adansonia*, 45 (23), 363–371. <https://doi.org/10.5252/adansonia2023v45a23>
24. Novikov, A., & Prylutskyi, O. (2023). Genus *Aconitum* (Ranunculaceae) in the Ukrainian Carpathians and adjacent territories. *Biodivers. Data J.*, 11, e98828. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e98828>
25. Onyshchenko, V. A., Mosyakin, S. L., & Protopopova, V. V. (2022). IUCN Red List categories of vascular plants species of Ukrainian flora. *M. G. Kholodny Institute of Botany of the NAS of Ukraine, Kyiv*, 197.
26. Porebski, S., Bailey, L. G., & Baum, B. R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 15 (1), 8–15. <https://doi.org/10.1007/bf02772108>
27. Rieseberg, L. H. (1997). Hybrid origins of plant species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 28 (1), 359–389. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.28.1.359>
28. Rieseberg, L. H., Wood, T. E., & Baack, E. J. (2006). The nature of plant species. *Nature*, 440 (7083), 524–527. <https://doi.org/10.1038/nature04402>
29. Tynkevich, Y. O., Boychuk, S. V., & Volkov, R. A. (2023). Molecular phylogeny and genetic diversity of Carpathian members of the genus *Muscari* Inferred from Plastid DNA Sequences. *Cytol. Genet.*, 57 (5), 387–398. <https://doi.org/10.3103/S0095452723050079>
30. Tynkevich, Y. O., Novikov, A. V., & Volkov, R. A. (2022). Organization of the 5S rDNA intergenic spacer and its use in the molecular taxonomy of the genus *Aconitum* L. *Cytol. Genet.*, 56 (6), 494–503. <https://doi.org/10.3103/S0095452722060111>
31. Wagner, N. D., Clements, M. A., & Nargar, K. (2021). Conservation in the face of hybridisation: genome-wide study to evaluate taxonomic delimitation and conservation status of a threatened orchid species. *Conserv. Genet.*, 22 (1), 151–168. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01325-y>
32. Wang, X., He, Z., & Wu, C. I. (2020). Genes and speciation: is it time to abandon the biological species concept? *Natl. Sci. Rev.*, 7 (8), 1387–1397. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwz220>
33. Waterhouse, A. M., Procter, J. B., & Barton, G. J. (2009). Jalview Version 2-a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinf.*, 25 (9), 1189–1191. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
34. *WFO World Flora Online*. (2023, October 7). Available from: <http://www.worldfloraonline.org/>

ЗООЛОГІЯ



[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).292580](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).292580)

УДК 595.44(477.74)

О. Ф. Делі, к.б.н., доцент

В. А. Трач, к.б.н., доцент

С. Я. Підгорна, к.б.н., доцент

К. Й. Черничко, к.б.н., доцент

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса,
вул. Дворянська, 2, 65082, Україна; e-mail: delijka@ukr.net

ПЕРША ЗНАХІДКА ВИДУ *OECOBIVS RHODIENSIS* KRITSCHER, 1966 (ARANEI: OECOBIVDAE) В ОДЕСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Вперше в Одеській області та вдруге в Україні відмічений павук *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 з родини Oecobiidae. Павук реєструється на стінах будівель, в під'їздах житлових будинків та на підвіконнях у квартирах. Найбільшу кількість особин павуків було відмічено на стінах будівель. Статевозрілі особини павуків відмічались протягом червня–липня.

Ключові слова: павуки; *Oecobius rhodiensis*; Одеська область; Україна

Родина Oecobiidae налічує 120 видів та шість родів павуків. Рід – *Oecobius* Lucas, 1846 містить в своєму складі 90 видів павуків, з яких 7 зареєстровані в Європі [12]. В Україні зареєстровано 4 види роду, при чому поширення всіх видів є обмеженим [9]. Вид *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 наразі відомий лише з Греції, Туреччини та України (Донецька обл.) [9]. Відомостей про біологію *Oe. rhodiensis* обмаль, тому метою нашої роботи було надати нову інформацію про поширення та біологію даного виду павука.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження проводили в природних умовах та антропогенно зміненому середовищі населених пунктів Одеської області протягом 2016–2022 рр. з квітня по грудень. Павуків збирали вручну. Зібраний матеріал фіксували у 70% розчині етанолу. Всього за весь період дослідження було зібрано 163 екземпляра статевозрілих павуків та 90 ювенільних особин.

Для визначення павуків використовували стереоскопічний мікроскоп МБС-10. Таксономічну приналежність павуків визначали за ключами, наведеними в електронному визначнику павуків Європи [9]. Колекційний матеріал зберігається у фондах кафедри зоології, гідробіології та загальної екології ОНУ імені І.І. Мечникова.

Результати дослідження та їх обговорення

Вперше в Одеській області та вдруге в Україні виявлений павук *Oecobius rhodiensis*. Всі види роду в Україні мають обмежене поширення. Наводимо нижче список павуків роду *Oecobius* фауни України та карту із точками їх знахідок (рис. 1).



Рис. 1. Знахідки павуків роду *Oecobius* в Україні: 1 – *Oe. cellariorum*; 2 – *Oe. maculatus*; 3 – *Oe. navus*; 4 – *Oe. rhodiensis*

Oecobius cellariorum (Dugès, 1836)

Поширення: країни Середземномор'я, Азербайджан, Іран, Йорданія, європейська частина Росії, інтродукований до Китаю, Японії, США, Україна (Херсонська обл.) [4, 5, 9].

Oecobius maculatus Simon, 1870

Поширення: країни Середземномор'я, Північно-Східна Європа, Україна (Крим), інтродукований до США та Мексики [4, 8, 9].

Oecobius navus Blackwall, 1859

Поширення: Європа, в т.ч. Україна (Київська та Чернігівська обл.), північна Африка, Туреччина, Кавказ, інтродукований до Північної Африки, Китаю, Кореї, Японії, Нової Зеландії, Канади, США [2, 3, 4, 9, 10, 11].

Oecobius rhodiensis Kritscher, 1966

Поширення: Греція, Туреччина, Україна (Донецька обл.) [4, 9].

Нові знахідки: Україна, Одеська обл., м. Одеса (106 екз.), м. Чорноморськ (28 екз.), м. Ізмаїл (29 екз.).

Діагностичні ознаки павуків родини Oecobiidae: мають розміри – 2–3 мм; 8 очей, які розташовані у два ряди (передні латеральні та задні медіальні очі

напівкруглі, срібного забарвлення, інші – круглі чорного кольору); карапакс серцеподібний, черевце овальне, задні павутинні бородавки з довгим серпоподібно вигнутим апікальним члеником; анальний горбок з пучком волосків [9].

В Одеській області павук є синантропним видом і зустрічається на зовнішніх стінах різних будівель та у будинках (на вікнах, у під'їздах). Найбільша кількість особин була відмічена на стінах будівель (75,5% від загальної кількості зібраного матеріалу). В м. Одеса на зовнішніх стінах будівель була відмічена найбільша кількість павуків – 80,8% особин. У м. Ізмаїл на стінах будівель було зареєстровано 69,0%, а у м. Чорноморськ – 64,3% (рис. 2). На стінах будинків, що добре освітлюються протягом дня кількість павуків була більшою. В під'їздах та у квартирах кількість павуків була значно меншою, від 11,3% до 28,6% та від 6,9% до 8,5% відповідно. Павуків у будинках (під'їзди та квартири) реєстрували з першого по четвертий поверх. З літератури відомо, що особини *Oecobius rhodiensis* зустрічаються під камінням, на руїнах будівель та безпосередньо в будівлях [4, 6, 7].

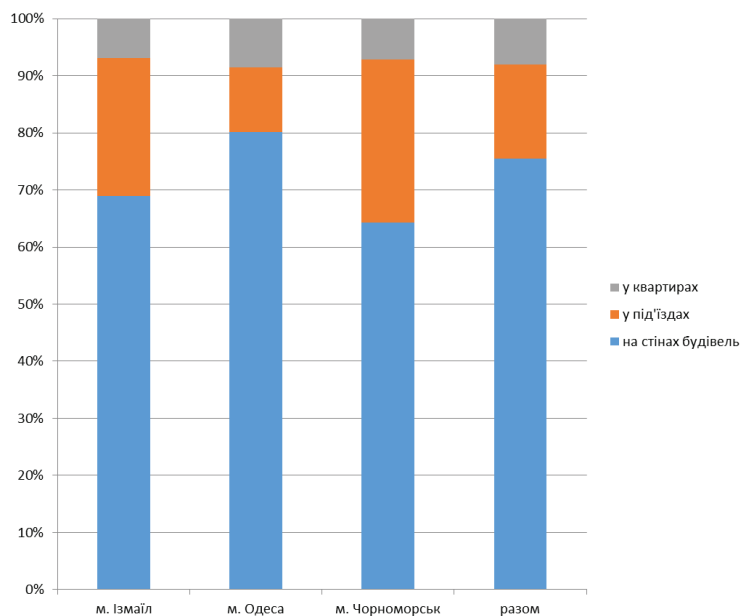


Рис. 2. Співвідношення екземплярів павука *Oecobius rhodiensis* в районі дослідження

В квітні і листопаді павуки відмічались лише в будівлях, а починаючи з травня по жовтень найбільша кількість особин відмічена на стінах будівель.

Павук *Oe. rhodiensis* будує невеликі плоскі тенета на стінах будівель, під якими павук переховується та полює на здобич (в тенетах переважно реєструвались дрібні двокрилі) (рис. 3).

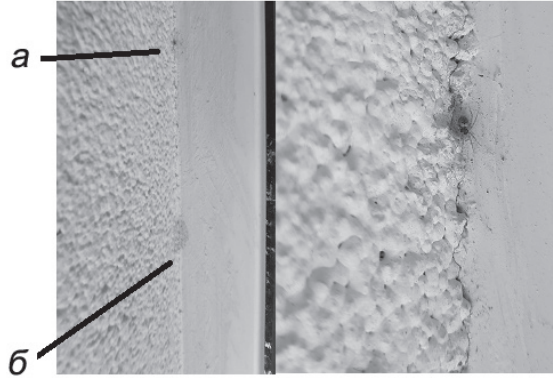


Рис. 3. Павук *Oecobius rhodiensis*: а – павук знаходиться у віконному отворі, б – тенета павука (фото Делі О. Ф., зроблено у м. Одеса, вул. Комітетська, 24; 17 травня 2023 р., час 16.00)

Статевозрілі самки і самці в районі дослідження були відмічені у червні–липні, одиничні екземпляри самок відмічались у серпні (рис. 4). Пік чисельності для павуків *Oe. rhodiensis* в районі дослідження припадає на червень (рис. 4). Самок у зборах було значно більше, ніж самців, на одного самця у зібраному матеріалі припадало 11 самок (всього було зібрано 15 самців та 148 самок).

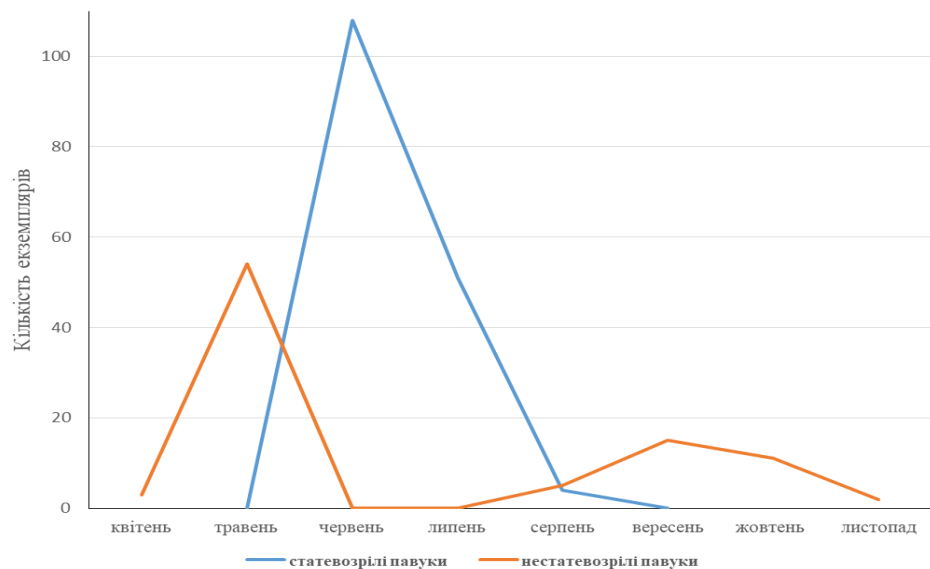


Рис. 4. Сезонна динаміка чисельності *Oecobius rhodiensis*

В літературних джерелах відмічається, що статевозрілі самці і самки в Греції, на о. Крит та в Туреччині відмічаються в травні [9]. Ймовірно це пов'язано з більш високими температурами повітря і ґрунту на Балканському півострові, оскільки відомо, що динаміка чисельності павуків пов'язана в першу чергу з кліматичними умовами, з кормовою базою та кількістю і активністю природних ворогів [1]. Нестатевозрілі екземпляри павуків *Oe. rhodiensis* в Одеській області реєструвались з квітня по листопад. Можна припустити, що павук *Oe. rhodiensis* потрапив в Одеську область за допомогою авіасполучення або сухопутним шляхом з Балкан або Малої Азії.

Висновки

1. Вперше в Одеській області та вдруге в Україні відмічений павук *Oecobius rhodiensis* Kraitsch, 1966 з родини Oecobiidae.

2. Павуки *Oe. rhodiensis* зареєстровані на стінах будівель, у під'їздах житлових будинків та на підвіконнях у квартирах. Найбільша кількість особин була відмічена на стінах будівель (75,5%).

3. Статевозрілі самці і самки відмічались у червні–липні, одиничні екземпляри самок реєструвались на початку серпня. Самки значно переважали у зборах.

Стаття надійшла до редакції 11.06.2023

Список використаної літератури

1. Делі О.Ф., Підгорна С.Я., Черничко К.Й. Розповсюдження та плодючість павука *Latrodectus tredecimguttatus* (Rossi, 1790) (Aranei: Theridiidae) в Одеській області (Україна). *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія»*. 2019. 32. С. 60–68.
2. Евтушенко К.В. Эвсинантропные пауки (Aranei) Черниговского Полесья. *Известия Харьковского энтомологического общества*. 2000. Т. 8(2). С. 184–185.
3. Евтушенко К.В., Сингаевский Е.Н. Эвсинантропные пауки (Arthropoda: Aranei) Киева. *Известия Харьковского энтомологического общества*. 2008. Т. 15(1–2). С. 223–225.
4. Прокопенко Е.В. Самая северная находка *Oecobius rhodiensis* Kraitsch, 1966 (Aranei: Oecobiidae). *Кавказский энтомологический бюллетень*. 2021. № 17(2). С. 333–335.
5. Федоряк М.М. Предварительные данные о синантропных пауках (Araneae) областных центров степной зоны Украины: *Экология, эволюция и систематика животных*: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Рязань, 17–19 ноября 2009 г.). Рязань, 2009. С. 149–151.
6. Bosmans R., Keer J. Van, Russell-Smith A., Kronstedt T., Alderweireldt M., Bosselaers J., Koninck H. De. Spiders of Crete (Araneae). A catalogue of all currently known species from the Greek island of Crete. *Nieuwsbrief van de Belgische Arachnologische Vereniging*. 2013. № 28(Suppl. 1). 147 p.
7. Demir H., Seyyar O., Aktaş M. Contributions to the knowledge of the genus *Oecobius* Lucas, 1846 from Turkey (Araneae: Oecobiidae). *Turkish Journal of Zoology*. 2009. № 33. P. 457–462. DOI: 10.3906/zoo-0806-16
8. Fedoriak M., Zhukovets E. The first records of *Pritha nana* (Filistatidae) and *Oecobius maculatus* (Oecobiidae) from the Crimea. *Book of Abstracts, Annual Zoological Congress of «Grigore Antipa» Museum* (Bucharest, Romania, 21–23 November 2013). 2013. P. 129.
9. Nentwig W., Blick T., Bosmans R., Gloor D., Hänggi A., Kropf C. Spiders of Europe. Version 05.2023. URL: <https://www.araneae.nmbe.ch> (дата звернення: 12.05.2023). DOI: 10.24436/1
10. Polchaninova N., Prokopenko E. An updated checklist of spiders (Arachnida: Araneae) of Left-Bank Ukraine. *Arachnologische Mitteilungen: Arachnology Letters*. 2019. № 57(1). P. 60–64. DOI: 10.30963/aramit5711
11. Polchaninova N. Yu., Prokopenko E.V. Catalogue of the spiders (Arachnida, Aranei) of Left-Bank Ukraine. *Arthropoda Selecta*. 2013. Supplement 2. 268 p.
12. World Spider Catalog. Version 23.5. 2023. URL: <http://wsc.nmbe.ch> (дата звернення: 12.05.2023). DOI: 10.24436/2

О. Ф. Делі, В. А. Трач, С. Я. Підгорна, К. Й. Черничко

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, біологічний факультет, кафедра зоології, гідробіології та загальної екології, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна; e-mail: delijka@ukr.net

ПЕРША ЗНАХІДКА ВИДУ *OECOBIVS RHODIENSIS* KRITSCHER, 1966 (ARANEI: OECOBIVDAE) В ОДЕСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Резюме

Актуальність. Родина Oecobiidae налічує 120 видів та шість родів павуків. Рід – *Oecobius* Lucas, 1846 містить в своєму складі 90 видів павуків, з яких 7 зареєстровані в Європі. В Україні зареєстровано 4 види роду, при чому поширення всіх видів є обмеженим. На сьогоднішній день відомо, що ареал павука *Oecobius rhodiensis* Kraitscher, 1966 має фрагментарний характер. Знахідки павука *Oe. rhodiensis* з родини Oecobiidae відомі з Греції, о. Крит, Туреччини та України (Донецька обл.). В статті наведено інформацію про реєстрацію, розповсюдження та фенологічні особливості павука *Oe. rhodiensis* з родини Oecobiidae в Одеській області (Україна).

Мета. Надати нову інформацію щодо розповсюдження та біології павука *Oecobius rhodiensis* Kraitscher, 1966.

Методи. Були використані стандартні методи збору павуків, а саме ручний збір. Матеріал збирали у 2016–2022 роках. Зібраний матеріал поміщали в ємності з 70% спирту та додавали етикетку. Таксономічну приналежність павуків визначали за ключами, наведеними в електронному визначнику павуків Європи.

Результати. Вперше в Одеській області та вдруге в Україні відмічений павук *Oecobius rhodiensis* Kraitscher, 1966 з родини Oecobiidae. Павук реєструється на стінах будівель, в під'їздах житлових будинків та на підвіконнях у квартирах. Павук *Oe. rhodiensis* будує невеликі плоскі тенета на стінах будівель, під якими павук переховується та полює на здобич. В квітні і листопаді павуки відмічались лише в будівлях, а починаючи з травня по жовтень найбільша кількість особин відмічена на стінах будівель. Найбільша кількість особин павуків була відмічена на стінах будівель. Статевозрілі особини павуків відмічались у червні–липні.

Ключові слова: павуки; *Oecobius rhodiensis*; Одеська область; Україна

O. F. Deli, V.A. Trach, S. Ya. Pidhorna, K. Y. Chernychko

Odesa I. I. Mechnikov National University, Faculty of Biology, Department of Zoology, Hydrobiology and General Ecology, 2, Dvorianska Str., Odesa, Ukraine, 65082; delijka@ukr.net

THE FINDING OF THE *OECOBIUS RHODIENSIS* KRITSCHER, 1966 (ARANEI: OECOBIIDAE) OF ODESA REGION

Summary

The Oecobiidae family includes 120 species and 6 genera of spiders. The genus *Oecobius* Lucas, 1846 contains 90 species of spiders. 7 of them are registered in Europe. 4 species of this genus are registered in Ukraine, and the distribution of all species is limited. Today, it is known that the range of the spider *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 has a fragmentary nature. Findings of the *Oe. rhodiensis* spider from the Oecobiidae family are known from Greece, island Crete, Turkey and Ukraine (Donetsk region). The article provides information about registration, distribution and phenological features of the *Oe. rhodiensis* spider, from the Oecobiidae family in Odesa region (Ukraine).

Aim. New information of the distribution and biology of the spider *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 was provided.

Methods. Standard spider collection methods were used, namely manual collection. The material was collected in 2016–2022. The collected material was placed in a container with 70% alcohol and a label was added. The taxonomic affiliation of spiders was determined by the keys given in the electronic identifier of spiders of Europe.

Results. The spider *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 from the family Oecobiidae was recorded for the first time in Odesa region and for the second time in Ukraine. These spiders were registered on the wall of buildings, in the entrances and on the windowsills of apartments. Spider *Oe. rhodiensis* builds small flat webs on the walls of buildings. Under these webs the spider hides and hunts prey. These spiders were observed only in buildings in April and November. Starting from May to October, the largest number of individuals was observed on the walls of buildings.

The largest number of spiders was observed on the walls of buildings. Adult spiders were observed in June-July.

Key words: spiders; *Oecobius rhodiensis*; Odesa region; Ukraine

References

1. Deli, O. F., Pidhorna, S. Ya., & Chernichko, K. Y. (2019). Rozpovsiudzhennia ta plodiuchist pavuka *Latrodectus tredecimguttatus* (Rossi, 1790) (Aranei: Theridiidae) v Odeskii oblasti (Ukraina) [Distribution and fecundity of the spider *Latrodectus tredecimguttatus* (Rossi, 1790) (Aranei: Theridiidae) in Odessa region (Ukraine)]. Bulletin of the Kharkov National University named after V.N. Karazin. Series «Biology», 32, 60–68 [in Ukrainian].
2. Evtushenko, K. V. (2000). Evsynantropnyie pauki (Aranei) Chernigovskogo Polesya [Eusynanthropic spiders (Aranei) of Chernihiv Polesia]. Izvestiya Kharkovskogo entomologicheskogo obschestva, 8(2), 184–185 [in Russian].
3. Evtushenko, K. V., & Syngaevsky, E. N. (2008). Evsynantropnyie pauki (Arthropoda: Aranei) Kiev [Eusynanthropic spiders (Arthropoda: Aranei) of Kiev]. Izvestiya Kharkovskogo entomologicheskogo obschestva, 15(1–2), 223–225 [in Russian].

4. Prokopenko, E. V. (2021). Samaya severnaya nahodka *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 (Aranei: Oecobiidae) [The northernmost record of *Oecobius rhodiensis* Kritscher, 1966 (Aranei: Oecobiidae)]. Caucasian Entomological Bulletin, 17(2), 333–335 [in Russian].
5. Fedoriak, M. M. (2009). Predvaritelnyie dannyye o sinantropnyih paukah (Araneae) oblastnyih tsentrov stepnoy zony Ukrainy [Preliminary data on synanthropic spiders (Araneae) of the regional centres of the steppe zone of Ukraine]. Ekologiya, evolyutsiya i sistematika zhyvotnyih [Ecology, evolution and systematics of animals]. Ryazan: Golos gubernii, 149–151.
6. Bosmans, R., Van Keer, J., Russell-Smith, A., Kronstedt, T., Alderweireldt, M., Bosselaers, J., & Koninck, H. De (2013). Spiders of Crete (Araneae). A catalogue of all currently known species from the Greek island of Crete. Nieuwsbrief van de Belgische Arachnologische Vereniging, 28 (Suppl. 1), 147 p.
7. Demir, H., Seyyar, O., & Aktaş, M. (2009). Contributions to the knowledge of the genus *Oecobius* Lucas, 1846 from Turkey (Araneae: Oecobiidae). *Turkish Journal of Zoology*, 33, 457–462. DOI: 10.3906/zoo-0806-16
8. Fedoriak, M., & Zhukovets, E. (2013). The first records of *Pritha nana* (Filistatidae) and *Oecobius maculatus* (Oecobiidae) from the Crimea. Book of Abstracts, Annual Zoological Congress of «Grigore Antipa» Museum. Bucharest, 2013. 129.
9. Nentwig, W., Blick, T., Bosmans, R., Gloor, D., Hänggi, A., & Kropf, C. (2023, May 12) Spiders of Europe. Version 05.2023. <https://www.araneae.nmbe.ch> DOI: 10.24436/1
10. Polchaninova, N., & Prokopenko, E. (2019). An updated checklist of spiders (Arachnida: Araneae) of Left-Bank Ukraine. Arachnologische Mitteilungen: Arachnology Letters, 57(1), 60–64. DOI: 10.30963/aramit5711
11. Polchaninova, N. Yu., & Prokopenko, E. V. (2013). Catalogue of the spiders (Arachnida, Aranei) of Left-Bank Ukraine. Arthropoda Selecta, Supplement 2, 268 p.
12. World Spider Catalog. Version 23.5. (2023, May 12). <http://wsc.nmbe.ch> DOI: 10.24436/2

**ФІЗІОЛОГІЯ
ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН**



[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293324](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293324)

УДК 547.892/577.322.21;615(213/212.3)

V. B. Larionov¹, doctor of biological sciences, head of the laboratory

M. Ya. Golovenko¹, academician of NAMS of Ukraine, doctor of biological sciences, professor

A. S. Akisheva², PhD student

I. P. Valivodz¹, candidate of biological sciences, junior researcher

I. Yu. Borysiuk³, doctor of pharmaceutical sciences, professor

Yu. O. Molodan², PhD student

O. A. Makarenko², doctor of biological sciences, professor

¹ A. V. Bogatskiy Physical-Chemical Institute of the NAS of Ukraine, Odesa, Lyustdorfska road St., 86, 65080, Ukraine

² Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Physiology, Human Health and Safety and of Natural Science Education, Odesa, Dvorianska Str., 2, 65082, Ukraine

³International Humanitarian University. Department of general and clinical pharmacology, Odesa, Fontanskaya road, 23a, 65016, Ukraine
e-mail: alinaakisheva@stud.onu.edu.ua

MOLECULAR INSIGHTS INTO PROPOXAZEPAM INTERACTION WITH TRPV1 RECEPTORS: A DOCKING ANALYSIS

In this study, we used molecular docking modelling to investigate the interaction between propoxazepam (new analgesic), and the transient receptor potential vanilloid type 1 receptors. Propoxazepam has the necessary pharmacophoric features of the pharmacophore model of TRPV1 ligands. Propoxazepam creates hydrogen bond between TYR511 of the TRPV1 receptor as well as referent ligand SB-366791.

Key words: docking; propoxazepam; TRPV1 receptor; pain; binding; 1,4-benzodiazepines

Pain is a frequent reason for patients to go to a medical facility [18]. An alternative way to treat pain without addiction is by targeting receptors that are at the origin of the pain pathway, such as transient receptor potential (TRP) ion channels. TRPV1, the vanilloid TRP channel subfamily's founding member, is one of the most popular targets for pain therapy. The need for TRPV1 inhibitors that are specific for pain treatment goes beyond pain treatment and covers other diseases related to this channel, such as psychiatric disorders [15]. TRPV1 (Transient receptor potential vanilloid 1) is a member of the vanilloid TRP (transient receptor potential) channel family, similar to voltage-gated potassium channels, and it is present in both the central nervous system and peripheral blood vessels. Inflammatory bowel syndrome (IBS), osteoarthritis, rheumatoid arthritis, postherpetic neuralgia (PHN), and cystitis are all

pathophysiological conditions that TRPV1 is involved in. This makes understanding this receptor essential for the treatment of many different disorders. Reducing pain perception and itch sensation in pathological conditions can be achieved through the use of TRPV1, which has been shown to be a promising therapeutic target. There are two ways that TRPV1 can be targeted pharmacologically, either it can be desensitized by vanilloids by agonists or blocked by antagonists. TRPV1 agonists have therapeutic effects by desensitizing pain-conducting nerve fibres, which is a contributing factor to analgesic effects. Desensitization to TRPV1 agonists (eg, capsaicin and resiniferatoxin) is a powerful approach to alleviate nociceptive behavioural symptoms in animal models of chronic pain [4,8,17]. The vanillyl group is the predominant ingredient in most potent TRPV1 agonists reported until now, but several examples demonstrate that this group can be substituted by similar chemical groups. Recently, it was discovered that the TRPV1 agonist MDR-652 has a 3-fluoro-4-(hydroxymethyl)phenyl group instead of a vanillyl group (table 1). TRPV1 antagonists exhibit analgesic and anti-inflammatory effects in neuropathic pain [4]. Heat, protons, and chemical ligands are the three modes of TRPV1 activation that TRPV1 antagonists selectively block [7].

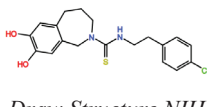
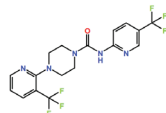
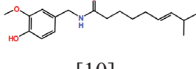
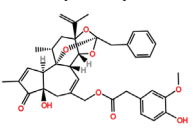
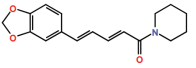
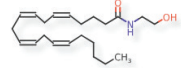
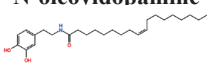
In vitro and in vivo studies revealed that SB-366791 (N-(3-methoxyphenyl)-4-chlorocinnamide), the cinnamamide antagonist, had a high affinity for inhibiting TRPV1, but it did not exhibit little effect on a panel of 47 different targets, including G-proteins and voltage-dependent calcium channels. SB-366791, a TRPV1-specific inhibitor, is a promising candidate for treating TRPV1-related pain. The use of SB-366791 has been implicated in treating TRPV1-mediated inflammatory pain by blocking glutamatergic transmission in a specific set of neurons through a pre-synaptic TRPV1-dependent mechanism after peripheral inflammation [15]. The innovative drug «Propoxazepam», which was created by the scientists of the O. V. Bogatsky Institute of Physics and Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine and CAR «INTERCHIM», has an original pharmacodynamic profile, since it simultaneously inhibits acute and chronic pain and exhibits anti-inflammatory and anticonvulsant effects [2]. Propoxazepam also interacts with other biological targets responsible for the course of pain: glycine receptors, dopaminergic system, NMDA receptors, alpha-1 adrenoceptors [1]. **The aim of the study:** the study of interactions of ligands with the TRPV1 receptor by molecular docking and analysis of components of these interactions.

Materials and methods

In order to study the binding energy of the TRPV1 receptor with the researched compounds 8GFA – Cryo-EM structure of human TRPV1 in complex with the analgesic drug SB-366791 was utilized. The protein was modelled by using Protein Preparation of Schrödinger Suite; to prepare the protein structure, hydrogen atoms were added and hydrogen bonds were optimized. The ligands were prepared by

Table 1

**General information about agonists and antagonists of TRPV1 receptor
(Schemes of chemical structures have been created by Draw Structure NIH)**

	Ligands of TRPV1 receptor	Description
Antagonist	Capsazepine  Draw Structure NIH	Capsazepine consists of a 2,3,4,5-Tetrahydro-1H-2-benzazepine-7,8-diol in place of the vanillyl group. Blocking the activation of TRPV1 and transient receptor potential cation channel subfamily A member 1 (TRPA1) is possible with it [3].
	JNJ – 17203212  [9]	It is an TRPV1 receptor antagonist. The drug exerts potent antinociceptive and antitussive actions. It is developing by Johnson & Johnson for the treatment of pain and cough [9].
Agonist	Capsaicin  [10]	Capsaicin, a botanical irritant naturally present in chili peppers, is synthetically produced for pharmaceutical uses. TRPV1, a complex of ion channels and receptors that is expressed on nociceptive nerve fibres in the skin, is agonised by this substance [10]. Capsaicin's initial exposure activates TRPV1 ligand gated channels on the primary afferent nociceptive neurons, it leads to depolarization, the beginning of an action potential, and the transfer of pain signals to the spinal cord. Following this, there is a prolonged refractory period called desensitization. If the dose is too much, it leads to a more durable local desensitization called defunctionalization [8].
	Resiniferatoxin (RTX)  [11]	<i>Euphorbia resiniferous</i> (cactus-like plant) is the source of Resiniferatoxin (RTX or RTX-107) which is an anti-inflammatory vanilloid. This substance acts as an agonist for the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1). Desensitizing the TRPV1 receptor causes resiniferatoxin to cause analgesia [11].
	Piperine  [12]	The seeds of black pepper (<i>Piper nigrum</i>) contain a simple and pungent alkaloid known as piperine. Piperine activates TRPV1 by directly interacting with the pore-forming S6 segment, in a manner distinct from that of capsaicin [6]. The properties of piperine include immunomodulation, anti-ulcer, anti-oxidation, anti-carcinogenic, anti-asthmatic, anti-inflammatory and anti-amoebic [12].
	Anandamide  [13]	Anandamide is a neurotransmitter that is involved in the regulation of cannabinoid receptors. It has an anti-proliferative effect that is associated with a decrease in cells in the S phase of the cell cycle. In mice, Anandamide has a positive impact on motivation and eating behaviour [13].
	N-oleoyldopamine  [14]	N-oleoyldopamine is a lipid compound that comes from the mammalian brain. It has been proven that it is a capsaicin receptor (TRPV1) agonist. The capsaicin receptor activation leads to glutamate release and postsynaptic firing in the paraventricular nucleus. Calcium influx can be induced by N-oleoyldopamine in TRPV1-transfected HEK293 human embryonic kidney cells, as reported [14].

LigPrep module of Schrödinger suite before proceeding for docking [16]. The docking and QSAR prediction were carried out with propoxazepam, its possible metabolite 3-hydroxopropoxazepam, diazepam, oxazepam, SB-366791, RTX, capsazepin, capsaicin. The QSAR build model using the automated QSAR panel of Maestro Schrödinger Suite. For building QSAR model we used 408 TRPV1 antagonists being comparable between each other. List of these substances we took from Supporting Information of the article of Pharmacoinformatics Research Group Univ.-Prof. Dr. Gerhard F. Ecker. Department of Pharmaceutical Sciences Division of Pharmaceutical Chemistry University of Vienna. The dataset had an IC50 range between 0.4 and 17490 nM. The capsazepine activity is determined to be 100 nM in this assay type. This value was used as a threshold to categorize compounds into active and inactive in their ability to block the receptor after capsaicin activation. A dataset with 201 active compounds and 207 inactive compounds was produced as a result [18].

Molecular docking: The location of the referent ligand (the analgesic drug SB-366791) was used to determine automatic binding site detection. The quality of geometric contacts and their energy were used to calculate the interaction between protein and ligand complexes. The following formulas were used to rank the ligands based on their G-scores $G\text{-score} = (0.05 \cdot \text{vdW}) + (0.15 \cdot \text{Coul}) + \text{Lipo} + \text{Hbond} + \text{Metal} + \text{Rewards} + \text{RotB} + \text{Site}$ (1), where vdW was the Van der Waals energy, Coul represents the Coulomb energy, Lipo term explains the Lipophilic, Rewards describes the favorable hydrophobic interactions, Hbond means Hydrogen-bonding term, Metal gives the information about metal-binding RotB tells about penalty for freezing rotatable bonds and Site defines polar interactions in the active site. To perform binding free energy calculations for MM-GBSA, the Prime module in the Schrödinger Suite was utilized. The binding energy is calculated according to the equation: $DG_{\text{bind}} = E_{\text{complex}}(\text{minimized}) - E_{\text{ligand}}(\text{minimized}) - E_{\text{receptor}}(\text{minimized})$ [16].

Results and discussion

Pharmacophore modelling. Capsaicin-like TRPV1 ligands have a well-defined pharmacophore consisting of a sequential arrangement of three chemical elements: aryl interaction head, neck (H-bond interaction linker), and tail group (the lipophilic chain). It is possible to identify these pharmacophoric features in TRPV1 agonists and antagonists. The vanilloid group (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) is located in the head region of capsaicin ligand [4]. A wide variety of synthesized TRPV1 ligands such as catechol-containing structures, 2,3-dihydro-1,4-benzodioxine derivatives, 3-fluoro-4-(methylsulfonylamino) phenyl-containing structures, and chalcones have been reported in recent decades that contain other groups rather than a vanilloid moiety [5].

We built a pharmacophore model based on a list of ligands taken from the Supporting Information of the article of Research Group Dr. Gerhard F. Ecker. In the obtained pharmacophore model, it is possible to distinguish such parts of the ligand as aryl interaction region A, amide B-region, and the hydrophobic chain C.

The propoxazepam we are studying is one of the alkoxy derivatives of 1,4-benzodiazepine. Propoxazepam has the necessary pharmacophoric features: region A-benzene ring, which is connected to a seven-membered diazepine ring and aryl substituent in position 5; region B – the amide group (NH-C=O). This group contains a hydrogen atom that can act as a hydrogen bond donor and the carbonyl oxygen that can act as a hydrogen bond acceptor. This makes it an important site for interactions with other molecules, such as receptors or other proteins in the body; region C – alkoxy group (fig. 1).

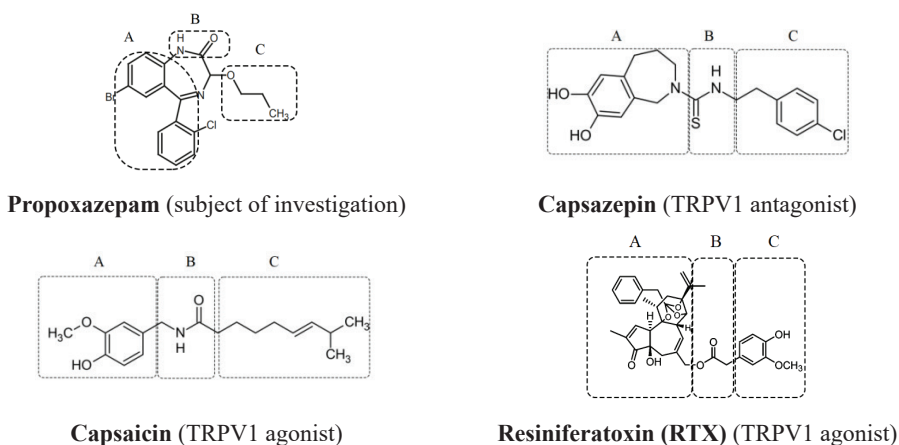


Fig. 1 Structures of ligands pharmacophoric features prepared by Maestro Schrödinger Suite. (A - Aryl interaction head, B – H -bond interaction linker, C – Hydrophobic tail)

Docking analyses using GLIDE module. The study of the docking of ligands with the active centres of the protein was carried out using the advanced molecular docking program Maestro Schrödinger Suite to determine the binding affinity of the compounds. Docking results allowed for the determination of the interaction's gscore values, as well as its components – hydrophobic interactions and hydrogen bonding for researched ligands in the binding site of TRPV1 receptor were determined (fig. 2). Molecular docking was provided for each molecule of ligand per subunit of hTRPV1 tetramer. The interactions within each binding site are determined by the contribution of specific amino acid residues to the overall process, which determine the strength and type of the interaction. The docking results were analysed by using docking score (calculated noncovalent three-dimensional interactions between a ligand and a protein).

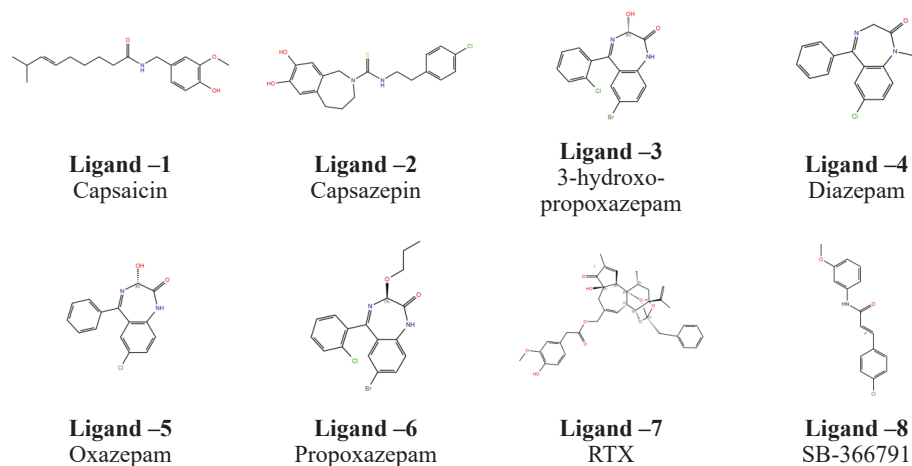


Fig. 2 Structures of the investigated compounds prepared by LigPrep module

Table 2

Docking scores using GLIDE module chain A of TRPV1 receptor

Ligand	docking score	gscore	lipo ¹	hbond ²	evdw ³	ecoul ⁴	other interaction types ⁵
1	-7.71	-7.71	-3.73	-0.30	-39.98	-9.01	-0.33
2	-6.39	-6.40	-3.18	0	-32.18	-4.09	-0.99
3	-6.49	-6.49	-2.43	0	-29.38	-6.11	-1.68
4	-7.66	-7.66	-3.05	-0.21	-28.39	-4.67	-2.29
5	-6.82	-6.82	-2.60	0	-26.09	-5.17	-2.41
6	-7.30	-7.30	-3.15	-0.57	-35.73	-4.52	-1.12
7	-8.23	-8.23	-4.02	-0.32	-46.03	-4.67	-0.9
8	-9.54	-9.54	-4.48	-0.32	-42.82	-6.50	-1.64

¹lipo (lipophilic contact), ²hbond (hydrogen bond), ³evdw (Van der Waals energy), ⁴ecoul (Coulomb energy), ⁵other interaction type (metal-binding + rewards + penalty for freezing rotatable bonds + polar interactions in the active site)

The findings indicate that the reference compound SB-366791 has the lowest docking scores and MMGBSA free energy of binding across binding sites on all four chains, which means that this compound has the best affinity for the TRPV1 receptor than the other ligands. Specifically, the docking score of propoxazepam (–7.30 kcal/mol) indicates a stronger interaction with the TRPV1 receptor compared to oxazepam (–6.82 kcal/mol), 3-hydroxypropoxazepam (–6.49 kcal/mol), and

capsazepin (-6.39 kcal/mol). The docking score of propoxazepam in chain C and B is lower than that of diazepam, resulting in stronger interaction than that of diazepam (table 2). The binding energy were analysed by using MMGBSA_dG_Bind (Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area) (table3).

Table 3

Energy of binding of receptor ligand complex calculated using Prime MMGBSA method chain A of TRPV1 receptor

Li-gand	MMGBSA_dG_Bind	Coulomb ¹	Covalent ²	H-bond ³	Lipo ⁴	Packing ⁵	Solv_GB ⁶	vdW ⁷
1	-61.98	-26.45	2.09	-1.53	-29.45	-0.44	37.67	-43.88
2	-48.45	-15.09	-0.46	-0.83	-25.12	-2.39	27.59	-32.15
3	-38.01	-18.48	7.67	-1.01	-15.89	-0.63	20.97	-30.65
4	-43.14	-13.40	4.54	-0.42	-21.35	-0.72	16.18	-27.95
5	-37.51	-16.81	4.18	-1.02	-18.44	-0.52	23.46	-28.37
6	-40.96	-15.60	8.51	-1.27	-23.59	-0.59	30.53	-38.95
7	-61.12	-13.09	4.96	-0.70	-36.81	-0.25	41.22	-56.45
8	-71.63	-18.84	0.799	-0.77	-29.01	-1.22	24.22	-46.83

¹Coulomb (Coulomb energy), ²Covalent (Covalent binding energy), ³H-bond (Hydrogen-bonding correction), ⁴Lipo (Lipophilic energy), ⁵Packing (Pi-pi packing correction), ⁶Solv_GB (Generalized Born electrostatic solvation energy), ⁷vdW (Van der Waals energy)

Furthermore, propoxazepam demonstrates a lower value of MMGBSA free energy of binding compared to oxazepam and 3-hydroxopropoxazepam. When considering the increase in the free energy of interactions, the ligands can be ranked as follows: SB-366791 > Capsaicin > RTX > Capsazepin > Propoxazepam > Diazepam > 3-hydroxopropoxazepam > Oxazepam. However, in chains B, C, and D, propoxazepam has a better MMGBSA free energy value than capsazepin (table 3). It's important to note that, as per the glide module, propoxazepam exhibits the largest contribution of hydrogen bonds in the energy of interaction with the receptor. Additionally, the prime MMGBSA method also shows that one of the highest contribution hydrogen bonds in free energy of binding belongs to propoxazepam, second only to capsaicin.

Propoxazepam establishes two hydrogen bonds: one involving the NH group of the amide (resulting in a hydrogen bond interaction with the linker-neck) and THR550 of the protein, and another between oxygen of the alkoxy group (hydrophobic tail) and TYR511 of the TRPV1 receptor. Other benzodiazepines also form hydrogen bonds with the receptor. For instance, 3-hydroxopropoxazepam and oxazepam create a hydrogen bond between the hydroxyl group of the diazepam ring and TYR511, and 3-hydroxopropoxazepam additionally establishes another hydrogen bond between the NH group of the amide group of the diazepam ring and THR550. Diazepam

interacts with the receptor through hydrogen bonding by utilizing oxygen of the amide group with TYR511. Ligands with confirmed effects on the TRPV1 receptor also engage in interactions with the protein by forming hydrogen bonds with the same amino acids as the benzodiazepines, namely THR550 and TYR511. Capsaicin uses oxygen of the amide group to form a hydrogen bond with THR511 of the receptor and the hydroxyl group of the benzene ring with GLU570. Capsazepin establishes a hydrogen bond via its OH group with THR550. In the interaction between RTX and the TRPV1 receptor, TYR511 plays a crucial role as this amino acid forms a hydrogen bond with the ester group of region B. Regarding the reference compound SB-366791, it forms a single hydrogen bond between the oxygen of its amide group and TYR511 (fig. 3).

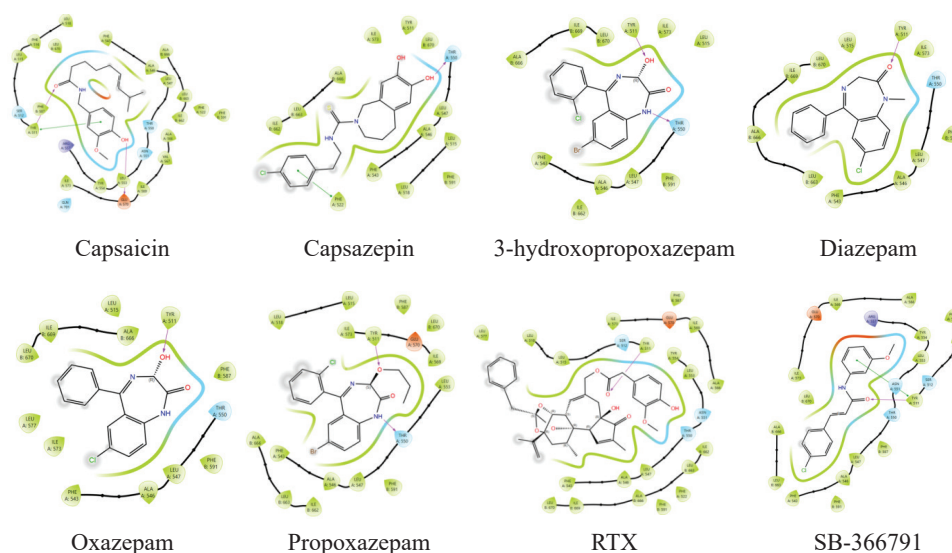


Fig. 3 Visualization of location in specific binding site of investigated ligands in the binding site of TRPV1 prepared by Maestro Schrödinger Suite

QSAR analyse. In the research, the model `kpls_desc_19` was chosen because it demonstrates the highest score 0,63. This model has an R-squared value for the regression (the coefficient of determination) is 0.6445, which is the second-highest among the models. R-squared measures how well the model fits the training data, and a value of 0.6445 indicates a reasonably good fit. «`kpls_desc_19`» has an RMSE of 0.6601, which is not the lowest but is still competitive. RMSE measures the average prediction error, and lower values are preferred. While it's not the lowest RMSE, it's still within an acceptable range. «`kpls_desc_19`» has a Q^2 value of 0.6430, indicating good predictive performance on new, unseen data. This suggests that the model is likely to make accurate predictions beyond the training dataset. Q^2 MW

(Null hypothesis): Chosen model has a Q^2 MW value of 0.0042, which is positive and suggests that it performs significantly better than a null hypothesis model. This is important because it indicates that the model has genuine predictive power (fig.4).

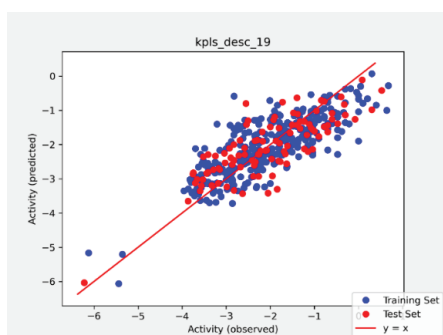


Fig.4 The best model *kpls_desc_19* created by Maestro Schrödinger Suite was used for observation and prediction of training and test set activity.

Because of the minus sign, higher pIC50 values indicate exponentially more potent inhibitors. Diazepam and Oxazepam have the lowest predicted pIC50 values, indicating that the model predicts them to be less potent among the compounds. Propoxazepam has the highest predicted pIC50, it means that the model predicts it to be the most potent among the compounds (table 4).

Table 4

Predicted IC50 of investigated compounds using best model *kpls_desc_19*

	3-hydroxopropoxazepam	Diazepam	Oxazepam	Propoxazepam
Pred pIC50	-1.958	-2.283	-2.253	-1.115

Lower pIC50 values (closer to negative infinity) suggest lower potency, meaning that the compound has a weaker affinity for the target and is less likely to affect the target's activity significantly. In our case, with a pIC50 value of -1.115, propoxazepam is predicted to have relatively low potency or affinity for TRPV1, but this value is higher than other ligands.

Conclusions:

1. Propoxazepam has the necessary pharmacophoric features of pharmacophore model of TRPV1 ligands: aryl interaction head (benzene rings), H-bond interaction linker (the amide group (NH-C=O)), hydrophobic tail (alkoxy group).

2. The docking score of propoxazepam (-7.30 kcal/mol) indicates a stronger interaction with the TRPV1 receptor compared to oxazepam (-6.82 kcal/mol), 3-hydroxopropoxazepam (-6.49 kcal/mol), and capsazepin (-6.39 kcal/mol).

Propoxazepam creates hydrogen bond with TYR511 of the TRPV1 receptor as referent ligand SB-366791. Propoxazepam exhibits one of the largest contributions of hydrogen bonds in the energy of interaction with the receptor.

3. According to QSAR modelling, all studied compounds (3-hydroxopropoxazepam, diazepam, oxazepam, propoxazepam) have low pIC₅₀ values, which could indicate a relatively low potency or affinity for TRPV1.

The research paper was received October 31, 2023

References

1. Волощук Н. І., Редер А. С., Головенко М. Я. Фармакологічний аналіз нейрохімічних антиноцицептивних механізмів дії пропоксазепаму. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 3–11.
2. Головенко М. Я. Пропоксазепам – інноваційний анальгетик, який пригнічує гострий і хронічний біль і має полімодальний механізм дії. *Вісник НАН України*. 2021. № 4. С. 76–90. <https://doi.org/10.15407/vissn2021.04.076>.
3. Adinolfi B., Romanini A., Vanni A. Anticancer activity of anandamide in human cutaneous melanoma cells. *Eur J Pharmacol*. 2013. Vol. 718 (1–3). P. 154–159 <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.08.039>.
4. Caballero J. A new era for the design of TRPV1 antagonists and agonists with the use of structural information and molecular docking of capsaicin-like compounds. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2022. Vol. 37(1). P. 2169–2178. <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2110089>.
5. Caballero J. Computational Modeling to Explain Why 5,5-Diarylpentadienamides are TRPV1 Antagonists. *Molecules*. 2021. Vol. 26 (6) P. 1765. <https://doi.org/10.3390/molecules26061765>.
6. Dong Y., Yin Y., Vu S., Yang F., Yarov-Yarovoy V., Tian Yu., Zheng J. A distinct structural mechanism underlies TRPV1 activation by piperine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol. 516 (2). 2019. P. 365–372 <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.06.039>.
7. Garami A., Shimansky Yu. P., Pakai E., Oliveira D.L., Gavva N.R., Romanovsky A.A. Contributions of Different Modes of TRPV1 Activation to TRPV1 Antagonist-Induced Hyperthermia. *J Neurosci*. 2010. Vol. 30(4). P. 1435–1440. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5150-09.2010>.
8. Kornwasser M. Capsaicin and Analgesia. *The Science Journal of the Lander College of Arts and Sciences*. 2019. Vol. 12. No. 2. P. 19–23.
9. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). JNJ-17203212. URL: <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22JNJ-17203212%22>
10. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Capsaicin. URL: <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22CAPSAICIN%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
11. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Resiniferatoxin. URL: <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22RESINIFERATOXIN%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
12. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Piperine. URL: <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22PIPERINE%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
13. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Anandamide. URL: <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22ANANDAMIDE%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
14. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Oleoyldopamine. URL: <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22N-OLEOYLDOPAMINE%22>
15. Neuberger A., Oda M., Nikolaev Yu. A., Nadezhdin K.D., Gracheva E.O., Bagriantsev S.N., Sobolevsky A. I. Human TRPV1 structure and inhibition by the analgesic SB-366791. *Nature Communications*. 2023. No. 14 <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9>.
16. Glide 6.7. User manual. Schrödinger, LLC. 2015. URL: https://gohom.win/ManualHom/Schrodinger/Schrodinger_2015-2_docs/glide/glide_user_manual.pdf
17. Trevisani M., Gatti R. TRPV1 Antagonists as Analgesic Agents. *The Open Pain Journal*. 2013. Vol. 6. P. 108–118. <https://doi.org/10.2174/1876386301306010108>.
18. Tsareva D.A., Ecker, G. F. How Far Could We Go with Open Data – A Case Study for TRPV1 Antagonists. *Mol Inform*. 2013. Vol. 32(5–6). P. 555–562. <https://doi.org/10.1002/minf.201300019>.

**В. Б. Ларіонов¹, М. Я. Головенко¹, А. С. Акішева², І. П. Валіводзь¹,
І. Ю. Борисюк³, Ю. О. Молодан², О. А. Макаренко²**

¹ Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України,
Одеса, Люстдорфська дор., 86, 65080, Україна

² Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра
фізіології, охорони здоров'я та безпеки людини та природничо-наукової
освіти, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна

³ Міжнародний гуманітарний університет. Кафедра загальної та клінічної
фармакології, Одеса, Фонтанська дор., 23а, 65016, Україна
e-mail: alinaakisheva@stud.onu.edu.ua

МОЛЕКУЛЯРНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ВЗАЄМОДІЮ ПРОПОКСАЗЕПАМУ З РЕЦЕПТОРАМИ TRPV1: ДОКІНГ-АНАЛІЗ

Резюме

Проблема. Знеболююча терапія залишалася концептуально незмінною після опіюїдної кризи, яка підкреслила небезпеку лікування болю опіюїдами. Рецептори TRPV1 та їх ліганди стали багатообіцяючими мішенями для лікування різних больових станів, включаючи запальний і нейропатичний біль. Подальші дослідження механізмів активації та десенсибілізації рецепторів TRPV1, а також дослідження нових лігандів з підвищеною вибірковістю та ефективністю мають потенціал для полегшення тягара хронічного болю.

Мета. Вивчення взаємодії лігандів з рецептором TRPV1 шляхом молекулярного докінгу та аналіз компонентів цих взаємодій.

Методика. З метою вивчення енергії зв'язку рецептора TRPV1 з досліджуваними сполуками 8GFA – була використана структура Cryo-EM людини TRPV1 у комплексі з анальгетиком SB-366791. Докінг і QSAR-прогноз проводили з пропоксазепамом, його можливим метаболітом 3-гідроксопропоксазепамом, діазепамом, оксазепамом, SB-366791, RTX, капсазепіном, капсаїцином. Докінг аналіз та створення QSAR моделі проводили за допомогою Maestro Schrödinger Suite.

Основні результати. Пропоксазепам має необхідні фармакофорні властивості для зв'язування з рецептором TRPV1: область А-бензольне кільце; область В – амідна група (NH-C=O); область С – алкоксигрупа. Докінг-оцінка пропоксазепаму (-7,30 ккал/моль) вказує на сильнішу взаємодію з рецептором TRPV1 порівняно з оксазепамом (-6,82 ккал/моль), 3-гідроксопропоксазепамом (-6,49 ккал/моль) і капсазепіном (-6,39 ккал/моль). Розглядаючи збільшення вільної енергії взаємодії, ліганди можна ранжувати наступним чином: SB-366791 > Капсаїцин > RTX > Капсазепін > Пропоксазепам > Діазепам > 3-гідроксопропоксазепам > Оксазепам. Пропоксазепам створює два водневі зв'язки: один за участю NH-групи амідну (що призводить до взаємодії водневого зв'язку з лінкерною шийкою) і THR550 білка, а інший – між киснем алкоксигрупи (гідрофобний хвіст) і TYR511 рецептору TRPV1. Ліганди з підтвердженою дією на рецептор TRPV1 також вступають у взаємодію з білком, утворюючи водневі зв'язки з тими ж амінокислотами, що й бензодіазепіни, а саме THR550 і TYR511. Передбачається, що пропоксазепам має відносно низьку

ефективність або спорідненість з TRPV1 (прогнозований показник pIC_{50} становить $-1,115$), але це значення вище, ніж у інших лігандів.

Висновки. Оскільки пропоксазепам має необхідні фармакофорні властивості фармакофорної моделі лігандів TRPV1, він теоретично може зв'язуватися з цим рецептором. Пропоксазепам створює водневий зв'язок із TYR511 рецептора TRPV1 як референтний ліганд SB-366791. Пропоксазепам демонструє один з найбільших внесків водневих зв'язків в енергію взаємодії з рецептором. Відповідно до моделювання QSAR, усі досліджувані сполуки (3-гідроксипропоксазепам, діазепам, оксазепам, пропоксазепам) мають низькі значення pIC_{50} , що може вказувати на відносно низьку ефективність або спорідненість з TRPV1. Але пропоксазепам має найвищий прогнозований pIC_{50} , це означає, що модель передбачає, що він є найпотужнішим серед сполук.

Ключові слова: докінг; пропоксазепам; рецептор TRPV1; біль; зв'язування; 1,4-бензодіазепіни

V. B. Larionov¹, M. Ya. Golovenko¹, A. S. Akisheva², I. P. Valivodz¹,
I. Yu. Borysiuk³, Yu. O. Molodan² O. A. Makarenko²

¹ A. V. Bogatskiy Physical-Chemical Institute of the NAS of Ukraine,
Odesa, Lyustdorfska road St., 86, 65080, Ukraine

² Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Physiology, Human
Health and Safety and of Natural Science Education, Odesa, Dvorianska Str., 2,
65082, Ukraine

³International Humanitarian University. Department of general and clinical
pharmacology, Odesa, Fontanskaya road, 23a, 65016, Ukraine
e-mail: alinaakisheva@stud.onu.edu.ua

MOLECULAR INSIGHTS INTO PROPOXAZEPAM INTERACTION WITH TRPV1 RECEPTORS: A DOCKING ANALYSIS

Summary

Problem. Pain therapy has remained conceptually stagnant since the opioid crisis, which highlighted the dangers of treating pain with opioids. TRPV1 receptors and their ligands have emerged as promising targets for the management of various pain conditions, including inflammatory and neuropathic pain. Further investigation into the activation and desensitization mechanisms of TRPV1 receptors, as well as the exploration of novel ligands with enhanced selectivity and efficacy, holds the potential to alleviate the burden of chronic pain.

Aim. The study of interactions of ligands with the TRPV1 receptor by molecular docking and analysis of components of these interactions.

Methods. In order to study the binding energy of the TRPV1 receptor with the researched compounds 8GFA – Cryo-EM structure of human TRPV1 in complex with the analgesic drug SB-366791 was utilized. The docking and QSAR prediction were carried out with propoxazepam, its possible metabolite 3-hydroxopropoxazepam,

diazepam, oxazepam, SB-366791, RTX, capsazepin, capsaicin. The docking and QSAR build model using the Maestro Schrödinger Suite.

The main results. Propoxazepam has the necessary pharmacophoric features to bind with TRPV1 receptor: region A-benzene ring; region B – the amide group (NH-C=O); region C – alkoxy group. The docking score of propoxazepam (–7.30 kcal/mol) indicates a stronger interaction with the TRPV1 receptor compared to oxazepam (–6.82 kcal/mol), 3-hydroxopropoxazepam (–6.49 kcal/mol), and capsazepin (–6.39 kcal/mol). When considering the increase in the free energy of interactions, the ligands can be ranked as follows: SB-366791 > Capsaicin > RTX > Capsazepin > Propoxazepam > Diazepam > 3-hydroxopropoxazepam > Oxazepam. Propoxazepam establishes two hydrogen bonds: one involving the NH group of the amide (resulting in a hydrogen bond interaction with the linker-neck) and THR550 of the protein, and another between oxygen of the alkoxy group (hydrophobic tail) and TYR511 of the TRPV1 receptor. Ligands with confirmed effects on the TRPV1 receptor also engage in interactions with the protein by forming hydrogen bonds with the same amino acids as the benzodiazepines, namely THR550 and TYR511. Propoxazepam is predicted to have relatively low potency or affinity for TRPV1 (predicted pIC50 value of –1.115), but this value is higher than other ligands.

Conclusions. As propoxazepam has the necessary pharmacophoric features of the pharmacophore model of TRPV1 ligands, it could theoretically bind with this receptor. Propoxazepam creates hydrogen bond with TYR511 of the TRPV1 receptor as referent ligand SB-366791. Propoxazepam exhibits one of the largest contributions of hydrogen bonds in the energy of interaction with the receptor. According to QSAR modelling, all studied compounds (3-hydroxopropoxazepam, diazepam, oxazepam, propoxazepam) have low pIC50 values, which could indicate a relatively low potency or affinity for TRPV1. But propoxazepam has the highest predicted pIC50, it means that the model predicts it to be the most potent among the compounds.

Key words: docking; propoxazepam; TRPV1 receptor; pain; binding; 1,4-benzodiazepines

References:

1. Voloshchuk, N.I., Reder, A.S., & Holovenko, M. Ya. (2017). «Pharmacological analysis of neurochemical anti-nociceptive mechanisms of action of propoxazepam» [Farmakolohichniy analiz neirokhimichnykh antynotsytseptyvnykh mekhanizmiv dii propoksazepamu], *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 1, 3–11 [in Ukrainian].
2. Holovenko, M. Ya. (2021). «Propoxazepam – an innovative analgesic that inhibits acute and chronic pain and has a polymodal mechanism of action» [Propoksazepam – innovatsiyni analhetyk, yakyi pryhnicuie hostryi i khronichnyi bil i maie polimodalnyi mekhanizm dii.], *Visnyk NAN Ukrainy*, 4, 76–90. <https://doi.org/10.15407/visn2021.04.076> [in Ukrainian].
3. Adinolfi, B., Romanini, A., Vanni, A., Martinotti, E., Chicca, A., Fogli, S., & Nieri, P. (2013). «Anticancer activity of anandamide in human cutaneous melanoma cells», *European journal of pharmacology*, 718(1–3), 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.08.039>
4. Caballero, J. (2022). «A new era for the design of TRPV1 antagonists and agonists with the use of structural information and molecular docking of capsaicin-like compounds», *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 37(1), 2169–2178. <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2110089>
5. Caballero, J. (2021). «Computational Modeling to Explain Why 5,5-Diarylpentadienamides are TRPV1 Antagonists», *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6), 1765. <https://doi.org/10.3390/molecules26061765>
6. Dong, Y., Yin, Y., Vu, S., Yang, F., Yarov-Yarovoy, V., Tian, Y., & Zheng, J. (2019). «A distinct structural mechanism underlies TRPV1 activation by piperine», *Biochemical and biophysical research communications*, 516(2), 365–372. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.06.039>

7. Garami, A., Shimansky, Y. P., Pakai, E., Oliveira, D. L., Gavva, N. R., & Romanovsky, A. A. (2010). «Contributions of different modes of TRPV1 activation to TRPV1 antagonist-induced hyperthermia», *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(4), 1435–1440. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5150-09.2010>
8. Kornwasser, M. (2019). «Capsaicin and Analgesia» *The Science Journal of the Lander College of Arts and Sciences*, 12 (2), 19–23.
9. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). JNJ-17203212. *In NIH*. Retrieved August 13, 2023, from <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22JNJ-17203212%22>
10. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Capsaicin. *In NIH*. Retrieved August 13, 2023, from <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22CAPSAICIN%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
11. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Resiniferatoxin. *In NIH*. Retrieved August 13, 2023, from <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22RESINIFERATOXIN%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
12. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Piperine. *In NIH*. Retrieved August 13, 2023, from <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22PIPERINE%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
13. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Anandamide. *In NIH*. Retrieved August 13, 2023, from <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22ANANDAMIDE%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>
14. National institutes of health. The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). Oleoyldopamine. *In NIH*. Retrieved August 13, 2023, from <https://drugs.ncats.io/substances?q=%22NOLEOYLDOPAMINE%22>
15. Neuberger, A., Oda, M., Nikolaev, Y. A., Nadezhdin, K. D., Gracheva, E. O., Bagriantsev, S. N., & Sobolevsky, A. I. (2023). «Human TRPV1 structure and inhibition by the analgesic SB-366791», *Nature communications*, 14(1), 2451. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9>
16. Schrödinger, LLC. (2015). *Glide version 6.7. User manual*. https://gohom.win/ManualHom/Schrodinger/Schrodinger_2015-2_docs/glide/glide_user_manual.pdf
17. Trevisani, M., & Gatti, R. (2013). «TRPV1 Antagonists as Analgesic Agents», *The Open Pain Journal*, 6, 108–118. <https://doi.org/10.2174/1876386301306010108>
18. Tsareva, D. A., & Ecker, G. F. (2013). «How Far Could We Go with Open Data – A Case Study for TRPV1 Antagonists», *Molecular informatics*, 32(5–6), 555–562. <https://doi.org/10.1002/minf.201300019>

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293327](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293327)

УДК: 615.255:615.31:615.11

Ю. О. Молодан¹, аспірант

В. Б. Ларіонов², д.б.н., завідувач лабораторії

І. Ю. Борисюк³, д.фарм.н., завідувач кафедри

О. А. Макаренко¹, д.б.н., завідувач кафедри

¹ Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: yuliabonbonka@gmail.com

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, лабораторія молекулярної фармакології та медицини, Одеса, вул. Люстдорфська дорога, 86, 65080, Україна

³ Міжнародний гуманітарний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології, Одеса, вул. Фонтанська дорога, 23а, 65016, Україна

ТВАРИННІ МОДЕЛІ *IN VIVO* ДЛЯ СКРИНІНГУ ПОТЕНЦІЙНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА ЗНЕБОЛЮВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Дослідження на тваринних моделях є ключовим етапом у розробці нових лікарських препаратів. Незважаючи на різноманітність моделей *in vivo*, правильний вибір моделі є важливим етапом доклінічного дослідження потенційних сполук. Було розглянуто поширені моделі скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів, надано їх переваги та обмеження, що є важливим визначальним чинником при виборі найбільш придатної стратегії для подальших досліджень.

Ключові слова: анальгетична дія; протизапальна дія; моделі *in vivo*

Біль є одним з найпоширеніших симптомів, що супроводжує понад 90% захворювань. Експерти ВООЗ визначають, що больові синдроми у 40% населення є ключовим фактором звернень за первинною медичною допомогою, а 20% усього дорослого населення живе з постійним болем [9].

Біль представляє собою спонтанне суб'єктивне відчуття, яке виникає внаслідок передачі надмірних або шкідливих сигналів до центральної нервової системи (ЦНС) і може призводити до функціональних розладів у функціонуванні організму. Він необхідний для нормальної життєдіяльності організму і попередження шкідливих впливів та є корисною сигнальною функцією, що допомагає організму реагувати на небезпеку. Однак, разом з тим, незважаючи на корисну сигнальну функцію, яка допомагає організму реагувати на небезпеку, біль може спричиняти ряд патологічних ефектів (страждання, обмеження рухів, порушення мікроциркуляції, зниження імунного захисту та розлад функцій органів і систем). Фізіологічні сполуки – альгогени є медіаторами хімічного подразнення,

які в мінімальних концентраціях спричиняють больове відчуття. Існує декілька груп альгогенів: 1) тканинні (наприклад, гістамін), тромбоцитів (АТФ, серотонін), нейтрофілів (лейкотрієни), макрофагів та ендотелію (інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, ендотеліни, простагландини, оксид азоту NO); 2) плазми крові (брадикінін, калідин), альгогени, що вивільняються з периферичних закінчень С-ноцицепторів (субстанція Р, нейрокінін А, кокальцигенін); 3) збуджувальні амінокислоти (L-глутамат, L-аспартат), які вивільняються нейронами спинного мозку при дії ноцицептивних імпульсів [2, 11].

Біль і запалення пов'язані між собою через складні фізіологічні механізми, які виникають у відповідь на травму, інфекцію або інші подразники. Біль є одним з важливих нормальних фізіологічних механізмів та неодмінним симптомом запалення як типового патологічного процесу й супроводжує більшість відомих захворювань [3]. Запалення як типовий патологічний процес є складною та комплексною реакцією організму у відповідь на екзогенні та ендогенні подразники, що запускають цілий каскад патофізіологічних процесів, які охоплюють усю ноцицептивну систему та регуляторні системи організму. Запалення може бути спричинене будь-яким фактором (флогеном), який може завдати тканинам пошкодження. Флогени поділяються на зовнішні та внутрішні. Зовнішні флогени можуть бути різного характеру, включаючи біологічні (найчастіше інфекційні, такі як бактерії, рикетсії, віруси, грибки, тварини-паразити), фізичні (механічні, термічні, радіаційні) та хімічні (кислоти, луги, бойові отруйні речовини, скипидар, різні види олій тощо). Внутрішні фактори, які можуть спричинити запалення, включають фокус некрозу тканини, гематоми, відкладення солей, імунні комплекси і інше. Пошкодження тканин призводить до викиду вазонейроактивних речовин, які викликають не лише запалення, а й виражену больову реакцію. Ця реакція характеризується підвищеною чутливістю ноцицепторів до подальших подразнень [13]. Гострий запальний стан проявляється у вигляді жару, почервоніння, болю, набрякості та часткової втрати функцій. В той же час, підвищується проникність судин, збільшується кровотік та відбувається сенсibiliзація нервових волокон, які пов'язані з почервонінням, набряком та болем. У нормальному стані організму запальний каскад є важливим захисним механізмом, який допомагає боротися зі збудниками інфекцій, виправляти пошкодження тканин і сприяє їх загоєнню. Цей процес контролюється різними медіаторами запалення, такими як цитокіни, хемокіни, фактори згортання крові і інші молекули. Проте, при хронічних станах, таких захворюваннях як хронічний запальний процес, автоімунні захворювання, дегенеративні захворювання, цей баланс може бути порушений. В таких умовах запальний процес може стати надмірним і тривалим. Такий стан може призвести до шкоди для тканин організму, оскільки запальний каскад постійно активований і може сприяти руйнуванню тканин. При тривалому впливі це може призвести до хронічних захворювань і ускладнень, таких як ревматоїдний артрит, хронічне запальне захворювання кишківника (напри-

клад, хронічний коліт), хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ), атеросклероз і багато інших. При цьому, хронічні запальні процеси можуть бути супроводжувані вираженими клінічними симптомами і потребують лікування для зниження запалення і запобігання подальшому руйнуванню тканин [5, 11].

Отже, регуляція болю, а також запалення є актуальною проблемою медицини та фармакотерапії. На сьогоднішній день існує значний асортимент нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), які найчастіше використовуються як знеболювальні засоби та одночасно для гальмування запалення, проте, застосування таких препаратів протягом певного часу не вирішує проблему лікування запальних процесів та їх рецидивів. Пов'язано це з тим, що тривале застосування НПЗЗ призводить до появи великої кількості небажаних ефектів. Отже, розробка безпечного лікарського засобу протизапальної та знеболювальної дії на сьогодні залишається актуальним питанням сучасної медицини та фармації.

Тому **метою роботи** є узагальнення інформації відносно найбільш поширених моделей скринінгу протизапальних і знеболювальних засобів, визначення меж їх ефективного застосування, приділення уваги механізмам дії для визначення можливих обмежень цих моделей. Це передбачає аналіз результатів інших наукових досліджень, які використовують подібні моделі скринінгу, і подальше порівняння їх з отриманими даними з метою з'ясування переваг та недоліків кожної моделі.

Матеріали та методи досліджень

В огляді літератури були використані такі методи: пошук інформації в наукометричних базах даних PubMed, Google Scholar та інших за ключовими словами: «animal models», «screening», «anti-inflammatory», «analgesic» та аналіз отриманих даних. До огляду були включені статті, опубліковані в період з 2013 по 2023 рік, які містили інформацію про найбільш поширені тваринні моделі скринінгу протизапальних препаратів (гострого запалення: карагенін-індукований та декстран-індукований набряк лап; хронічного запалення: формалін-індукований та гранульома, індукована бавовняними гранулами) і знеболювальних препаратів (теплового подразнення: метод гарячої пластинки, метод занурення у гарячу воду; електричного подразнення: електростимуляція хвоста) на лабораторних тваринах (зокрема, мишах та щурах). Отримані дані були піддані аналізу та узагальненню для оцінки ефективності кожної з моделей для пошуку протизапальних та знеболювальних препаратів.

Результати та їх обговорення

Необхідність розробки нових більш безпечних й ефективних протизапальних та знеболювальних засобів лікарських засобів для корекції больового синдрому та самого запалення є актуальною проблемою фармакотерапії. Ключову

роль серед найпоширеніших препаратів, що використовуються для зменшення запальних і больових реакцій організму займають НПЗЗ або ненаркотичні анальгетики [5]. Але, не зважаючи на значну кількість наявних знеболювальних та протизапальних засобів, побічні ефекти обмежують їх застосування, стимулюючи пошук нових молекул з вираженою протизапальною та анальгетичною діями, для створення на їх основі більш ефективних й безпечних лікарських засобів. Вибір правильної моделі скринінгу на тваринах для доклінічної оцінки є достатньо складним завданням у встановленні ефективності та механізму дії лікарських засобів [1, 10]. Відомо багато моделей скринінгу потенційних сполук, але правильний вибір моделі має вирішальне значення та створює вагомий виклик у розробці нових лікарських препаратів. Невірний вибір моделі може призвести до хибних результатів та обмежити відкриття перспективних сполук, тому системний підхід у виборі моделей скринінгу є досить важливим.

Поширені моделі скринінгу протизапальних препаратів на експериментальних тваринах

Усі експериментальні дослідження на лабораторних тваринах необхідно проводити згідно з вимогами GLP (Належної лабораторної практики), рекомендацій комітету з біоетики Державного фармакологічного центру МОЗ України (Київ, 2001 р.) та законом України «Про захист тварин від жорсткого поводження» від 21 лютого 2006 року № 3447-IV зі змінами. А також, відповідно до «концепції 3R» (reduction, refinement, replacement), запропонованої Расселом і Берчем у 1959 році та вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986), що стали об'єднаною законодавчою основою для проведення біомедичних досліджень в європейських країнах. Загалом, загальні етичні вимоги до використання лабораторних тварин у біомедичних дослідженнях допускаються лише в тому випадку, якщо вони мають на меті отримання нових наукових знань, поліпшення здоров'я людини і тварин, є необхідними для якісної підготовки фахівців, проведення випробувань нових лікарських сполук, судово-медичних експертиз, що не становлять загрози для здоров'я людини. Проведення експериментальних досліджень на тваринах є виправданими, якщо є достатньо підстав для отримання результатів, які будуть суттєво сприяти досягненню хоча б однієї із зазначених вище цілей. Використання тварин в дослідженнях тварин неприпустимо, якщо цілі можуть бути досягнуті іншими засобами [4].

Найбільш поширеними моделями скринінгу протизапальних препаратів є моделювання запального набряку субплантарним введенням (у підшлунку області задньої лапи лабораторних тварин) карагеніну та формаліну. Обидві моделі дозволяють дослідникам вивчати запальні процеси та оцінювати ефективність протизапальних препаратів й визначати їх вплив на біль та запалення в тваринних організмах. Вони є важливими інструментами у доклінічних дослідженнях нових лікарських засобів для лікування запальних захворювань та болю.

1) Карагенін-індукований набряк лап (Carrageenan-induced paw edema).

Модель набряку лапи лабораторних тварин є поширеною моделлю скринінгу перспективних протизапальних речовин. До класичних ознак запалення відноситься порушення мікроциркуляції та формування набряку як реакції тканини на пошкодження. Карагенін є неантигенним запальним агентом, який не спричиняє помітних системних ефектів, не викликає імунної відповіді, схожої на інфекцію або інший антиген. Введення карагеніну у тканини зазвичай спричиняє локальну запальну реакцію у місці введення, але не викликає загальних системних реакцій чи захворювань. Карагенін містить сульфатні цукри, які здатні активувати систему комплементу, що відповідає за запалення та медіатори запалення, стимулює фосфоліпазу A2, що викликає ранню (первинну) фазу запалення, а цитотоксичні ефекти посилюють розвиток запалення [9, 12]. Розширює карагенін і посткапілярні венули, що сприяє ексудації запальної рідини та клітин у зоні запалення. Запальний процес супроводжується вивільненням декількох медіаторів запалення, таких як гістамін та серотонін. Описані явища після введення карагеніну відображають первинну ексудативну фазу запалення, подальше пригнічення цих запальних подій може призвести до припинення запального процесу. Модель карагенін-індукованого набряку лап пов'язують з активацією циклооксигеназного шляху. Глюкокортикоїди та антагоністи простагландинів виявляють протизапальну активність у цій моделі, що свідчить про їх потенційну ефективність в контролі запалення [10]. Після введення карагеніну розвиток набряку у лабораторних тварин характеризується двофазовою кривою, що свідчить про послідовний розвиток різних стадій запалення з часом. Ця крива може бути використана для візуалізації та аналізу динаміки запалення, яке спричиняється карагеніном. Рання фаза запалення після введення карагеніну, частково пов'язана ще й з травмою від ін'єкції та характеризується швидким збільшенням об'єму тканин і ексудацією запальної рідини. Відбувається вивільнення медіаторів – гістаміну та серотоніну, що сприяють вазодилатації та збільшенню проникнення крові у тканини. Друга фаза настає через 3 години і ключову роль відіграють простагландини у подальшому розвитку запалення, спричиняючи збільшення проникнення рідини та клітин у тканини, що призводить до подовження набряку та запалення.

1% суспензію карагеніну (0,1 мл) обережно вводять у підшву області задньої лапи кожної піддослідної лабораторної тварини. Ступінь набряку у тварин оцінюють за різницею між об'ємом набряклої стопи та об'ємом стопи перед введенням речовини. Вимірюють плетизмометром чи штангенциркулем через годину, потім через 6 годин. Оцінюють протизапальну ефективність сполук за їх здатністю пригнічувати запальну реакцію у тварин, порівнюючи з контрольними даними (в %). Результати обчислюють за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = \frac{(\Delta V_{\text{к}} - \Delta V_{\text{д}})}{\Delta V_{\text{к}}} * 100\%,$$

де: ΔV_k – середнє збільшення об'єму набряку (контроль); ΔV_d – середнє збільшення об'єму набряку після введення карагеніну [3].

Перевагою методу є легка відтворюваність та можливе залучення декількох механізмів, що дозволяє використовувати його як попередній тест для оцінки протизапальних засобів, а двофазна відповідь після субплантарної ін'єкції дає можливість передбачити вірогідні біологічні мішені досліджуваного препарату при запаленні. Недоліком методу є наявність підготовки лабораторних тварин, особливо акліматизації задля мінімізації наслідків стресу, наявність приладу для вимірювання об'єму лапи (наприклад, плетизмометру) та точне дозування карагеніну, оскільки при збільшенні дозування швидше наростає набряк і його важче пригнічувати.

2) *Набряк лап, викликаний декстраном* (Dextran-induced paw edema). Набряк лап, викликаний декстраном, є ще однією експериментальною моделлю, яка використовується в досліджах на тваринах для вивчення запальних реакцій та набряку. У цій моделі набряк лапи тварини спричиняється за допомогою декстрану, який викликає збільшення проникнення рідини з крові у тканини, що призводить до набряку, активації системи кінінів, вивільнення гістаміну та серотоніну з тучних клітин. Запалення провокують введенням 2% декстрану в фізіологічному розчині (0,1 мл) в підошовну область лап тварини. Введення декстрану призводить до швидкого і транзиторного розвитку набряку, що означає, що цей ефект спостерігається на короткий період часу. Гістамін та серотонін, вивільнені після введення декстрану, взаємодіють з відповідними рецепторами (наприклад, H_1 , H_2 та $5HT_2$), що спричиняє подальше збільшення проникності судин та розвиток набряку. Перевагою даного методу є можливість індукції набряку, використовуючи як гістамін, так і серотонін, що дозволяє вивчати протизапальний ефект антигістамінних або антисеротонінових препаратів, оцінюючи їх здатність зменшувати набряк, спричинений цими медіаторами. Ця модель може використовуватися для посилення результатів інших моделей запалення, наприклад, моделі карагенін-індукованого набряку лап. Недоліком методу є те, що модель специфічно орієнтована на ці два медіатори запалення, тому не є придатною для дослідження препаратів, що діють через інші механізми, відмінні від антигістамінних або антисеротонінових [7].

3) *Хронічне запалення. Модель набряку, викликаного формаліном* (Formalin-Induced paw edema). Цей метод із застосуванням формаліну підходить для скринінгу лікарських засобів при хронічному запаленні. Ноцицептивна дія формаліну відбувається в дві фази. Рання фаза характеризується гострим болем і пов'язана з нейрогенним компонентом і включає в себе виділення медіаторів гістаміну, серотоніну (5-НТ) і кінінів, які стимулюють нейрони, спричиняючи як біль, так і набряк. В цій фазі виникає прямий вплив на периферичні ноцицептори та відбувається активація немієлінових С-волокон. У пізній фазі поєднується запальна реакція в периферичній нервовій системі. Починається вона через 4-6 годин після введення формаліну і досягає максимуму через 24-48 годин. Максимальний набряк спостерігається через 4 години після моделю-

вання запалення. Відсоткове гальмування набряку при формалін-індукованому запаленні обчислюється за такою формулою:

$$\% \text{ гальмування набряку} = \frac{(\Delta V_c - \Delta V_t)}{\Delta V_c} * 100\%,$$

де: V_c – об'єм набряку у контрольній групі (до застосування препарату); V_t – об'єм набряку у групі, яка отримує тестовий препарат [8].

Ця формула дозволяє визначити, наскільки препарат здатен зменшити набряк порівняно з контрольною групою. Результат виражається у відсотках, і велике відсоткове гальмування вказує на сильний протизапальний ефект препарату. Перевагою цієї моделі є те, що вона пропонує метод оцінки активності препарату при тривалому запальному процесі запалення, двофазова реакція дозволяє вивчати різні аспекти болю та запалення. Недоліком методу є довготривалість експерименту.

4) Хронічне запалення. Гранульома, викликана бавовняними кульками (Cotton Pellet-Induced Granuloma) Ця модель є важливою для дослідження хронічного запалення та оцінки хронічної протизапальної активності нових сполук. Модель гранульоми відображає патологічні процеси, які спостерігаються при хронічному запаленні, включаючи інфільтрацію моноцитів, проліферацію фібробластів, ангиогенез і ексудацію. За допомогою цієї моделі оцінюються транссудативні та проліферативні елементи при хронічному запаленні. Відмінною рисою хронічного запалення є гранулематозне утворення тканини. Проліферація макрофагів, нейтрофілів і фібробластів разом з розмноженням дрібних кровоносних судин виробляє високоваскуляризовану червонувату масу, відому як грануляційна тканина (це різні клітини, такі як макрофаги, лімфоцити, гігантські клітини, іноді епітеліоїдні клітини тощо). Волога та суха маса гранульоми можуть бути пов'язані з формуванням транссудатної і гранулематозної тканини відповідно. Транссудатна тканина може бути викликана надмірним виходом рідини з кровоносних судин і може включати в себе різні компоненти, такі як білки та інші молекули. Гранулематозна тканина включає в себе гранулеми, які можуть бути утворені відповідно до імунологічних або запальних реакцій. Кортикостероїди, такі як преднізолон, можуть пригнічувати запалення в проліферативній фазі, впливати на імунну відповідь та запальний процес, зменшуючи активність різних клітин та молекул, що беруть участь в запаленні [14]. Перевагою методу є можливість вивчення ефективності лікарських препаратів та методів лікування хронічного запалення, так як слугує маркером запального процесу хронічного характеру, дозволяє вивчати вплив запалення на структуру та склад гранульоми, волога та суха вага якої можуть корелювати з кількістю транссудату та утворенням гранулематозної тканини. Недоліком моделі є використання хірургічних навичок медичного персоналу та введення анестетиків для імплантації та видалення бавовняних гранул і гранульоми, що може бути небезпечним для тварин та вимагає спеціалізованих знань та

ресурсів. Модель вимагає повторного маніпулювання тваринами, включаючи видалення гранульоми, що є недоліком з етичної точки зору.

Поширені моделі скринінгу анальгетичних препаратів на експериментальних тваринах

Найбільш поширеними моделями для скринінгу анальгетичних препаратів є методи з використанням теплових подразників, такі як метод гарячої пластинки та метод занурення у гарячу воду. Також використовуються методики з використанням електричних подразників. Моделі базуються на принципі, що біль є складним процесом, який включає активацію ноцицепторів (спеціалізованих сенсорних нейронів), що реагують на шкідливі подразники. Ці моделі відносно прості та недорогі, дозволяють швидко та ефективно оцінити анальгетичну активність.

1. Моделі з використанням теплових подразників:

Метод гарячої пластинки (Hot Plate models). Даний метод є базовим тестом для скринінгу анальгетичної активності сполук і виявлення їх ефективності, яке проявляється у поведінковій реакції тварин на теплове подразнення (облизування лап – швидка відповідь на тепловий подразник, стрибки – складна реакція з включенням емоційної складової). Робоча температура для вивчення антиноцицептивної активності складає 55 °С. Поведінка тварини реєструється з моменту поміщення на гарячу поверхню до появи поведінкової відповіді. Виразним показником анальгетичної активності є латентний час – час поведінкової реакції від поміщення тварини на поверхню пластинки до появи облизування лапок та виражається в секундах. Тест проводять протягом 30–60 секунд для мінімізації отримання опіків. Результати обчислюють за формулою:

$$AA = \frac{(T_d - T_k)}{T_k} * 100\%,$$

де AA – анальгетична активність,%; T_д – латентний період реакції на ноцицептивну стимуляцію після нанесення (введення) досліджуваної речовини; T_к – латентний період реакції на ноцицептивну стимуляцію контрольної групи тварин [3, 5].

Перевагами методу є валідність тесту навіть при моторних порушеннях та чутливість до слабких анальгетиків (наприклад, аспірину або парацетамолу). Недоліком методу є неадекватні реакції на седативні, психомиметики й міорелаксанти та неможливість більш частого проведення для попередження скорочення латентного періоду реакції.

Модель з використанням занурення хвоста в гарячу воду (Paw pressure test). Цей тест, використовуючи занурення хвоста, є одним з методів для визначення болю та ефективності знеболювальних препаратів у піддослідних тварин (здебільшого щурів). Методику проводять таким чином: лабораторну тварину поміщають у клітку так, щоб її хвіст вільно звисав, відмічають дистально 5 см хвоста щура і занурюють у чашку з гарячою водою (температура 55–56 °С) на

15 секунд. Це створює потенційно болучий подразник. Після занурення хвоста спостерігаються типові реакції, що включають відсування хвоста, спроби втечі, різкий рух хвоста, а іноді навіть відкидання всього тіла. Показником анальгетичної активності є час від поміщення у хвоста в гарячу воду до відтягування хвоста. Анальгетики центральної дії можуть подовжити час реакції відтягування хвоста, зробивши його довшим на 6 секунд. Це свідчить про знеболювальний ефект досліджуваного препарату. Існують модифікації цього тесту, такі як тест холодного хвоста і тест на холодний етанол, які використовують різні подразники для визначення болю та ефективності знеболювальних засобів [7, 15]. Перевагою є те, що цей тест відносно простий у відтворенні, може бути корисним для дослідження ефективності анальгетиків та вивчення реакції на біль в конкретній частині тіла (хвіст), що дає можливість аналізувати локальний біль. Недоліком методу є недостовірність результатів через реакції на біль, викликані різними факторами, такими як стрес, стан тварини, температурні зміни води, тест зазвичай проводять в обмеженому часовому інтервалі після введення препарату, що може не відображати тривалу анальгетичну активність.

2. Моделі з використанням електричних подразників

Електростимуляція хвоста (Electrical stimulation of the tail) слугує моделлю ноцицептивної реакції. Збудження ноцицептивних нейронів є основним механізмом, який викликає біль у цій моделі. Для електричного подразнення використовується апарат ЕСЛ-2 для генерації електричних імпульсів з певними параметрами (частота 100 Гц, тривалість 5 мсек, затримка 5 мсек). Поріг больової чутливості (ПБЧ) визначається як мінімальна напруга електричного струму, при якій тварина виявляє ноцицептивну реакцію, таку як вокалізація, імерсія хвоста, або відривання лапок від струмопровідної поверхні дна камери. Анальгетична активність оцінюється, порівнюючи вихідний показник ПБЧ до та через 1, 2, 4 і 6 годин після використання стимулювання. Перевагою методу є можливість відтворити ноцицептивну реакцію, дозволяє вивчати механізми болю та ефективність знеболювальних речовин на різних етапах ноцицептивної реакції. Недоліками моделі є те, що модель може бути менш специфічною в порівнянні з іншими моделями болю, оскільки вона використовує електричне подразнення, яке може створити неприродні стимули для болю, а також відтворює не всі аспекти болю, такі як запалення або такі як нейропатична біль [7].

Модель карагенін-індукованого набряку лап, як однієї з поширених методик оцінки протизапальних засобів не може бути використана для оцінки анальгетичної дії, не дивлячись на те, що карагенін вводиться ін'єкційно, він не викликає сильних больових відчуттів у тварин. А, ось модель формалін-індукованого набряку лап, може застосовуватися як для оцінки протизапальної, так і анальгетичної дії. Формаліновий тест застосовується для визначення анальгетичних властивостей експериментальних сполук при наявності запальної фази та оцінки первинної гіперальгезії. Незважаючи на те, що біль у формаліновому тесті можна визначити як «тонічний», а не як «хронічний», введення формаліну

в лапу тварини може спричинити ситуацію, ближчу до клінічної, ніж в умовах гострого подразнення [3].

Моделі скринінгу анальгетичних препаратів спрямовані на вивчення впливу досліджуваних речовин на больову поведінку тварин. Тест на гарячу пластинку, тест занурення хвоста в гарячу воду, електростимуляція – це все методи, які дозволяють вивчати реакцію тварин на біль і ефективність застосування анальгетичних засобів.

Ефективність досліджуваного препарату в різних моделях скринінгу проти-запальних засобів залежить від низки факторів, що змінюються в залежності від конкретного експерименту. Основними факторами, які можуть впливати на ефективність препаратів є: вага та загальний стан тварини, концентрація і фармакологічні властивості препарату, тип обраної моделі. Здоров'я та стан тварин можуть впливати на їхню реакцію на препарати. Тварини з хронічним запаленням (наприклад, формалін-індуковане запалення) можуть бути менш чутливими до препаратів, ніж тварини з гострим запаленням (карагенін-індуковане запалення). Тварини з більшою масою тіла мають більший виражений набряк лапи і при збільшенні концентрації флогогену (карагеніну, декстрану) також спостерігається збільшення набряку лапи. Фармакологічні властивості препарату, такі як його біодоступність, метаболізм та виведення також можуть впливати на його ефективність лікарського засобу. Різні моделі запалення можуть відрізнятися за своїми механізмами та проявами, це може призвести до того, що препарат, який є ефективним в одній моделі, виявиться неефективним в іншій. Наприклад, в моделі набряку, викликаного формаліном запалення викликається активацією нейтрофілів, що виділяють медіатори запалення, які викликають набряк. В цьому випадку, ефективними будуть лікарські препарати, які блокують активацію нейтрофілів. А, в моделі набряку, викликаного декстраном, запалення викликається накопиченням рідини в тканинах, тому ефективними лікарськими засобами є препарати, що блокують її накопичення. Якщо препарат, який блокує активацію нейтрофілів, буде випробуваний в моделі набряку, викликаного декстраном, він може виявитися неефективним.

Ефективність досліджуваних знеболювальних препаратів у різних експериментальних моделях може бути визначена рядом факторів, а саме температурою – в методі гарячої пластинки визначається температурою пластинки, яка спричиняє біль та дискомфорт тварині або в моделі занурення хвоста в гарячу воду, температурою гарячої води, яка пливає на інтенсивність болю та може визначати чутливість тварин до болісних подразників. Здатність препарату підтримувати анальгетичний ефект протягом певного періоду визначається часом утримання тварини на гарячій пластинці або хвоста в гарячій воді. В моделях, які використовують електричні подразники, ефективність досліджуваних препаратів визначається інтенсивністю стимуляції – важливо використовувати електростимуляцію з достатньою інтенсивністю, щоб викликати біль, але

не використовувати електростимуляцію з надмірною інтенсивністю, яка може призвести до пошкодження тканин.

Для більшої наочності в таблиці 1 представлено загальний огляд поширених моделей болю та запалення [6], включаючи флогогени/альгогени, основні медіатори болю/запалення, що беруть участь, а також референтні препарати, які частіше використовують в цих моделях.

Таблиця 1

**Моделі запалення та болю:
флогогени/альгогени, медіатори та референтні препарати**

Моделі запалення /болю	Флогогени/ Альгогени	Медіатори болю/ запалення	Референтні препарати
Карагенін-індукований набряк лап (Winter, Risley & Nuss (1962))	Карагенін	Простагландини (PGE2), цитокіни (TNF- α , IL-1 β), лейкотриєни	НПВП (нестероїдні протизапальні препарати), глюкокортикостероїди
Набряк лап, викликаний декстраном (McKinney & Lish (1966))	Декстран	Гістамін, серотонін	Глюкокортико-костероїди, H1-блокатори гістаміну
Запалення, викликане формаліном (Dubuisson & Dennis (1977))	Формалін	Субстанція P, тахікініни, пептид зв'язаний з геном кальцітоніну (CGRP)	НПЗП і кортикостероїди
Запалення, викликане бавовняними кульками (Swingle and Shideman (1972))	Бавовняні кульки	Цитокіни (TNF- α , IL-1 β , IL-6), інтерлейкін-8 (IL-8)	Біологічні препарати, які блокують цитокіни (наприклад, інгібітори TNF- α)
Метод гарячої пластинки (Woolfe & Macdonald, (1944))	Гаряча пластина	Простагландини (PGE2), брадикинін	Антагоністи PGE2, антагоністи брадикиніну
Модель з використанням занурення хвоста в гарячу воду (Randall & Selitto (1957))	Гаряча вода	Нейропептид Y, субстанція P, серотонін	Антагоністи субстанції P, антагоністи CGRP.
Електростимуляція хвоста (O'Kelly L.I. & Steckle L. C. (1939))	Електричні стимулятори	Нейропептиди (субстанція P, CGRP), глутамат	Антагоністи субстанції P, антагоністи CGRP, антагоністи глутаматових рецепторів

Ця таблиця надає загальний огляд моделей болю та запалення, а також деякі референтні препарати, які можуть використовуватися для досліджень або лікування в цих моделях. В ній також наведено посилання на перші публікації, в яких описані методи відтворення запалення та болю. Ці публікації є класичними і мають важливе значення для розвитку цієї галузі досліджень, проте важливо враховувати, що вибір конкретних методів і препаратів може залежати від конкретних дослідницьких цілей та контексту самого експериментального дослідження.

Висновки

Пошук нових протизапальних та знеболювальних засобів є актуальною проблемою сьогодення та правильний вибір моделі скринінгу є ключовим етапом у розробці нових лікарських засобів.

Для адекватної оцінки протизапальних та анальгетичних властивостей досліджуваних сполук потрібно комбінація декількох фармакологічних тестів для виявлення переважних механізмів їх дії.

Особливу увагу слід приділяти вибору референтної сполуки для належної оцінки біологічного ефекту.

Результати цього дослідження сприятимуть розумінню та вдосконаленню методів скринінгу та сприятимуть розвитку більш ефективних та точних методів оцінки потенційних протизапальних і знеболювальних засобів в медичній та фармацевтичній практиці.

Стаття надійшла до редакції 29.10.2023

Список використаної літератури

1. Гладких Ф. В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Вінниця: Твори, 2022. 216 с.
2. Патологія. Підручник в 2 т. Том 1. Загальна патологія / О. В. Атаман. Вінниця: Нова книга, 2017. 448 с.
3. Халімова О. І. Анальгетичні властивості похідних 3-заміщених 1,2-дигідро-3н-1,4-бенздіазепін-2-онів: дис ... канд. біол. наук: 14.03.05 «Фармакологія», Одеса, 2016. 158 с.
4. Хендель Н. В. Регламентация проведения экспериментов над животными: международні та національні правові стандарти. *Український часопис міжнародного права*. 2013. С. 71–76.
5. Якубовська В. В. Експериментальне дослідження протизапального та знеболюючого ефектів похідних (3-R-2-ОКСО-2Н-[1,2,4триазино [2,3-с] хіназолін-6-ІІ) алкілкарбонілових: автореф. дис ... канд. мед. наук: 14.03.05 «Фармакологія», Київ, 2018. 21 с.
6. Deuis J. R., Dvorakova L. S., Vetter I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017. Vol. 10. P. 284–300. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
7. Eze F. I., Uzor P. F., Peter I. E., Bonaventure C., Osadebe P. In vitro and In vivo Models for Anti-inflammation: An Evaluative Review. *INNOSC Therapeutics and Pharmacological Sciences*. 2019, Vol. 2(2). P. 3–15. <https://doi.org/10.36922/itps.v2i2.775>.
8. Hoffmann T., Klemm F., Kichko T., Sauer S. K., Kistner K., Riedl B., Raboisson P., Luo L., Babes A., Kocher L., Carli G., Fischer M. J. M., Reeh P. W. The formalin test does not probe inflammatory pain but excitotoxicity in rodent skin. *Physiological Reports*. 2022. Vol. 10(6). P. 1–21. <https://doi.org/10.14814/phy2.15194>.
9. Nicholas M., Vlaeyen J. W. S., Rief W., Barke A., Aziz Q., Benoliel R., Cohen M., Evers S., Giamberardino M. A., Goebel A., Korwisi B., Perrot S., Svensson P., Wang S. J., Treede R. D. The IASP Taskforce for the Classification of Chronic Pain. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. *The Journal of Pain*. 2019. Vol. 160(1). P. 28–37. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001390>.
10. Patil K. R., Mahajan U. B., Unger B. S., Goyal S. N., Belemkar S., Surana S. J., Ojha S., Patil C. R.. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20(18). P. 43–67. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>.
11. Roe K. An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2021. Vol. 93(2). P. 12–17. <https://doi.org/10.1111/sji.12970>.
12. Sarkhel S. Evaluation of the anti-inflammatory activities of Quillaja saponaria Mol. saponin extract in mice. *Toxicology Reports*. 2016. Vol. 3. P. 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.11.006>.
13. Stewart A. G., Beart P. M. Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. *British Journal Pharmacology*. 2016. Vol. 173(4). P. 631–634. <https://doi.org/10.1111/bph.13389>.

14. Wang Y., Li G.H., Liu X.Y., Xu L., Wang S.S., Zhang X.M. *In vivo* anti-inflammatory effects of taraxasterol against animal models. *African Journal Traditional Complement and Alternative Medicines*. 2016. Vol. 14(1). P. 43–51. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i1.6>.
15. Zhou Q., Bao Y., Zhang X., Zeng L., Wang L., Wang J., Jiang W. Optimal interval for hot water immersion tail-flick test in rats. *Acta Neuropsychiatrica*. 2014. Vol. 26(4). P. 218–222. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.57>.

Ю. О. Молодан¹, В. Б. Ларіонов², І. Ю. Борисюк³, О. А. Макаренко¹

¹ Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: yuliabonbonka@gmail.com

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, лабораторія молекулярної фармакології та медицини, Одеса, вул. Люстдорфська дорога, 86, 65080, Україна

³ Міжнародний гуманітарний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології, Одеса, вул. Фонтанська дорога, 23а, 65016, Україна

ТВАРИННІ МОДЕЛІ *IN VIVO* ДЛЯ СКРИНІНГУ ПОТЕНЦІЙНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА ЗНЕБОЛЮВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Резюме

Актуальність. Біль та запалення є важливими компонентами багатьох захворювань, включаючи ревматоїдний артрит, остеоартрит, артрози, алергічні захворювання, інфекції та рак. Для виявлення потенційних протизапальних та знеболювальних засобів розроблено ряд тваринних моделей *in vivo*, що дозволяють імітувати різні аспекти запалення та болю, що може бути корисними для оцінки ефективності та безпеки нових терапевтичних засобів.

Мета. Систематичний аналіз та узагальнення даних щодо використання тваринних моделей *in vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболюючих засобів.

Методика. Для підготовки цього огляду літератури була проведена систематична пошукова робота в базах даних PubMed, Google Scholar та інших наукових джерел, з використанням ключових слів: «animal models», «screening», «anti-inflammatory», «analgesic», враховуючи публікації, опубліковані з 2013 по 2023 рік.

Основні результати. Аналіз літератури показав, що використання тваринних моделей *in vivo* для скринінгу протизапальних та знеболюючих засобів є важливим напрямком досліджень. У огляді представлені найбільш поширені моделі, що використовуються для скринінгу протизапальних (карагенін-індукований набряк лап, декстран-індукований набряк лап, формалін-індукований набряк лап, гранульома, викликана бавовняними кульками) та знеболювальних засобів (метод гарячої пластинки, занурення хвоста в гарячу воду, електростимуляція хвоста). Дані з таких досліджень допомагають встановити потенційні протизапальні та знеболюючі властивості різних сполук і визначити їх механізми дії.

Висновки. Використання тваринних моделей *in vivo* є важливим інструментом для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів.

Ці моделі дозволяють проводити більш об'єктивні та репрезентативні дослідження, що допомагає в розробці нових лікарських препаратів. Дані огляду літератури слугують важливою основою для подальших досліджень у цьому напрямку.

Ключові слова: анальгетична дія; протизапальна дія; моделі *in vivo*

Yu. O. Molodan¹, V. B. Larionov², I. Yu. Borysiuk³, O. A. Makarenko¹

¹ Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Physiology, Human Health and Safety and Natural Science Education, 2 Dvorianska Str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: yuliabonbonka@gmail.com

² A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAS of Ukraine, Laboratory of molecular pharmacology and medicine, Odesa, Lustdorfskaya doroga, 86, 65080, Ukraine

³ International Humanitarian University, The Department of General and Clinical Pharmacology, Odessa, Fontanskaya road, 23a, 65016, Ukraine

***IN VIVO* ANIMAL MODELS FOR SCREENING POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC AGENTS (LITERATURE REVIEW)**

Summary

Introduction. Pain and inflammation are components of many diseases, including rheumatoid arthritis, osteoarthritis, osteoarthritis, allergic diseases, infections and cancer. To identify existing anti-inflammatory and analgesic agents, a number of *in vivo* animal models have been developed to simulate various aspects of effect and pain, which may be useful for evaluating the efficacy and safety of new therapeutic agents.

Aims. Systematic analysis and generalization of data on the use of *in vivo* animal models for screening of identified anti-inflammatory and analgesic agents.

Methods. To prepare this literature review, a systematic search was conducted in the databases of PubMed, Google Scholar and other scientific sources, using the keywords: «animal models», «screening», «anti-inflammatory», «analgesic», taking into account publications published 2013 to 2023 year.

The main results. The analysis of the literature showed that the use of *in vivo* animal models for the screening of anti-inflammatory and analgesic agents is a direction of research. The review presents the most advanced models used to screen anti-inflammatory (carrageenan-induced paw wall, dextran-induced paw wall, formalin-induced paw wall, cotton ball-induced granuloma) and analgesic agents (hot plate method, hot tail immersion, electrostimulation of the tail). Data from such studies help establish the respective anti-inflammatory and analgesic properties of various compounds and establish their mechanisms of action.

Conclusions. The use of *in vivo* animal models is a tool for screening negative anti-inflammatory and analgesic agents. These models do not allow conducting more objective and representative studies that help in the development of new medicines. These literature reviews serve as an important basis for further research in this direction.

Key words: analgesic action; anti-inflammatory action; *in vivo* models

References

- Hladkykh, F. V. (2022). *Nesteroyidni protyzapal'ni zasoby: terapevtychni ta nebazhani efekty, shlyakhy yikh optymizatsiyi* [Non-steroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic and adverse effects, ways to optimize them]. Vinnytsia: Tvory, 216 p. [in Ukrainian].
- Ataman, O. V. (2017). *Patofiziolojiya. Pidruchnyk v 2 t. Tom 1. Zahal'na patofiziolojiya* [Pathophysiology. Textbook in 2 volumes. Volume 1. General pathophysiology]. Vinnytsia: Nova knyha, 520 p. [in Ukrainian].
- Khalimova, O. I. (2016). *Anal'hetychni vlastyosti pokhidnykh 3-zamishchenykh 1,2-dyhydro-3n-1,4-benzodiazepin-2-oniv* [Analgesic properties of derivatives of 3-substituted 1,2-dihydro-3n-1,4-benzodiazepin-2-ones] (Dis ... kand. biol. nauk [Candidate's thesis in biological sciences], 158 p., Odesa. [in Ukrainian].
- Handel, N. V. (2013). *Rehlementatsiya provedennya eksperymentiv nad tvarynamy: mizhnarodni ta natsionalni pravovi standart* [Regulation of experiments on animals: international and national legal standards]. *Ukrayins'kyi chasopys mizhnarodnoho prava*. 71–76.
- Yakubovsky, V. V. (2018). *Eksperymentalne doslidzhennya protyzapal'nogo ta znebolyuyuchoho efektyv pokhidnykh (3-R-2-OKSO-2H-[1,2,4]triazyno [2,3-c] khinazolin-6-IL) alkylkarbonovykh* [Experimental study of the anti-inflammatory and analgesic effects of derivatives (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-IL) of alkylcarboxylic acids]: (Avtoref. dis ... kand. med. nauk [14.03.05 «Pharmacology»]), 21 p., Kyiv. [in Ukrainian].
- Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., & Vetter, I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in molecular neuroscience*. 10, 284–300. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
- Eze, F. I., Uzor, P. F., Peter, I. E., Bonaventure, C., & Osadebe, P. (2019). In vitro and in vivo models for anti-inflammation: an evaluative review. *INNOSC Theranostics and Pharmacological Sciences*. 2(2), 3–15. <https://doi.org/10.36922/itps.v2i2.775>
- Hoffmann, T., Klemm, F., Kichko, T. I., Sauer, S. K., Kistner, K., Riedl, B., Raboisson, P., Luo, L., Babes, A., Kocher, L., Carli, G., Fischer, M. J. M., & Reeh, P. W. (2022). The formalin test does not probe inflammatory pain but excitotoxicity in rodent skin. *Physiological Reports*. 10(6), 1–21. <https://doi.org/10.14814/phy2.15194>
- Nicholas, M., Vlaeyen, J. W. S., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Giamberardino, M. A., Goebel, A., Korwisi, B., Perrot, S., Svensson, P., Wang, S. J., Treede, R. D., & IASP Taskforce for the Classification of Chronic Pain (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. *The Journal of Pain* 160(1), 28–37. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001390>
- Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(18), 4367. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>
- Roe, K. (2021). An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scandinavian Journal of Immunology*, 93(2), e12970. <https://doi.org/10.1111/sji.12970>
- Sarkhel, S. (2016). Evaluation of the anti-inflammatory activities of Quillaja saponaria Mol. saponin extract in mice. *Toxicology Reports*. 3, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.11.006>
- Stewart, A. G., & Beart, P. M. (2016). Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. *British Journal Pharmacology*. 173(4), 631–634. <https://doi.org/10.1111/bph.13389>
- Wang, Y., Li, G. H., Liu, X. Y., Xu, L., Wang, S. S., & Zhang, X. M. (2016). *In vivo* anti-inflammatory effects of taraxasterol against animal models. *African Journal Traditional Complement and Alternative Medicines*. 14(1), 43–51. <https://doi.org/10.21010/ajteam.v14i1.6>
- Zhou, Q., Bao, Y., Zhang, X., Zeng, L., Wang, L., Wang J., & Jiang, W. (2014). Optimal interval for hot water immersion tail-flick test in rats. *Acta Neuropsychiatrica*. 26(4), 218–222. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.57>

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293329](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293329)

УДК 616-018: 616.71:59.085+616.36-008.811.6+615.276

І. Л. Рижко, к.б.н., доцент

Т. В. Косенко, аспірант

О. А. Макаренко, д.б.н., завідувач кафедри

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
біологічний факультет, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини
та природничої освіти

вул. Дворянська 2, Одеса, Україна, e-mail: tmogilevska62@gmail.com

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ЗМІН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ КІСТКИ У ЩУРІВ З ХРОНІЧНИМ ХОЛЕСТАЗОМ ПРИ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ ІЗ ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ТА СОРБЕНТУ

Проведено гістоморфометричну оцінку змін структурних компонентів стегнової кістки у щурів із модельованим хронічним холестазом та при корекції комплексом, який складався з гепатопротектора та сорбенту. Показано, що хронічний холестазаз призводить до виражених патологічних змін основних компонентів кістки, а застосування комплексу ефективно усуває встановлені порушення, завдяки компонентам гепатопротектора (лецитину і кверцетину) та сорбенту (сорбент та джерело макро- і мікроелементів).

Ключові слова: щури; хронічний холестазаз; стегнова кістка; гепатопротектор; сорбент; морфометричний аналіз; гістологічне дослідження

Хронічні захворювання печінки і жовчовивідних шляхів є однією з головних причин захворюваності, інвалідності та смертності в Україні та світі (близько 2 млн смертей на рік) [13]. Подібні захворювання різної етіології призводять до прогресуючого порушення основних функцій печінки та, як наслідок, до розвитку небезпечних ускладнень. До основних ускладнень хронічної патології печінки відносяться цироз та гепатоцелюлярна карцинома, які є причиною 3,5% летальних наслідків у світі із тенденцією до зростання даного показника [8, 4]. Гепатобіліарна патологія нерідко ускладнюється синдромом холестазу. Патологія хронічного холестазу є важливою проблемою сучасної медицини, оскільки на первинних етапах її досить важко діагностувати, а на більш пізніх етапах виникають важкі морфологічні зміни в печінці та жовчовивідній системі [3]. Повне або часткове припинення надходження жовчі у дванадцятипалу кишку при хронічному холестазі спричинює погіршення всмоктування макро- і мікроелементів, перетравлювання жирів, призводить до дефіциту та недостатнього засвоєння жиророзчинних вітамінів, зокрема вітаміну D, дефіцит якого є однією з ланок печінкової остеодистрофії і проявляється остеопорозом, остеомалаяцією та патологічними переломами [7, 15].

Для усунення та корекції проявів холестазу використовується комплексний підхід. Поряд із хірургічним втручанням з усунення застою жовчі використовуються і різноманітні лікарські засоби [6]. До профілактичного комплексу, який використовували у представленому дослідженні, входив гепатопротектор, який за рахунок двох основних компонентів (лецитин і кверцетин) володіє гепатопротекторними властивостями, а також має протизапальний та жовчорозріджувальний ефекти [12] та сорбент, який, на нашу думку, мав виводити токсини та доповнювати організм необхідними макро- і мікроелементами [1].

Мета роботи: провести гістоморфометричне дослідження стегнової кістки у щурів з хронічним холестазом та оцінити ефективність профілактичного комплексу.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальне дослідження проводили на 20 щурах-самцях стадного розведення віком 7–8 місяців, які утримувалися в стандартних умовах віварію. Тварин було розподілено на три групи: 1 група – інтактна (n=6), 2 група – щури, яким моделювали хронічний холестаз (n=7), 3 група – щури, яким паралельно із розвитком патології хронічного холестазу додавали до їжі гепатопротектор (500 мг/кг) та сорбент (1 г/кг) (n=7).

Хронічний холестаз у щурів моделювали шляхом перев'язки жовчної протоки під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг). Тривалість патології хронічного холестазу тривала 4 місяці. [9].

За добу до проведення операції щурів утримували без їжі. Профілактичний комплекс вводили щоденно перорально упродовж чотирьох місяців: вранці натще тваринам вводили гепатопротектор, ввечері – сорбент.

Виводили щурів з експерименту під тіопенталовим наркозом (внутрішньочеревинно в дозі 20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з магістральних судин.

Для проведення гістологічного дослідження виділяли стегнову кістку та фіксували її у 10% розчині формаліну. Проводили декальцифікацію кісткової тканини, після чого зразки заливали у парафінові блоки і виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм. Забарвлювали зразки гематоксиліном та еозинном, а також пікрофуксином за Ван Гізоном. Гістологічне дослідження і фотографування зрізів проводили за допомогою світлового мікроскопу та камери для мікроскопу Olympus LC30 (Japan) [5].

Морфометричний аналіз різних зон стегнової кістки щурів проводили за такими параметрами: питомий об'єм (%) суглобового епіфізарного хряща, питомий об'єм (%) кісткових балок, питомий об'єм (%) кісткового мозку, кількість остеобластів на певній площі [2].

Дослідження та виведення тварин із експерименту виконували згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей [14].

Результати дослідження

Стегнова кістка щурів першої (інтактної) групи мала стандартну гістологічну будову (рис. 1А). Майже вся поверхня кістки була вкрита періостом із зовнішнім шаром сполучнотканинних волокон та помірною кількістю остеобластів у внутрішньому шарі. Більшу частину діяфізу становила компактна речовина пластинчастої кісткової тканини (рис. 1). На межі з кістковомозковою порожниною визначалися кісткові перекладки губчастої речовини кістки.

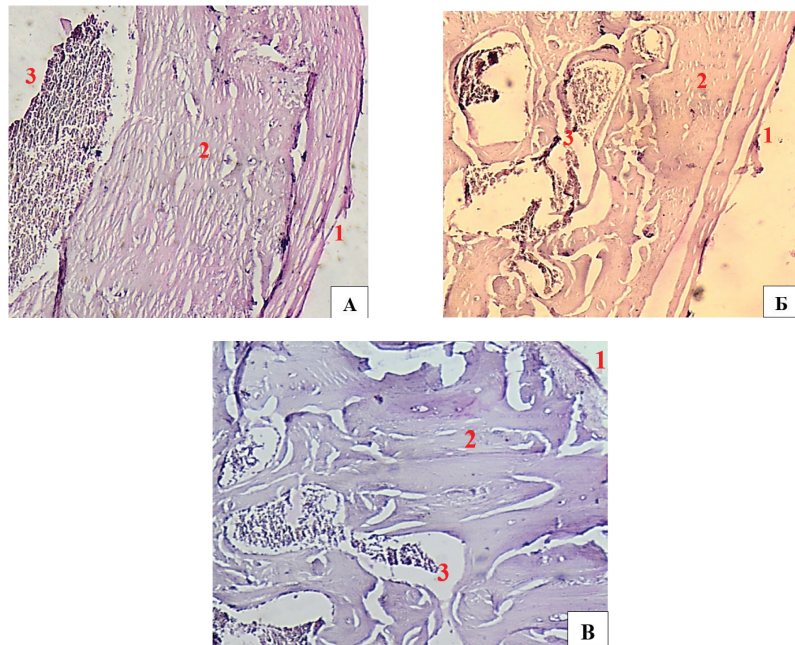


Рис. 1. Фрагмент діяфізу стегнової кістки щурів, поперечний зріз.
А – перша група, Б – друга група, В – третя група; 1 – періост, 2 – компактна кістка,
3 – кістковий мозок. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 40х.

У щурів з модельованим хронічним холестаазом (рис. 1Б) в цілому будова стегнової кістки була тотожною до кісток першої групи, але виявлено і певні гістологічні зміни. Перш за все, привертало увагу помітне розшарування періосту. Окістя забезпечує ріст та захист кісткової тканини за рахунок живлення і регенерації, тому його зміни можуть слугувати негативним показником стану кістки.

На відміну від тварин другої групи, у щурів третьої експериментальної групи (рис. 1В), яким додатково давали профілактичні засоби для запобігання

проявів холестазу, виявляли потовщення періосту та збільшення його щільності. Можливо, такі зміни є свідченням підвищеного рівня процесів живлення і оновлення кісткової тканини.

Суглобові поверхні епіфізів стегнової кістки щурів всіх груп містили виражений гіаліновий хрящ (рис. 2).

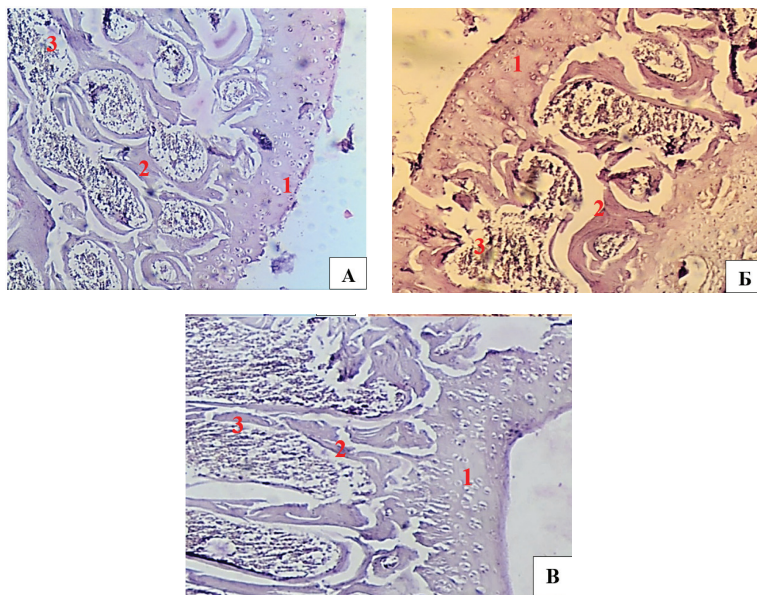


Рис. 2. Фрагмент епіфізу стегнової кістки.

A – перша група, Б – друга група, В – третя група;

1 – гіаліновий хрящ суглобової поверхні, 2 – кісткові балки, 3 – червоний кістковий мозок.

Забарвлення гематоксилін та еозин, зб. 40х.

В порівнянні із контрольною, у щурів другої групи в глибоких шарах хряща була зменшена кількість ізогенних груп, крім того вони містили меншу кількість хондроцитів. У випадку третьої групи, поверхневий шар гіалінового хряща мав досить велику кількість хондробластів, що може вказувати на його високу проліферативну активність.

Основна частина губчастої тканини епіфізу була сформована кістковими балками, простір між якими заповнений червоним кістковим мозком (рис. 3). У випадку інтактних щурів кістковий мозок мав помірну кількість клітинних елементів та вкраплення невеликої кількості жирових клітин. Їх кількість зростала ближче до діяфізу кістки. Кісткові трабекули на поверхні містили тонкий шар сполучнотканинних волокон і остеобластів, в середині – остецити в індивідуальних лакунах (рис. 3А).

На відміну від першої групи, у щурів другої експериментальної групи спостерігалось запусніння окремих лакун, зменшення кількості остеобластів та

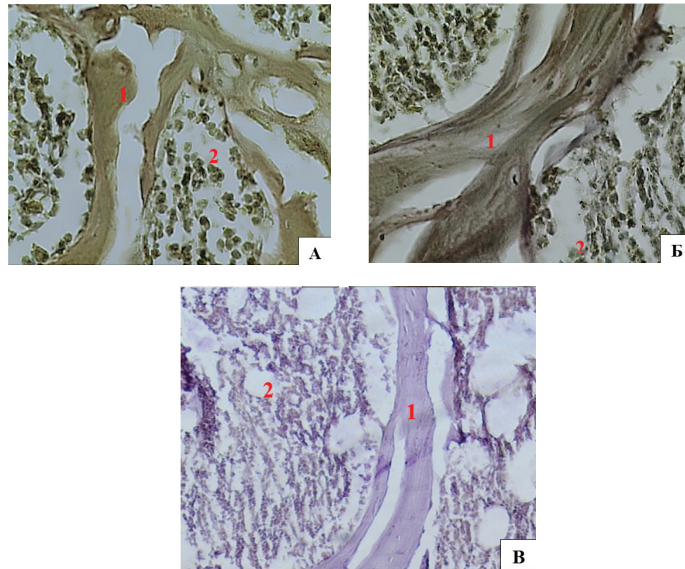


Рис. 3. Фрагмент епіфізу стегнової кістки щурів, кісткові балки. А – перша група, Б – друга група, В – третя група; 1 – кісткова балка, 2 – червоний кістковий мозок. Забарвлення за Ван Гізоном (А, Б, зб. 100х) і гематоксилін та еозин (В, зб. 40х).

потоншення кісткових трабекул (рис. 3Б), що є свідченням певних патологічних змін кісткової тканини. Червоний кістковий мозок містив невелику кількість жирових клітин, вздовж кісткових балок вони місцями не утворювалися.

У щурів третьої групи, яким додатково проводили профілактичні заходи, в епіфізі було помітне потовщення кісткових балок у порівнянні з другою групою (рис. 3В). Кісткові балки, як і у першої групи, містили на поверхні тонкий шар фіброзних волокон та достатньо велику кількість остеобластів, а всередині – кровоносні судини у вигляді щілини, яку вистилає шар плоских клітин та невелика кількість колагенових волокон на поверхні. Кістковий мозок мав місцями зменшену кількість жирових клітин, але збільшену кількість гемопетичних клітин.

Виходячи з гістологічних досліджень періосту, хрящових поверхонь, кісткових балок та клітинних компонентів, можна припустити досить значний негативний вплив хронічного холестаза на основні параметри стегнової кістки щурів. Проведення профілактичних дій дозволяє покращити стан основних показників кісткової тканини.

Оцінка морфометричних параметрів стегнової кістки виявила переважання питомого об'єму кісткових балок (37,5%) над іншими елементами у щурів контрольної групи (табл. 1). Однак у щурів, яким моделювали хронічний холестаз, даний показник був значно вищим та складав 49,9%. Високий показ-

ник супроводжувався з одного боку збільшенням кількості балок, в той же час і такими патологічними змінами, як зменшення довжини та ширини кісткових балок, наявністю лакун без остеобластів. Загалом середня кількість остеобластів була найнижчою саме у представників другої групи і складала трохи більше половини від контрольних значень. Зменшення питомого об'єму кісткового мозку та хряща суглобових поверхонь також підтвердили негативний вплив хронічного холестаза на кісткову тканину.

Таблиця 1

**Морфометричні показники стегнової кістки щурів
трьох дослідних груп (n = 20)**

Морфометричні показники	Групи щурів		
	1 (інтактна)	2 (з модельованим хронічним холестазом)	3 (з модельованим хронічним холестазом та профілактикою)
Питомий об'єм (%) хряща суглобових поверхонь	29,8 ± 1,18	22,1 ± 0,71 p < 0,001	25,9 ± 1,03 p > 0,05 p ₁ < 0,01
Питомий об'єм (%) кісткових балок	37,5 ± 1,12	49,9 ± 2,3 p < 0,001	34,1 ± 1,01 p > 0,05 p ₁ < 0,001
Питомий об'єм (%) кісткового мозку	32,7 ± 0,90	28,0 ± 0,56 p < 0,001	40,0 ± 1,19 p < 0,001 p ₁ < 0,001
Середня кількість остеобластів кісткових балок на площі 100 мкм ²	7,1 ± 0,14	4,3 ± 0,12 p < 0,001	5,8 ± 0,12 p < 0,001 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою,
p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «хронічний холестаз»

Профілактика з використанням гепатопротектора і сорбенту привела до покращення як морфологічних, так і морфометричних показників кісткової тканини. Саме для щурів третьої групи було визначено найвищі показники питомого об'єму кісткового мозку (40,0%). Інші показники були більш наближеними до параметрів контрольної групи. Збільшення об'ємів та розмірів кісткових балок та кількості остеобластів на одиницю площі кісткових балок може вказувати на активні регенеративні процеси. Підвищення кількості остеобластів у кісткових балках може вказувати на те, що не лише відбувається формування нових кісткових балок, але і старі беруть участь у регенеративних процесах кістки. Представлені результати цілком збігаються з даними інших дослідників [7, 10, 11, 15]. Порушення кісткової тканини, такі як остеопенія, остеопороз та остеомалія є частими, хоча і менш розпізнаними, ускладненнями при хронічних захворюваннях печінки і жовчовивідних шляхів. Правильне харчування, достатнє споживання кальцію, вітаміну D, гепатопротекторів та сорбентів, анти-

поротичних препаратів дозволяють збільшити кісткову масу та є корисними в профілактиці переломів кісток [10].

Таким чином, аналіз отриманих даних показав, що за впливу модельованого хронічного холестаза відбуваються досить виражені патологічні зміни всіх основних компонентів стегнової кістки. Однак проведення профілактичних заходів із залученням гепатопротектора та сорбенту допомагає значно покращити стан кісткової тканини.

Стаття надійшла до редакції 27.09.2023

Висновки

1. Морфологічні дослідження стегнової кістки показали, що хронічний холестаз призводив до патологічних змін тканини стегнової кістки, а саме до розшарування періосту, зменшення кількості ізогенних груп, запусіння окремих лакун, зменшення кількості остеобластів та потоншення кісткових трабекул.

2. Оцінка морфометричних параметрів стегнової кістки у щурів з хронічним холестазом виявила зниження на 25,8% питомого об'єму хряща суглобових поверхонь, зниження на 14,4% питомого об'єму кісткового мозку та на 39,4% кількості остеобластів, а також збільшення на 33,1% питомого об'єму кісткових балок відносно групи контролю.

3. Проведення профілактики за допомогою гепатопротектора та сорбенту значно покращувало стан кісткової тканини у щурів з патологією хронічного холестаза. Введення профілактичного комплексу сприяло достовірному зростанню питомого об'єму хряща суглобових поверхонь – на 17,2%, питомого об'єму кісткового мозку на 42,9%, середньої кількості остеобластів на 34,9% та зниженню питомого об'єму кісткових балок на 31,7% відносно групи тварин з хронічним холестазом.

Список використаної літератури

1. Борисенко Л., Стародубцев Е. Формула здоров'я: Київ, 2015. 56 с.
2. Варенюк І. М., Держинський М.Е. Методи цито-гістологічної діагностики: навч. посіб. Київ: Інтенсервіс, 2019. 256 с.
3. Вплив екстракту листя лепехи звичайної (*Acorus calamus* L.) на показники холестаза та жовчовидільну функцію печінки за експериментального гепатиту / Л.В. Деримедвідь та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 2. С. 114–121.
4. Галей М. М., Дзюбановський І. Я., Марчук І. П. Оцінка доцільності симультанних лапароскопічних втручань для лікування захворювань гепатобіліарної системи. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2020. Т. 24, № 3. С. 418–424.
5. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: навч. посіб. Житомир: «Полісся», 2015. 286 с.
6. Десятерик В. І., Котов О. В., Мамчур Д. В. Шляхи поліпшення хірургічного лікування механічної жовтяниці на тлі жовчнокам'яної хвороби. *Український журнал хірургії*. 2017. № 32. С. 100–105.
7. Ждан В. М., Іваницький І. В., Іщейкіна Ю. А. Визначення показників мінеральної щільності кісток у пацієнтів із фіброзними змінами паренхіми печінки. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Т. 6, № 5 (33). С. 158–162.
8. Маркери прогресування фіброзних змін печінки в пацієнтів із хронічним токсичним гепатитом медикаментозного генезу / В. І. Діденко та ін. *Гастроентерологія*. 2021. Т. 55, № 2. С. 91–97.

9. Міщенко О.Я., Юрченко К.Ю., Кириченко І.В. Аналіз експериментальних моделей холестазу та механізми їх розвитку. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: тези доп. І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 158–159.
10. Остеопороз у хворих на хронічні захворювання печінки: патогенез, діагностика та лікування / В. Ткаченко та ін. *Буковинський медичний вісник*. 2023. Т. 27, № 2 (106). С. 53–59.
11. Поліщук С.С., Давиденко І.С., Шувалов С.М. Порівняльне дослідження гістологічних змін кісткової тканини нижньої щелепи щурів у ділянці травматичного дефекту при патології гепатобіліарної системи. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2017. № 29. С. 66–73.
12. Пародонтопротекторна ефективність антидисбіотичного гепатопротектора «Леквін» у хворих на гепатобіліарну патологію. В.М. Зубачик та ін. *Вісник стоматології*. 2017. № 4 (101). С. 26–29.
13. Чернявський В.В., Неверовський А.В. Корекція функціонального стану печінки при її хронічних захворюваннях. *Сучасна гастроентерологія*. 2021. № 3 (119). С. 43–48.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg. Council of Europe, 1986. № 123. 51 p.
15. Guañabens, N., Parès, A. Osteoporosis in chronic liver disease. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2018. Vol. 38 (5). P. 776–785.

І.Л. Ришко, Т.В. Косенко, О.А. Макаренко

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
біологічний факультет, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини
та природничої освіти
вул. Дворянська 2, Одеса, Україна, e-mail: tmogilevska62@gmail.com

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ЗМІН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ КІСТКИ У ЩУРІВ З ХРОНІЧНИМ ХОЛЕСТАЗОМ ПРИ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ ІЗ ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ТА СОРБЕНТУ

Резюме

Проблема. Порушення відтоку жовчі при холестазі спричинює недостатнє всмоктування у тонкій кишці макро- і мікроелементів і жиророзчинних вітамінів (А, D, Е, К), які необхідні для здійснення процесів ремоделювання кісткової тканини. Для усунення патологічних змін у кістковій тканині на тлі захворювань гепатобіліарної системи у щурів, зокрема, при холестазі, потрібен комплексний підхід [6]. Як профілактичний комплекс можна розглядати гепатопротектор, який завдяки своїм головним компонентам (лецитин, кверцетин) захищає печінку та розріджує жовч, у поєднанні із сорбентом, що має сорбуючі властивості.

Мета. Провести гістоморфометричне дослідження стегнової кістки у щурів з хронічним холестазом та оцінити ефективність профілактичного комплексу.

Методика. Дослідження проводили на щурах самцях, розподілених на три групи: 1 група – інтактна, 2 група – щури з модельованим хронічним холестазом, 3 група – щури, яким паралельно із розвитком патології хронічного холестазу проводили профілактику. Холестаз у щурів моделювали шляхом перев'язки загальної жовчної протоки під тіопенталовим наркозом [9]. Гепатопротектор у дозі 500 мг/кг та сорбент у дозі 1 г/кг щурам 3-ої групи вводили одноразово щоденно упродовж 4-х місяців.

Гістологічний аналіз і фотографування зрізів стегнової кістки проводили за допомогою світлового мікроскопу та камери для мікроскопу Olympus LC30 (Japan).

Морфометричні дослідження стегнової кістки щурів проводили за такими параметрами: питомий об'єм (%) суглобового епіфізарного хряща, питомий об'єм (%) кісткових балок, питомий об'єм (%) кісткового мозку та кількість остеобластів на певній площі.

Основні результати. У щурів з хронічним холестазом виявлено певні гістологічні зміни у епіфізі стегнової кістки, а саме відмічалось помітне розшарування періосту. У глибоких шарах хряща відмічали зменшення кількості ізогенних груп, крім того вони містили меншу кількість хондроцитів. Також спостерігали запусніння окремих лакун, зменшення кількості остеобластів та потоншення кісткових трабекул, що вказує на певні патологічні зміни у кістковій тканині.

Аналіз морфометричних параметрів стегнової кістки у щурів з хронічним холестазом виявив зниження питомого об'єму хряща суглобових поверхонь на 25,8%, зниження питомого об'єму кісткового мозку і кількості остеобластів на 14,4% та на 39,4% відповідно, а також збільшення на 33,1% питомого об'єму кісткових балок відносно групи контролю. Введення профілактичного комплексу сприяло достовірному зростанню питомого об'єму хряща суглобових поверхонь – на 17,2%, питомого об'єму кісткового мозку на 42,9%, середньої кількості остеобластів на 34,9% та зниженню питомого об'єму кісткових балок на 31,7% відносно групи тварин з хронічним холестазом.

Тобто, застосування профілактичного комплексу, який складався із гепатопротектора і сорбенту ефективно усувало патологічні зміни у кістковій тканині, які виникли на тлі розвитку хронічного холестазу.

Висновки. Формування хронічного холестазу призводить до патологічних змін у хрящовій тканині епіфізів стегнової кістки дослідних тварин, а саме зменшує питомий об'єм хряща суглобових поверхонь та спричинює порушення основних компонентів кісткової тканини (знижує питомий об'єм кісткового мозку та кількість остеобластів на тлі збільшення питомого об'єму кісткових балок). Ефективність профілактики в усуненні патологічних змін у кістковій тканині на тлі хронічного холестазу проявилася завдяки гепатопротекторній, антиоксидантній, протизапальній та жовчорозріджувальній дії гепатопротектора у поєднанні із сорбентом.

Ключові слова: щури; хронічний холестаза; стегнова кістка; гепатопротектор; сорбент; морфометричний аналіз; гістологічне дослідження

I. L. Ryzhko, T. V. Kosenko, O. A. Makarenko

Odesa I. I. Mechnikov National University, Faculty of Biology, Department of Physiology, Human Health and Safety and Natural Science Education, 2 Dvorianska str., Odesa, Ukraine, e-mail: tmogilevska62@gmail.com

HISTOMORPHOMETRIC ASSESSMENT OF CHANGES THE STRUCTURAL COMPONENTS OF THE BONE IN RATS WITH CHRONIC CHOLESTASIS WITH CORRECTION OF THE COMPLEX FROM HEPATOPROTECTOR AND SORBENT

Summary

Problem. The disruption of the gastric duct in cholestasis causes insufficient absorption in the small intestine of macro- and microelements and fat-rich vitamins (A, D, E, K), which are necessary for healthy processes, and remodeling of bone tissue. To reduce pathological changes in bone tissue diseases of the hepatobiliary system in rats statement in cholestasis, need a comprehensive approach [6]. In the core of the preventive complex one can see a hepatoprotector, which, due to its main components (lecithin, quercetin), possesses the liver protecting properties, as well as has anti-inflammatory and bile-diluting effects, and a sorbent.

Aim. To conduct a histomorphometric research of the femur in rats with chronic cholestasis and evaluate the effectiveness of the prophylactic complex.

Methods. The follow-up study was carried out on male rats, divided into three groups: 1st group – intact, 2nd group – rats with simulated chronic cholestasis, 3rd group – rats, who, in parallel with the development of chronic cholestasis pathology, carried out prevention. Cholestasis in rats was modeled by ligation of the biliary duct under thiopental anesthesia [9]. A hepatoprotector at a dose of 500 mg/kg and a sorbent at a dose of 1 g/kg were administered to group 3 of the animals once over a period of 4 months. Histological analysis and photography of sections of the stegnus cyst were carried out using an additional light microscope and a camera for an Olympus LC30 microscope (Japan). Morphometric studies of rat femur were carried out using the following parameters: volume (%) of the articular epiphyseal cartilage, volume (%) of the cartilage, volume (%) of the cerebrum and the number of osteoblasts per the particular area.

The main results. Certain histological changes in the epiphysis of the femoral bone were found in rats with chronic cholestasis, namely, noticeable delamination of the periosteum was noted. In the deep layers of the cartilage, a decrease in the number of isogenic groups was noted, in addition, they contained a smaller number of chondrocytes. Desolation of individual lacunae, a decrease in the number of osteoblasts, and thinning of bone trabeculae were also observed, indicating certain pathological changes in bone tissue.

Analysis of the morphometric parameters of the femur in rats with chronic cholestasis revealed a decrease in the specific volume of the cartilage of the articular surfaces by 25.8%, a decrease in the specific volume of the bone marrow and the number of osteoblasts by 14.4% and 39.4%, respectively, and as well as an increase of 33.1% in the specific volume of bone beams in relation to the control group. The introduction of the prophylactic complex contributed to a significant increase in the specific volume of the cartilage of the articular surfaces – by 17.2%, the specific volume of bone marrow by 42.9%, the average number of osteoblasts by 34.9%, and a decrease

in the specific volume of bone beams by 31.7% relative to the group of animals with chronic cholestasis.

That is, the use of a prophylactic complex, which consisted of a hepatoprotector and a sorbent, effectively eliminated pathological changes in bone tissue that arose against the background of the development of chronic cholestasis.

Conclusions. The formation of chronic cholestasis leads to pathological changes in the cartilaginous tissue of the epiphysis of the femur of the animals under study, and it itself changes the volume of cartilage of the subglobular surfaces and causes destruction of the main components in bone tissue (reduces the volume of bone marrow and the number of osteoblasts at the background of the growth the volume of bone beams).

The effectiveness of prophylactic in the elimination of pathological changes in bone tissue at the background of chronic cholestasis has manifested itself as a hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory and anti-inflammatory hepatoprotector and those combined with a sorbent.

Key words: rats; chronic cholestasis; femur; hepatoprotector; sorbent; morphometric analysis; histological research

References

1. Borysenko, L., & Starodubtsev, E. (2015). *Formula zdorovia [Health formula]*. Kiev [in Ukrainian].
2. Varenjuk, I. M., & Dzerzhinskij, M. E. (2019). *Metodi cito-gistologichnoyi diagnostiki: navchalnij posibnik [Methods of cyto-histological diagnosis: study guide]*. Intenservis [in Ukrainian].
3. Derimedvid, L. V., Korang, L. A., Kalko, K. O., & Vereitinova, V. P. (2020). Vpliv ekstraktu listya lepehi zwichajnoyi (*Acorus calamus* L.) na pokazniki holestazu ta zhovchovidilnu funkciyu pechinki za eksperimentalnogo gepatitu [The effect of an extract of the leaves of common calamus (*Acorus calamus* L.) on indicators of cholestasis and biliary function of the liver in experimental hepatitis]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 14, 2, 114–121[in Ukrainian].
4. Galej, M. M., Dzyubanovskij, I. Ya., & Marchuk, I. P. (2020). Ocinka docilnosti simultannih laparoskopichnih vtruchan dlya likuvannya zahvoryuvan gepatobiliarnoyi sistemi [Evaluation of the expediency of simultaneous laparoscopic interventions for the treatment of diseases of the hepatobiliary system]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu*, 24, 3, 418–424[in Ukrainian].
5. Goralskij, L. P., Homich, V. T., & Kononskij, O. I. (2015). *Osnovi gistologichnoyi tehniki i morfofunkcionalni metodi doslidzhen u normi ta pri patologiyi: navch. Posib [Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions: training. manual]*. Polissya [in Ukrainian].
6. Desyaterik, V. I., Kotov, O. V., & Mamchur, D. V. (2017). Shlyahi polipshennya hirurgichnogo likuvannya mehanichnoyi zhovtyanici na tli zhovchnokam'yanoyi hvorobi [Ways to improve the surgical treatment of mechanical jaundice against the background of gallstone disease]. *Ukrayinskij zhurnal hirurgiyi*, 32, 100–105 [in Ukrainian].
7. Zhdan, V. M., Ivanickij, I. V., & Ishejkina Yu. A. (2021). Vznachennya pokaznikiv mineralnoyi shilnosti kistok u paciyentiv iz fibrozniimi zminami parenhimi pechinki [Determination of bone mineral density in patients with fibrotic changes in the liver parenchyma]. *Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu*, 6, 5 (33), 158–162[in Ukrainian].
8. Didenko, V. I., Tatarchuk, O. M., Petishko, O. P., Konenko, I. S., & Melanich, S. L. (2021). Markeri progresuvannya fibrozniih zmin pechinki v paciyentiv iz hronichnim toksichnim gepatitom medikamentoznogo genuzu [Markers of the progression of fibrotic changes in the liver in patients with chronic drug-induced toxic hepatitis]. *Hastroenterolohiia*, 55, 2, 91–97[in Ukrainian].
9. Mishchenko, O. Ya., Yurchenko, K. Yu., & Kyrychenko, I. V. (2018). Analiz eksperymentalnykh modelei kholestazu ta mekhanizmy yikh rozvytku» Mekhanizmy rozvytku patolohichnykh protsesiv i khvorob ta yikhnia farmakolohichna korektsiia: tezy dop. I nauk.-prakt. internet-konf. z mizhnar. uchastiu [Analysis of experimental models of cholestasis and mechanisms of their development», Mechanisms of development of pathological processes and diseases and their pharmacological correction: theses of the add. And science. – practice. internet conf. from mezhnar. participation]. Kharkiv, 18 Octob, Kh.: NFaU, 158–159[in Ukrainian].

10. Tkachenko, T. V., Pentiuk, N. O., Pentiuk, L. O., & Tomashkevych, H. I. (2023). Osteoporoz u khvorykh na khronichni zakhvoriuvannia pechinky: patohenez, diahnozyka ta likuvannia [Osteoporosis in patients with chronic liver disease: pathogenesis, diagnosis and treatment]. *Bukovynskyi medychnyi visnyk*, 21, 2 (106), 53–59 [in Ukrainian].
11. Polishchuk, S. S., Davydenko, I. S., & Shuvalov, S. M. (2017). Porivnialne doslidzhennia histolohichnykh zmin kistkovoï tkanyny nyzhnoi shchelepy shchuriv u diliantsi travmatychnoho defektu pry patolohii hepatobiliarnoi systemy [Comparative study of histological changes of bone tissue of the mandible of rats in the area of traumatic defect in pathology of hepatobiliary system]. *Biomedical and biosocial anthropology*, 29, 66–73[in Ukrainian].
12. Zubachik, V. M., Furdichko, A. I., Boris, G. Z., Skiba, V. Ya., & Makarenko O.A. (2017). Parodontoprotekorna efektyvnist antidybiotichnogo gepatoprotektora «Lekvin» u hvorih na gepatobiliarnu patologiïu [Periodontoprotective effectiveness of antidysbiotic hepatoprotector «Lequin» in patients with hepatobiliary pathology]. *Visnik stomatologiyi*, 4 (101), 26–29 [in Ukrainian].
13. Chernyavskij, V. V., & Neverovskij, A. V. (2021). Korekciya funktsionalnogo stanu pechinky pri yiyi hronichnih zahvoryuvannyah [Correction of the functional state of the liver in its chronic diseases]. *Suchasna gastroenterologiya*, 3 (119), 43–48[in Ukrainian].
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg.Council of Europe, 1986. № 123.
15. Guañabens, N., & Parés, A. (2018). Osteoporosis in chronic liver disease. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 38 (5), 776–785.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293003](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293003)

УДК: 591.1:616-092.9:612.621.31

О. С. Сідлецький¹, аспірант

О. А. Макаренко^{1,2}, д.б.н., с.н.с.

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: abcd35133@gmail.com

²Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії» НАМН України, Рішельєвська, 11, Одеса 65026, Україна, e-mail: flavan.ua@gmail.com

АНТИОКСИДАНТНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОФІЛАКТИЧНОГО КОМПЛЕКСУ З КВЕРЦЕТИНОМ У ОВАРІОЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ

Проведено дослідження щодо впливу оваріоектомії та неповноцінної за кальцієвим та білковим складом дієти на окремі показники антиоксидантно-прооксидантної системи організму щурів, а також визначення антиоксидантної ефективності профілактичного комплексу на основі кверцетину, вітамінів, макро- і мікроелементів у оваріоектомованих самок з аліментарним дефіцитом білка і кальцію. З'ясовано, що за умови патології відбувалось пригнічення антиоксидантної системи захисту на тлі активації перекісного окиснення ліпідів. Застосування комплексу біологічно активних речовин ефективно попереджувало встановлені порушення.

Ключові слова: оваріоектомія; дефіцит білка і кальцію; кверцетин; вітаміни; мінерали; антиоксидантна та прооксидантна системи

Рання менопауза, яка характеризується припиненням менструальної функції до 40 років та супроводжується зменшенням рівня естрогенів в організмі (гіпоестрогенією) є однією з актуальних проблем для сучасної медицини.

У світі, раннє припинення менструальної функції до 45 років в середньому спостерігають у 5% жінок, до 40 років у 1%, від 30 до 40 років в однієї з тисячі, до 30 років в однієї з десяти тисяч [1]. Останніми десятиріччями відбувається збільшення частоти ранньої менопаузи через поширення хіміотерапії та інших видів медичного втручання (хірургічні операції на матці та яєчниках, застосування комбінованих гормональних контрацептивів), через забруднення навколишнього середовища бісфенолом А, який зустрічається у складі пластмас та пестицидами. Передчасне припинення менструальної функції також може бути наслідком перенесеного посттравматичного стресового розладу, що є на часним, через бойові дії на території України [1, 3, 12, 14].

Гіпоестрогенія здатна зумовлювати патологію практично всіх систем організму, але найбільш вираженими є розлади серцево-судинної системи, що разом із порушенням ліпідного обміну спричинює розвиток атеросклерозу;

розлади нервової системи, із супутньої депресією та погіршенням пам'яті; сухість шкіри та слизових оболонок, в тому числі повік та статевих органів. Характерним є ураження кісткової тканини, внаслідок чого розвиваються процеси остеодистрофії та остеопороз, а в ділянці щелеп, яка є дуже чутливою до порушень рівноваги між резорбцією кістки та її відновленням – пародонтит. Перелічені стани супроводжуються запальними процесами у тканинах та пригніченням системи антиоксидантного захисту [1,9,17].

Відомо, що патологія одного органу буде так чи інакше впливати на весь організм, особливо це відноситься до хвороб, які зумовлені дисфункцією ендокринної системи, що є підґрунтям для комплексного підходу до лікування та профілактики ускладнень даних патологій.

Комплексний підхід при гіпоестрогенних станах обов'язково повинен включати препарати, що містять естрогени, тобто замісну гормональну терапію (ЗГТ), але, незважаючи на високу ефективність, вона тягне за собою низку побічних ефектів: алергічні реакції, порушення в роботі ендокринних залоз, добро- та злоякісні процеси. Також її не можна застосовувати для профілактики у пацієнтів з групи ризику та у перменопаузальному віці, оскільки патологія, як така в них ще не настала. Якісною альтернативою та доповненням ЗГТ можна розглядати прийом флавоноїдів, таких як кверцетин, що здійснюють естрогеноподібну дію та майже не мають вираженої побічної дії при тривалому застосуванні, але при цьому доволі ефективні, особливо в комплексі з вітамінами, макро- та мікроелементами [2, 8].

У зв'язку зі сказаним, **метою даної роботи** стало встановлення антиоксидантної ефективності комплексу біологічно активних речовин з кверцетином на стан антиоксидантно-прооксидантної системи (каталаза, малоновий діальдегід, антиоксидантно-прооксидантний індекс) у крові, травному тракті і щелепах самок щурів після оваріоектомії в поєднанні з неповноцінним раціоном.

Матеріали та методи

Дослідження були проведені на 24 самках щурів лінії Вістар віком 2,5 місяців та середньою масою $117 \pm 5,9$ г, яких поділили на 3 групи (по 8 в кожній): 1 – інтактні тварини; 2 – тварини, яким моделювали хірургічну менопаузу шляхом оваріоектомії та утримували на неповноцінній за складом дієті; 3 – тварини, яким на тлі оваріоектомії профілактично вводили комплекс кверцетину, вітамінів, макро- і мікроелементів у дозі 500 мг/кг.

Оваріоектомію здійснювали в асептичних умовах під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом розкриття черевної порожнини та видалення обох яєчників. Далі цих тварин годували неповноцінним за вмістом кальцію та білка раціоном протягом 4 місяців. Неповноцінна дієта складалася з кукурудзяної крупи, буряка, гарбуза, яблук у кількості, що відповідала вмісту 10–15 мг кальцію та 3–4 г білка на 100 г тварин [7].

Компоненти комплексу змішували у таких кількостях: кверцетин («Квертин» Борщагівський ХФЗ) – 500 мг; цитрат кальцію з раковин чорноморських устриць (лабораторний зразок власної технології) – 1500 мг; вітамін D₃ («Олідетрим Кідс краплі оральні» МЕДАНА ФАРМА АО, Польща) – 300 МО; селен («Селен активний», ТОВ «Еліт-фарм», м. Дніпро, Україна) – 500 мг; мідь («Мідь активна», ТОВ «Еліт-фарм», Україна, Дніпро) – 750 мг; цинк («Цинк активний», ТОВ «Еліт-фарм», м. Дніпро, Україна) – 500 мг; магній («Магній активний», ТОВ «Еліт-фарм», Україна, Дніпро) – 1500 мг; марганець («Марганець активний», ТОВ «Еліт-фарм», м. Дніпро Україна,) – 750 мг; вітамін С («Київський вітамінний завод» ПАТ, м. Київ, Україна) – 500 мг. Дози вітамінів та мінералів відповідали фізіологічній потребі тварин в умовах аліментарного дефіциту білка та кальцію [10]. Комплекс препаратів вводили щурам 3-ої групи перорально, щоденно зранку у вигляді суспензії. При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходились у стандартних умовах віварію згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей [11].

Через 4 місяці тварин виводили з експерименту. В сироватці крові, гомогенатах слизових оболонок травного тракту (20 мг/мл 0,05 М буфера трис-НСІ, рН 7,5), печінки (50 мг/мл 0,05 М буфера трис-НСІ, рН 7,5), альвеолярного відростку щелеп (75 мг/мл 0,01 М цитратного буфера, рН 6,1) визначали вміст малонового діальдегіду (МДА), активність каталази та розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) [7].

Статистичне опрацювання отриманих результатів проводили за допомогою коефіцієнта Стьюдента у програмі Microsoft Excel 2019.

Результати досліджень та їх обговорення

У таблиці 1 представлені результати дослідження активності каталази. Каталаза відноситься до антиоксидантних ферментів і руйнує перекис водню, що утворюється в реакції знешкодження супероксиданіону при багатьох патологічних процесах, тобто бере участь у інактивації активних форм кисню після супероксиддисмутази. Як можна побачити з наведених у таблиці 1 результатів, активність каталази з високим ступенем достовірності знижувалася у щурів другої групи, майже в усіх тканинах, окрім сироватки крові та альвеолярного відростку. Так, у самок тварин, після оваріоектомії та отримання неповноцінної дісти, зменшення активності каталази відносно інтактної групи склало у слизовій оболонці порожнини рота (СОПР) 5,61% (хоча – $p \geq 0,1$); у слизовій оболонці шлунку – 38,49% ($p \leq 0,001$), у слизовій оболонці тонкої кишки – 30,08% ($p \leq 0,01$), у слизовій оболонці товстої кишки – 36,45% ($p \leq 0,001$), у печінці – 7,6% ($p \leq 0,001$). При цьому, активність каталази у сироватці крові та альвеолярному відростку щелеп у тварин з патологією, навпаки, збільшувалась на 10,19% та 10,78% відповідно ($p \leq 0,001$; табл. 1).

Показники активності каталази у щурів третьої групи, яким надавали профілактичний комплекс, були вищими, ніж у другій групі, а у деяких випадках, вищими, ніж у контролі (табл. 1). Так, після введення оваріоектомованим щурам комплексу мінералів та вітамінів активність каталази у сироватці крові збільшилася на 6,16% ($p_1 \leq 0,001$), у СОПР – на 11,43% ($p_1 \leq 0,002$), у слизовій оболонці шлунку – на 23,05% ($p_1 \leq 0,002$), у слизовій оболонці тонкої кишки – на 11,47% (хоча $p_1 \geq 0,2$), у слизовій оболонці товстої кишки – на 40,8% ($p_1 \leq 0,002$), у печінці – на 5,63% ($p_1 \leq 0,005$), у кістковій тканині альвеолярного відростку – на 7,52% ($p_1 \geq 0,1$). Таким чином, застосування профілактичного комплексу на основі флаваноїду кверцетину, цитрату кальцію, мінералів і вітамінів у самок щурів в умовах дефіциту естрогенів та аліментарного білка і кальцію сприяло активації антиоксидантної системи організму.

Таблиця 1

Активність каталази у сироватці крові, слизових оболонках травного тракту, печінці та шелепі оваріоектомованих самок щурів з аліментарним дефіцитом білка і кальцію та після введення комплексу вітамінів і мінералів

Тканина \ Група	Інтактна	Оваріоектомія + неповноцінна дієта	Оваріоектомія + неповноцінна дієта + комплекс
Сироватка крові, мкат/л	0,324±0,003	0,357±0,003 $p \leq 0,001$	0,379±0,004 $p \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,001$
Слизова оболонка порожнини рота (СОПР), мкат/кг	9,45±0,22	8,92±0,21 $p \geq 0,1$	9,94±0,13 $p \geq 0,05$ $p_1 \leq 0,002$
Слизова оболонка шлунку, мкат/кг	5,43±0,20	3,34±0,18 $p \leq 0,001$	4,11±0,19 $p \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,002$
Слизова оболонка тонкої кишки, мкат/кг	3,99±0,26	2,79±0,29 $p \leq 0,01$	3,11±0,20 $p \leq 0,02$ $p_1 \geq 0,2$
Слизова оболонка товстої кишки, мкат/кг	5,13±0,32	3,26±0,18 $p \leq 0,001$	4,59±0,21 $p \geq 0,1$ $p_1 \leq 0,001$
Печінка, мкат/кг	4,61±0,02	4,26±0,04 $p \leq 0,001$	4,50±0,05 $p \geq 0,05$ $p_1 \leq 0,005$
Кісткова тканина альвеолярного відростку шелеп, мкат/кг	2,04±0,03	2,26±0,04 $p \leq 0,001$	2,43±0,09 $p \leq 0,002$ $p_1 \geq 0,1$

Примітка: p – достовірність відмінностей від показника інтактної контрольної групи,
 p_1 – достовірність відмінностей від показника другої групи.

Отримані результати свідчать про посилення прооксидантних процесів у травному тракті самок щурів, яким провели оваріоектомію та утримували на раціоні збідненому за кальцієм та білком. Статистично значуще підвищення

активності каталази у сироватці крові та кісткової тканини щелеп щурів з патологією може говорити про компенсаторну активацію другого етапу руйнування активних форм кисню. За виснаженням (зниженням) активності каталази в слизових оболонках можна припустити, що антиоксидантна система травного тракту щурів більш уразлива в умовах дефіциту естрогенів, білка та кальцію. У той же час фермент антиоксидантного захисту каталаза кісткової тканини та крові оваріоектомованих самок знаходився у стані компенсаторної активації, що свідчить про потужність антиоксидантного захисту крові і кісток.

Одним із найважливіших індикаторів активізації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є збільшення вмісту малонового діальдегіду (МДА) у тканинах. З таблиці 2 можна побачити, що активність даної сполуки збільшувалась у всіх тканинах щурів з патологією.

Таблиця 2

Вміст малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові, слизових оболонках травного тракту, печінці та щелепі оваріоектомованих самок щурів з аліментарним дефіцитом білка і кальцію та після введення комплексу вітамінів і мінералів

Тканина \ Група	Інтактна	Оваріоектомія + неповноцінна дієта	Оваріоектомія + неповноцінна дієта + комплекс
Сироватка, ммоль/л	0,423±0,015	0,558±0,027 p ≤ 0,001	0,461±0,020 p ≥ 0,1 p ₁ ≤ 0,02
Слизова оболонка порожнини рота (СОПР), ммоль/кг	15,71±1,14	19,76±1,42 p ≤ 0,05	15,71±1,22 p ≥ 0,5 p ₁ ≤ 0,05
Слизова оболонка шлунку, ммоль/кг	10,12±0,52	14,24±0,87 p ≤ 0,002	10,96±0,48 p ≥ 0,2 p ₁ ≤ 0,01
Слизова оболонка тонкої кишки, ммоль/кг	7,66±0,44	9,68±0,86 p ≥ 0,05	7,69±0,64 p ≥ 0,5 p ₁ ≥ 0,1
Слизова оболонка товстої кишки, ммоль/кг	8,36±0,54	11,34±0,62 p ≤ 0,005	8,84±0,56 p ≥ 0,5 p ₁ ≤ 0,01
Печінка, ммоль/кг	25,64±1,06	38,46±1,01 p ≤ 0,001	31,60±0,72 p ≤ 0,001 p ₁ ≤ 0,001
Кісткова тканина альвеолярного відростку щелеп, ммоль/кг	8,85±0,30	10,91±0,52 p ≤ 0,005	8,79±0,67 p ≥ 0,5 p ₁ ≤ 0,05

Примітки як до таблиці 1.

Так, у оваріоектомованих щурів на тлі аліментарного дефіциту білка і кальцію відбувалося збільшення вмісту МДА з високим ступенем достовірності відносно показників інтактних щурів у сироватці крові на 31,91% (p ≤ 0,001),

у СОПР – на 25,78% ($p \leq 0,05$), у слизовій оболонці шлунку – на 40,71% ($p \leq 0,002$), у слизовій оболонці товстої кишки – на 35,65% ($p \leq 0,005$), у печінці – на 50,00% ($p \leq 0,001$), у гомогенаті альвеолярного відростку – 23,28% ($p \leq 0,005$); у слизовій оболонці тонкої кишки вміст МДА був більшим на 26,37%, але недостовірно ($p \geq 0,05$).

Застосування профілактичного комплексу кверцетину, мінералів і вітамінів у щурів третьої групи ефективно попереджувало зростання вмісту МДА в усіх тканинах та привело до зменшення вмісту цього токсичного продукту ПОЛ. Рівень МДА у всіх тканинах щурів третьої групи, за виключенням печінки, статистично не відрізнявся від показників у здорових тварин. Введення комплексу препаратів оваріоектомованим щурам з аліментарним дефіцитом білка і кальцію сприяло достовірному зменшенню вмісту МДА у печінці, але цей показник зберігався на високому рівні ($p \leq 0,001$, $p_1 \leq 0,001$; табл. 2).

Використовуючи дані, представлені в таблицях 1 та 2, нами був розрахований антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), який виражається через співвідношення між активністю каталази та МДА і є дуже показовим для відображення стану активності захисних механізмів проти вільнорадикальних процесів.

Згідно з даними з таблиці 3, індекс АПІ, зменшився у групі з патологією відносно інтактних тварин. У сироватці крові індекс АПІ знизився на 16,45% ($p \leq 0,001$), у СОПР – на 25,08% ($p \leq 0,001$), у слизовій оболонці шлунку – на 56,24% ($p \leq 0,001$), у слизовій оболонці тонкої кишки – на 44,72% ($p \leq 0,002$), у слизовій оболонці товстої кишки – на 53,26% ($p \leq 0,001$), у печінці – на 38,33% ($p \leq 0,001$), у гомогенаті альвеолярного відростку – на 10,39% ($p \leq 0,05$).

В тканинах оваріоектомованих щурів з дефіцитом білка і кальцію після профілактики відбувалось збільшення АПІ: у сироватці крові – на 28,44% ($p_1 \leq 0,001$), у СОПР – на 40,35% ($p_1 \leq 0,05$), у слизовій оболонці шлунку – на 59,57% ($p_1 \leq 0,02$), у слизовій оболонці тонкої кишки – на 40,28% ($p_1 \geq 0,05$), у слизовій оболонці товстої кишки – на 80,84% ($p_1 \leq 0,001$), у печінці – на 27,93% ($p_1 \leq 0,001$), у гомогенаті альвеолярного відростку – на 33,3% ($p_1 \leq 0,001$) (табл. 3).

Отже, на підставі отриманих нами результатів дослідження можна стверджувати, що за умови зниження рівня статевих гормонів у сукупності з аліментарним дефіцитом білка і кальцію у самок щурів відбувається зниження активності каталази, яка відображає стан антиоксидантної системи, на тлі активізації процесів ПОЛ у слизових оболонках травного тракту, кістковій тканині, а також у крові. Це підтверджується збільшенням вмісту МДА. Наслідком цих процесів є утворення великої кількості ліпідних пероксидів, які призводять до утворення міжмолекулярних зшивок в ліпопротеїнових структурах клітини, що разом із відносною недостатністю антиоксидантної системи спричиняє ушкодження клітинних мембран з порушенням їх функцій [5].

Таблиця 3

Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) у сироватці крові, слизових оболонках травного тракту, печінці та щелепі оваріоектомованих самок щурів з аліментарним дефіцитом білка і кальцію та після введення комплексу вітамінів і мінералів (умовні од.)

Тканина \ Група	Інтактна	Оваріоектомія + неповноцінна дієта	Оваріоектомія + неповноцінна дієта + комплекс
Сироватка	7,66±0.02	6,40±0.01 p ≤ 0,001	8,22±0.02 p ≤ 0,001 p ₁ ≤ 0,001
Слизова оболонка порожнини рота (СОПР)	6,02±0.21	4,51±0.15 p ≤ 0,001	6,33±0.11 p ≥ 0,2 p ₁ ≤ 0,05
Слизова оболонка шлунку	5,37±0.32	2,35±0.21 p ≤ 0,001	3,75±0.4 p ≤ 0,01 p ₁ ≤ 0,02
Слизова оболонка тонкої кишки	5,21±0.43	2,88±0.34 p ≤ 0,002	4,04±0.32 p ≤ 0,05 p ₁ ≥ 0,05
Слизова оболонка товстої кишки	6,14±0.48	2,87±0.2 p ≤ 0,001	5,19±0.38 p ≥ 0,2 p ₁ ≤ 0,001
Печінка	1,80±0,02	1,11±0,03 p ≤ 0,001	1,42±0,07 p ≤ 0,001 p ₁ ≤ 0,001
Кісткова тканина альвеолярного відростку щелеп	2,31±0,01	2,07±0,06 p ≤ 0,05	2,76±0,1 p ≤ 0,02 p ₁ ≤ 0,001

Примітки як до таблиці 1.

Різноманітні зміни вмісту МДА та активності каталази призводять до падіння індексу АПІ, що є ознакою пригнічення антиоксидантного захисного потенціалу тканин внутрішніх органів, а у випадку із альвеолярною кісткою – непрямою ознакою руйнування кісткової тканини [4].

Застосування профілактичного комплексу на основі кверцетину, аскорбінової кислоти, селену, цитрату кальцію та інших вітамінів і мінералів нормалізує вміст МДА, активність каталази та АПІ у сироватці крові, слизових оболонках травного тракту, печінці та кістковій тканині альвеолярного відростку щелеп оваріоектомованих самок щурів з аліментарним дефіцитом білка і кальцію.

Антиоксидантна активність розробленого нами комплексу перед усім пов'язана із наявністю у його складі потужного антиоксиданту флавоноїду кверцетину, який також здійснює мембраностабілізуючу, гепатопротекторну, протизапальну та естрогеноподібну дії. Кверцетин здатний інгібувати процеси ПОЛ, зменшувати рівень вільних радикалів і продуктів перекисації; також він блокує ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти, знижує утворення лейкотрієнів та інших медіаторів запалення. Оскільки

ця сполука за своєю структурою подібна до естрогенів ссавців, вона здатна зв'язуватися з естрогеновими рецепторами тканин та моделювати дію статевих гормонів [2,13].

Крім кверцетину потужні антиоксидантні властивості притаманні аскорбіновій кислоті та селену, що входять до складу запропонованого комплексу [15,17].

Цитрат кальцію є найбільш ефективним для засвоєння джерелом кальцію та має виражену остеотропну дію, що взагалі може пояснювати нормалізацію показників активності антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині альвеолярного відростка [6].

Наявність у складі комплексу вітаміну D₃, макро- та мікроелементів чинить загальностимулювальний вплив на організм, посилює остеопротекторну та антиоксидантну дію комплексу.

Таким чином, за результатами проведеного дослідження можна вважати, що оваріоектомія та надання неповноцінної за кальцієвим та білковим складом дієти у самок щурів призводить до активації прооксидантної та одночасним пригніченням антиоксидантної системи. Застосування комплексу кверцетину, вітамінів та мінералів надає виражену неспецифічну антиоксидантну дію завдяки інгібуванню ланки утворення активних форм кисню і перекисів ліпідів, а також через активацію каталази підвищує антиоксидантний статус організму в умовах гіпоестрогенії у сукупності з аліментарним дефіцитом білка і кальцію. Нормалізація стану антиоксидантно-прооксидантної системи під впливом комплексу препаратів може бути непрямою ознакою посилення процесів остеогенезу в кістковій тканині тварин в умовах патології.

Висновки

1. Оваріоектомія з аліментарним дефіцитом білка і кальцію у самок щурів призвела до зменшення ступеня активності каталази у слизових оболонках травного тракту і гомогенаті печінки від 5,61% до 38,49% із зростанням вмісту МДА від 25,78% до 50,00% та зниженням індексу АПІ від 25,08 до 56,24%.

2. Активність каталази у сироватці крові та альвеолярному відростку щелеп тварин з патологією, навпаки, збільшилася на 10,19% та 10,78% відповідно; вміст МДА у сироватці крові збільшився на 31,91%, у кістковій тканині щелеп – на 23,28%; АПІ був меншим у крові на 16,45% та на 10,39% у кістковій тканині.

3. Застосування комплексу кверцетину, мінералів і вітамінів у оваріоектомованих щурів з аліментарним дефіцитом білка і кальцію ефективно попереджувало порушення антиоксидантного захисту, що супроводжувалося збільшенням активності каталази, зменшенням вмісту МДА та зростанням АПІ у тканинах травного тракту, альвеолярному відростку та сироватці крові.

Стаття надійшла до редакції 20.10.2023

Список використаної літератури

1. Венцківська І.Б., Загородня О.С., Наритник Т.Т. Раннє припинення менструальної функції: сучасні погляди на патогенез і наслідки. *Репродуктивна ендокринологія*. 2019. Т. 8, № 4. С. 8–12.
2. Владимірова І.М., Шумова Г.С. Фармакологічні властивості фітоестрогенів і напрями їх клінічного застосування. *Фармаком*. 2020. № 3. С. 49–56
3. Горбатюк О.Г., Григоренко А.П., Шатковська А.С., Васьків О.В., Герич О.Х., Петраш А.І. Особливості гормонального гомеостазу жінок з функціональною гіпоталамічною аменореєю та передчасною недостатністю яєчників, спричинених посттравматичним стресовим розладом. *Репродуктивне здоров'я жінки*. 2023. № 3(66). С. 65–72. <https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2023.283324>
4. Зубачик В.М., Ган І.В., Пасько О.А. Оцінка впливу остеотропних препаратів на активність процесів пероксидного окиснення ліпідів та антоксидантної системи при регенерації кісткової тканини в експерименті. *Клінічна стоматологія*. 2018. № 2. С. 5–9. DOI 10.11603/2311-9624.2018.2.8812
5. Кільмухаметова Ю.Х., Батіг В.М., Табачнюк І.В., Дрозда І.І., Глушенко Т.А. Вільнорадикальна активність та показники антиоксидантного захисту крові на тлі та без використання комплексу антиоксидантних препаратів. *Пародонтологія*. 2020. № 4. С. 13–17. <https://doi.org/10.33295/1992-576X-2020-4-13>
6. Макаренко О.А., Майкова Г.В., Кириленко Н.А., Еберле Л.В. Обмін різних форм кальцію в організмі щурів з преднізолоновим остеопорозом. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2020. Т. 25, вип. (146). С. 123–131. doi 10.18524/2077-1746.2020.1(46).205837
7. Макаренко О.А., Хромагіна Л.М., Ходаков І.В. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник. Одеса: видавець С.Л. Назарчук, 2022. 81с.
8. Николаева А.В. Пародонтопротекторное действие растительных полифенолов у женщин с гипоестрогенной. *Вісник стоматології*. 2015. № 4. С. 31–34.
9. Пилипчук І.С., Флуд В.В., Петришин З.Я. Ендокринні зміни в клімактерії та їх вплив на функціональний стан кісткової тканини. *Вісник стоматології*. 2021.Т.40, № 2. С. 100–105. <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2021-40-2.18>
10. Свідцтво авторського права України № 111997 Комплекс для профілактики порушень кісткового метаболізму при гіпотиреозі / О.А. Макаренко, О.В. Задерей, В. Ходаков, Л.М. Хромагіна. Опубл. 21.02.2022 р.
11. Шнайдер С. А., Левицкий А. П. Экспериментальная стоматология Ч. I. Экспериментальные модели стоматологических заболеваний. Одеса: КП «Одеська міська друкарня», 2017. 67 с.
12. Brander S.M., Gabler M.K., Fowler N.L., Connon R.E., Schlenk D. Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with focus on fishes. *Environmental Science & Technology*. 2016. 50(17). P. 8977–8992. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02253>
13. Dong X., Hu Meng-J., Wang Y.Q., Cui Y.-L. Antioxidant activities of quercetin and its complex for medical application. *Molecules*. 2019. № 24. P. 111–126. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
14. Hu Y., Yuan D.-Z., Wu Y., et al. Bisphenol A Initiates Excessive Premature Activation of Primordial Follicles in Mouse Ovaries via the PTEN Signaling Pathway. *Reproductive sciences*. 2018. 25(4). P. 609–620. <https://doi.org/10.1177/1933719117734700>
15. Njus D., Kelly M.P., Tu Y.-J., Schlegel H.B. Ascorbic acid: the chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020. № 1. P. 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>
16. Zahorodnia O.S., Ventskivska I.B., Kazak A.V. Premature ovarian insufficiency – to treat or not to treat (literature review). *Репродуктивна ендокринологія*. 2019. № 6 (50). P. 12–16. <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2019.50.12-16>
17. Zhang Y.-Y., Ren K.-D., Luo X.-L. COVID-19-induced neurological symptoms: focus on role of metal ions. *Inflammopharmacology*. 2023. № 31. P. 611–631. <https://doi.org/10.1007/s10787-023-01176-2>

О. С. Сідлецький¹, О. А. Макаренко^{1,2}

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: abcd35133@gmail.com

²Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії» НАМН України, Рішельєвська, 11, Одеса 65026, Україна, e-mail: flavan.ua@gmail.com

АНТИОКСИДАНТНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОФІЛАКТИЧНОГО КОМПЛЕКСУ З КВЕРЦЕТИНОМ У ОВАРІОЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ

Резюме

Вступ. Передчасна недостатність яєчників характеризується настанням менопаузи до 40 років та супроводжується зменшенням рівня естрогенів в організмі. Даний стан чинить негативний вплив практично на всі фізіологічні системи організму. В останній час спостерігається зростання хворих на дану патологію, що пов'язують із поширенням медичного втручання у репродуктивну сферу, забрудненням навколишнього середовища, стресом.

Метою даного дослідження стало експериментальне з'ясування стану окремих показників антиоксидантно-прооксидантної системи (активність каталази, вміст малонового діальдегіду, антиоксидантно-прооксидантний індекс) в сироватці крові, слизових оболонках травного тракту, печінці та щелепах самок щурів після хірургічної менопаузи (оваріоектомії) в поєднанні з неповноцінним за кальцієвим та білковим складом раціоном, а також встановлення антиоксидантної ефективності комплексу на основі кверцетину, вітамінів, макро- і мікроелементів.

Методи. Дослідження були проведені на 24 самках щурів віком 2,5 місяців лінії Вістар, яких поділили на 3 групи (по 8 в кожній): 1 – інтактні тварини; 2 – тварини, яким моделювали хірургічну менопаузу шляхом оваріоектомії та утримували на неповноцінній за складом дієті; 3 – тварини, яким на тлі оваріоектомії профілактично вводили комплекс кверцетину, вітамінів, макро- і мікроелементів у дозі 500 мг/кг. Через 4 місяці тварин виводили з експерименту. В сироватці крові, гомогенатах слизових оболонок травного тракту, печінки, альвеолярного відростку визначали вміст малонового діальдегіда (МДА), активність каталази та розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ).

Результати. Аналіз отриманих даних показав, що у групі щурів, яким моделювали патологію, відбулось падіння активності ферменту каталази у слизових оболонках травного тракту і печінці від 5,61% до 38,49%, зростання вмісту МДА від 25,78% до 50,00% та зниження індексу АПІ від 25,08 до 56,24% відносно показників групи інтактних щурів з високим рівнем достовірності ($p < 0,05-0,001$). Вміст МДА у сироватці крові збільшився на 31,91%, а у кістковій тканині щелеп – на 23,28%, АПІ був меншим у крові на 16,45% та на 10,39% у кістковій тканині ($p < 0,05-0,001$). Отримані дані дозволяють стверджувати, про посилене утворення активних форм кисню та пригнічення процесів їх інактивації. Слід зазначити, що активність каталази у сироватці крові та альвеолярному відростку щелеп тварин з патологією, навпаки, збільшилась на

10,19% та 10,78% відповідно, що свідчить про компенсаторні антиоксидантні можливості в даних тканинах.

При застосуванні біологічно активного комплексу відбувалось зростання активності каталази у слизових оболонках травного тракту на 5,63–40,8%, зменшення активності МДА на 17,84–23,03% та підвищення індексу АПІ на 27,93–80,84% ($p < 0,05–0,001$). У кістковій тканині щелеп тварин під впливом комплексу збільшилась активність каталази на 7,52%, а АПІ – на 33,3% при зниженні вмісту МДА на 19,43%. У крові тварин з патологією комплекс препаратів сприяв зменшенню рівня МДА на 17,38%, підвищенню активності каталази на 6,16% та індексу АПІ – 28,44%. Спираючись на викладене вище, можна стверджувати, що розроблений нами комплекс має потужну антиоксидантну дію в умовах дефіциту естрогенів, аліментарного білка і кальцію у самок щурів.

Висновки. Менопауза хірургічного генезу у сукупності з аліментарним дефіцитом білка та кальцію сприяли пригніченню антиоксидантного захисту на тлі активації прооксидантних процесів. Застосування біологічно активного комплексу з кверцетином, вітамінами, цитратом кальцію, макро- та мікроелементами посилювали активність антиоксидантної системи захисту направленої проти вільнорадикальних процесів.

Ключові слова: оваріоектомія; дефіцит білка і кальцію; кверцетин; вітаміни; мінерали; антиоксидантна та прооксидантна системи

O. S. Sidletskyi¹, O. A. Makarenko^{1,2}

¹Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Physiology, Human Health and Safety and Natural Science Education, Odesa, 2 Dvorianska str., 65082, Ukraine, e-mail: abcd35133@gmail.com

²State establishment “The Institute of stomatology and maxilla-facial surgery National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, laboratory of biochemistry, Rishelievs’ka st., 11, Odesa, 65026, Ukraine, e-mail: flavan.ua@gmail.com

ANTIOXIDANT EFFECTIVENESS OF THE PROPHYLACTIC COMPLEX WITH QUERCETIN IN OVARIECTOMIZED RATS

Summary

Introduction. Premature ovarian failure is characterized by the onset of menopause before age 40 and is accompanied by a decrease in estrogen levels in the body. This condition has a negative impact on almost all physiological systems of the body. Recently, there has been an increase in the number of patients with this pathology, which is associated with the spread of medical intervention in the reproductive sphere, environmental pollution, and stress.

Aim. The purpose of this study was to experimentally clarify the state of such indicators of the antioxidant-prooxidant system as catalase, malondialdehyde, antioxidant-prooxidant index in blood serum, mucous membranes of the digestive tract, liver and alveolar process of the lower jaw of female rats after surgical menopause (ovariectomy) in combination with a diet deficient in calcium and

protein composition, as well as establishing the antioxidant efficiency of a complex based on quercetin, vitamins and macro and microelements.

Methods. The research was conducted on 24 female Wistar rats aged 2.5 months, which were divided into 3 groups (8 in each): 1 – intact animals; 2 – animals in which surgical menopause was modeled by ovariectomy and kept on a diet with inferior composition; 3 – animals that, against the background of ovariectomy, were prophylactically administered a complex of quercetin, vitamins, macro- and microelements at a dose of 500 mg/kg. After 4 months, the animals were removed from the experiment. Malondialdehyde (MDA) content, catalase activity, and antioxidant-prooxidant index (API) were determined in blood serum, homogenates of mucous membranes of the digestive tract, liver, and alveolar process.

Results. The analysis of the data obtained by us showed that in the group of rats with which the pathology was modeled, there was a drop in the activity of the catalase enzyme in the mucous membranes of the digestive tract and liver from 5.61% to 38.49%, an increase in the MDA content from 25.78% to 50.00% and a decrease in the API index from 25.08 to 56.24% relative to the indicators of the group of intact rats with a high level of reliability ($p < 0.05-0.001$). The content of MDA in the blood serum increased by 31,91%, and in the bone tissue of the jaws – by 23,28%, API was lower in the blood by 16,45% and by 10,39% in the bone tissue ($p < 0,05-0,001$). The obtained data allow us to assert about the increased formation of reactive oxygen species and inhibition of their inactivation processes. It should be noted that the activity of catalase in the blood serum and alveolar process of the jaws of animals with pathology, on the contrary, increased by 10.19% and 10.78%, respectively, which indicates compensatory antioxidant capabilities in these tissues. When using the biologically active complex, there was an increase in catalase activity in the mucous membranes of the digestive tract by 5,63–40,8%, a decrease in the activity of MDA by 17.84–23.03%, and an increase in the API index by 27,93–80,84% ($p < 0,05-0,001$). In the bone tissue of the jaws of animals under the influence of the complex, the activity of catalase increased by 7,52%, and API – by 33,3%, while the content of MDA decreased by 19,43%. In the blood of animals with pathology, the complex of drugs contributed to a decrease in the MDA level by 17,38%, an increase in the activity of catalase by 6,16% and the API index by 28,44%. Based on the above, it can be stated that the complex developed by us has a powerful antioxidant effect in conditions of estrogen, dietary protein and calcium deficiency in female rats.

Conclusions. Menopause of surgical genesis in combination with nutritional deficiency of protein and calcium contributed to suppression of antioxidant protection against the background of activation of pro-oxidant processes. The use of a biologically active complex with quercetin, vitamins, calcium citrate, macro- and microelements increased the activity of the antioxidant defense system directed against free radical processes.

Keywords: ovariectomy; protein and calcium deficiency; quercetin; vitamins; minerals; antioxidant and pro-oxidant systems.

References

- Ventskivska, I.B., Zagorodnya, O.S., & Narytnyk, T. T. (2019). Early cessation of menstrual function: modern views on pathogenesis and consequences [Rannie pryypynennia menstrualnoi funktsii: suchasni pohliady na patohenez i naslidky], *Reproduktyvna endokrynolohiia*, V.8 (4), 8–12. [in Ukrainian].
- Vladymyrova, I.M. & Shumova, H.S. (2020). Pharmacological properties of phytoestrogens and directions of their clinical application [Farmakolohichni vlastyvoli fitoestroheniv i napriamy yikh klinichnoho zastosuvannia], *Farmakom*, 3, 49–56. [in Ukrainian].
- Horbatiuk, O.H., Hryhorenko, A.P., Shatkovska, A.S., Vaskiv, O.V., Herych, O. Kh., & Petrash, A.I. (2023). Peculiarities of hormonal homeostasis of women with functional hypothalamic amenorrhea and premature ovarian failure, posttraumatic stress disorders [Osoblyvosti hormonalnoho homeostazu zhink z funktsionalnoiu hipotalamichnoiu amenoreieiu ta peredchasnoiu nedostatnistiu yaiechnykyv, sprychynenykh posttravmatychnym stresovym rozladom.], *Reproduktyvne zdorovia zhinky*, 3(66), pp. 65–72. [in Ukrainian] <https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2023.283324>
- Zubachyk, V.M., Han, I.V., & Pasko, O.A. (2018). Evaluation of the effect of osteotropic drugs on the activity of lipid peroxidation processes and the antioxidant system during bone tissue regeneration in an experiment [Otsinka vplyvu osteotropnykh preparativ na aktyvnist protsesiv peroksydnoho oksynnennia lipidiv ta antoksydantnoi systemy pry reheneratsii kistkovoii tkanyny v eksperymentii], *Klinichna stomatolohiia*, 2, pp. 5–9. [in Ukrainian]
- Kilmukhametova, Yu. Kh., Batih, V.M., Tabachniuk, Y.V., Drozda, I.I., & Hlushchenko, T.A. (2020). Free radical activity and indicators of blood antioxidant protection against and without the use of a complex of antioxidant drugs [Vilnoradykalna aktyvnist ta pokaznyky antyoksydantnoho zakhystu krovi na tli ta bez vykorystannia kompleksu antyoksydantnykh preparativ], *Parodontolohiia*, 4, pp. 13–17. [in Ukrainian] <https://doi.org/10.33295/1992-576X-2020-4-13>
- Makarenko, O.A., Maikova, H.V., Kyrylenko, N.A., & Eberle, L.V. (2020). Exchange of different forms of calcium in the body of rats with prednisolone osteoporosis [Obmin riznykh form kaltsiiu v orhanizmi shchuriv z prednizolonovym osteoporozom], *Visnyk ONU. Biolohiia*, V.25 (146), P. 123–131. [in Ukrainian].
- Makarenko, O.A., Khromahina, L.M., & Khodakov, I.V. (2022). *Methods of researching the state of intestines and bones in laboratory rats. Directory [Metody doslidzhennia stanu kyshechnyku ta kistok u laboratornykh shchuriv. Dovidnyk]*. Odesa, S. L. Nazarchuk publisher, 81 p. [in Ukrainian].
- Nykolaeva, A.V. (2015). Parodontoprotective action of plant polyphenols in women with hypoestrogenia [Parodontoprotektoorne deistvye rastytelnikh polyfenolov u zhenshchyn s hypoestroheniei], *Visnyk stomatolohii*, 4, 1–34 [in Ukrainian].
- Pylypchuk, I. S., Flud, V. V., & Petryshyn, Z. Ia. (2021). Endocrine changes in menopause and their impact on the functional state of bone tissue [Endokrynni zminy v klimakterii ta yikh vplyv na funktsionalnyi stan kistkovoii tkanyny], *Visnyk stomatolohii*, V.40 (2), 100–105. [in Ukrainian] <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2021-40-2.18>
- Makarenko, O. A., Zaderei, O. V., Khodakov, I. V., & Khromahina, L.M. *Copyright certificate of Ukraine No. 111997 dated 21.02.2022 Complex for the prevention of bone metabolism disorders in hypothyroidism* [Svidotstvo avtorskoho prava Ukrainy № 111997 vid 21.02.2022 r. Kompleks dlia profilaktyky porushen kistkovoho metabolizmu pry hipotyreozi].
- Shnaider, S. A., & Levytskyi, A. P. (2017). *Ekspyrymentalnaya stomatolohiia Ch.I. Ekspyrymentalnie modely stomatolohycheskykh zbolevaniy* [Experimental stomatology Ch.I. Experimental models of stomatological diseases]. Odesa: KP «Odeska miska drukarnia», 67 p. [in Ukrainian].
- Brander, S.M., Gabler, M.K., Fowler, N.L., Connon, R.E., & Schlenk, D. (2016). Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with focus on fishes. *Environmental Science & Technology*, 50(17), 8977–8992. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02253>
- Dong, X., Hu, Meng-J., Wang, Y. Q., & Cui, Y.-L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complex for medical application. *Molecules*, 24, 111–126. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
- Hu, Y., Yuan, D. Z., Wu, Y., Yu, L. L., Xu, L. Z., Yue, L. M., ... & Nie, Y. (2018). Bisphenol A initiates excessive premature activation of primordial follicles in mouse ovaries via the PTEN signaling pathway. *Reproductive Sciences*, 25(4), 609–620. <https://doi.org/10.1177/1933719117734700>
- Njus, D., Kelly, M.P., Tu, Y.-J., & Schlegel, H.B. (2020). Ascorbic acid: the chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 1, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>
- Zahorodnia, O.S., Ventskivska, I.B., & Kazak, A.V. (2019). Premature ovarian insufficiency – to treat or not to treat (literature review). *Reproduktyvna endokrynolohiia*, 6 (50). 12–16. <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2019.50.12-16>
- Zhang, Y.-Y., Ren, K.-D., & Luo, X.-L. (2023). COVID-19-induced neurological symptoms: focus on role of metal ions. *Inflammopharmacology*, 31, 611–631. <https://doi.org/10.1007/s10787-023-011176-2>

З'ЇЗДИ ТА КОНФЕРЕНЦІЇ



DOI: [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).294315](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).294315)

**БІОЛОГІЧНА СЕКЦІЯ –
“THE IMPORTANCE OF G. GAMOW’S IDEAS FOR BIOLOGY
OF THE 21ST CENTURY” XXIII МІЖНАРОДНОЇ ГАМОВСЬКОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ, ЩО ВІДБУВАЛАСЯ У СЕРПНІ 2023 Р.
В ОДЕСЬКОМУ НАЦІОНАЛЬНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ
ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА**

Біологічна секція щорічної Гамовської конференції проходила 23 серпня 2023 року в режимі on-line на платформі Zoom. В роботі секції брали участь 44 учасники з України, Німеччини, Великобританії, Швейцарії, Польщі, США, Канади, Аргентини і Казахстану. Робота секції поділялася на модулі – з молекулярної генетики рослин, молекулярної генетики мікроорганізмів – продуцентів антибіотиків, молекулярно-генетичних досліджень людини, що проводяться для вирішення питань генної діагностики і терапії людини. Також на конференції обговорювали окремі питання історії розвитку молекулярних досліджень вірусів.

Серед доповідачів свої дослідження представляли провідні науковці Інституту генетики рослин і досліджень сільськогосподарських рослин імені Лейбніца (ІПК) в м. Гатерслебен (Німеччина). Керівник відділу Репродуктивної біології рослин ІПК професор Й. Кумлеґн виступив з доповіддю – «Cas ендонуклеаза технологія у зернових: від сайт-спрямованого мутагенезу до більш прецизійного редагування геному», в якій продемонстрував такі досягнення відділу, як створення шестирядного ячменю з дворядного, отримання певних сортів голозерного ячменю. Представлені результати вражають не тільки тому, що вони з’явилися майже одразу після оголошення Нобелівської премії у 2020 році за відкриття механізму CRISPR / Cas редагування геномів, але й прецизійною точністю виконаного редагування, коли заміна фактично одного нуклеотиду призвела до появи певних бажаних ознак у рослин.

Про складнощі з визначенням гена короткостебловості пшениці *Rht 8* розповів проф. С. Гріффітс (Центр Джона Іннеса, м. Норвіч, Велика Британія) в доповіді «Гойдалка *Rht 8*».

Цікаві доповіді представили науковці з ІПК: професор М. Нагель – «Зміни метаболітів в насінні після 40 років довготривалого зберігання в холоді пшениці та ячменю» і др. М. Шіренбек – «Генетична дисекція стійкості паростків до посухового стресу у панелі сортів озимої пшениці». Родзинкою виконаних др. М. Шіренбеком зі співавторами досліджень, на наш погляд, було те, що поряд з сортами пшениці з низки Європейських країн та країн Південної Америки вивчалися і українські сорти пшениці, деякі з котрих проявили себе як посухостійкі. В доповіді др. Г. Чеботар (ІПК) «Як знайти ген-кандидат – GWAS – з особливим наголосом на збереженні життєздатності ячменю», наочно було продемонстровано алгоритм й можливості GWAS для пошуку маркерних послідовностей генів кандидатів, що впливають на життєздатність насіння ячменю при довготривалому зберіганні.

Аспірантка кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики ОНУ імені І.І. Мечникова (м. Одеса) Ю. Попович представила результати щодо ефективності застосування самостійно розроблених праймерів для визначення алельного стану багатокопійних генів гліадинів в сортах пшениці, а професор С. Оконь з Природничого університету (м. Люблін, Польща) розповіла про визначення й локалізацію нових генів стійкості до борошнистої роси у вівса – «Ідентифікація та хромосомна локалізація генів стійкості до борошнистої роси *Pm11* та *Pm12* у вівса (*Avena sativa* L.)».

Питання молекулярної організації і еволюції нуклеотидних послідовностей генів 5S РНК у межах триби *Limonieae* (*Plumbaginaceae*) розглянув в доповіді «5S рибосомна ДНК у трибі *Limonieae* (*Plumbaginaceae*): молекулярна організація, поліморфізм та таксономічне застосування» доцент, к.б.н. Ю.О. Тинкевич, який продемонстрував результати досліджень, виконаних в Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича на кафедрі молекулярної генетики та біотехнології.

Надзвичайно велику зацікавленість викликала доповідь «Динаміка геному рослин та епігеному в контексті зміни клімату» професора Е. Бучера, керівника групи з дослідження динаміки геному злаків корпорації Agroscope, Швейцарія.

У наступному інформаційному модулі на засіданні секції виступили молоді науковці Львівського національного університету імені Івана Франка – к.б.н. О. Ющук з доповіддю «Гени стійкості до глікопептидних антибіотиків: оновлена точка зору» і аспірантка Г. Качор – «Геномна характеристика штаму актиноміцетів *Mumia* sp. Pv 4–285, виділеного з ризосфери *Phyllostachys viridiglaucescens*». Молоді дослідники продемонстрували традиційно високий рівень молекулярно-біологічних досліджень актиноміцетів, що вивчаються на кафедрі генетики та біотехнології ЛНУ.

Питання з молекулярної генетики людини розглядалися в двох доповідях. У доповіді, представленій Д. Сірохою «Олігогенний вплив мутацій KIAA1210 та CFAP47 на розвиток особливостей DSD у пацієнта з мутацією C.34G>C GATA4» згідно досліджень, виконаних під керівництвом професора Л. Лівшиць, яка очолює лабораторію геноміки людини в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України (м. Київ) і в доповіді др. Ю. Мончака – «Молекулярний ДНК-трекінг трансплантації стовбурових клітин пуповини з мультидонорських пулів: коли одного донора замало» стосовно результатів досліджень, що виконані у відділі експериментальної медицини в МакГілл університеті, (м. Монреаль, Канада). Обидві доповіді продемонстрували визначальну важливість дослідження нуклеотидних послідовностей певних молекулярних локусів.

На завершення роботи біологічної секції пролунала доповідь професора Дж. Сегре з Пенсільванського університету, який вже вдруге бере участь в Гамовській конференції і є автором біографічної книги «Звичайні генії: як два диваки проклали шляхи сучасної науки», присвяченої Георгію Гамову і Максу Дельбрюку. Цього року професор Дж. Сегре в доповіді «Друг Джорджа Гамова Макс Дельбрюк, засновник сучасних досліджень вірусів» приділив визначну увагу другу Георгія Гамова, лауреату Нобелівської премії Максу Дельбрюку.

UDC631.528.6:633.1(043.2)

Kumlehn J.

Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben,
06466 Seeland, Germany
e-mail: Kumlehn@ipk-gatersleben.de

**CAS ENDONUCLEASE TECHNOLOGY IN CEREALS:
FROM SITE-DIRECTED MUTAGENESIS TOWARDS MORE
PRECISE GENOME EDITING**

The establishment of Cas endonucleases as genome editing tools has expanded the possibilities of plant biotechnology in ways previously thought scarcely possible. We demonstrated the power of this technology by generating gene-specific mutants with agriculturally relevant traits. Two-rowed barley was converted into the 6-rowed type via knockout of *Vrs1*, and hulled barley was modified to form naked, edible grains through mutagenesis of *Nud1* [1]. Genome editing also facilitates the advancement of other plant breeding technologies. By knockout of *Pl1*, haploidy-inducing barley lines were developed that, when used as pollinators, lead to the generation of homozygous maternal recombinants. Utilizing such doubled haploid lines has proven to be extremely effective in crop improvement. Further, we used *cas9*- and (wheat-specific) guide RNA-transgenic maize lines to pollinate wheat. Relying on uniparental genome elimination, this leads to the immediate generation of *cas9* and guide RNA transgene-free wheat lines that carry newly induced genome edits in the homozygous state [2]. A key challenge of further technological advancement is to develop precise genome editing methods at an applicable level. For instance, base-editing Cas9 derivatives were used to precisely mimic specific, still functional barley *eIF4E* alleles that confer resistance to bymoviruses. In another approach, a heavy metal transporter that had experienced a spontaneous knockout in the context of wheat domestication was functionally restored by employing microhomology-mediated DNA repair. The precise deletion of a mutative 17-bp duplication performed for this purpose is expected to result in a significant reduction of the accumulation of cadmium in the wheat grains.

References

1. Gerasimova S.V., Hertig C.W., Korotkova A.M., Kolosovskaya E.V., Otto I., Hiekel S., Kochetov A.V., Khlestkina E.K., & Kumlehn J. (2020). Conversion of hulled into naked barley by Cas endonuclease-mediated knockout of the *NUD* gene. *BMC Plant Biol*, 20, 255.
2. Budhagatapalli N., Halbach T., Hiekel S., Büchner H., Müller A., & Kumlehn J. (2020). Site-directed mutagenesis in bread and durum wheat via pollination by *cas9*/guide RNA-transgenic maize used as haploidy inducer. *Plant Biotechnol Journal*, 18, 2376–2378.

UDC575.827:633.1

Griffiths S.¹, Lister C.¹, Slafer G.², Kondić-Špika A.³

¹ John Innes Centre, Norwich, United Kingdom

² University of Llieda, Llieda, Spain

³ Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia

e-mail: simon.griffiths@jic.ac.uk

THE *RHT8* SEESAW

Rht8 is a semi dwarfing gene that provides an alternative to the gibberellic acid insensitive *Rht1* alleles of the Green Revolution. *Rht8* was introduced into Italian wheat in the early twentieth century. We present evidence that *Rht8* confers a specific yield benefit under Mediterranean conditions in stark contrast to a negative effect in the UK. Fine mapping of *Rht8* carried by the variety Mara has allowed us to reduce the genetic interval to two genes within an 8kb interval. The two genes occur together in the *Triticeae* and are very tightly co-regulated. When the expression of one increases the other goes down, like a seesaw! We speculate that the *Rht8* height reduction effects results from the disturbance of this coregulation. Gene editing has now been used to delete each gene and we await functional validation of the effect on height.

UDC633.16:577.12

Nagel M.

Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), 06466 Seeland, Germany

e-mail: nagel@ipk-gatersleben.de

CHANGES OF SEED METABOLITE AFTER 40 YEARS OF LONG TERM COLD STORAGE IN WHEAT AND BARLEY

Seed deterioration is of great importance for agriculture, food security and the conservation of plant genetic resources. Here we study spring barley (*Hordeum vulgare* L.), the fourth most important cereal. Its high seed quality is crucial for the brewing industry and genebanks, where more than 460 thousand accessions are stored. For the analysis of seed deterioration, 184 unique, long-term cold-stored accessions were selected according to a broad distribution of germinations in the Gatersleben genebank and genotyped. Seeds from the so-called EcoSeed panel were analysed for seed viability traits, nitric oxide content and metabolites. Overall, barley seeds of 184 genotypes germinated in a range between 0 and 99% total germination percentage

after 40 years of cold storage. Thereby, the germination percentage was independent of the nitric oxide concentration, but negatively correlated with the accumulation of 4-amino-butanoic acid, gluconic acid, glycerol, adenine, proline and ribonic acid. Based on 5,844 SNP markers, a genome-wide association mapping analysis revealed 43 marker-trait associations (MTAs) for seed viability traits on six chromosomes, of which 30 MTAs co-localised with proline and 14 MTAs with valine, suggesting a genetic relationship between seed viability traits and metabolites. Overall, the results provide new insights into the mechanisms of seed deterioration after long-term dry and cold storage.

UDC577.2:633.1

Schierenbeck M.^{1,2,3*}, Alqudah A. M.⁴, Thabet S. G.⁵, Avogadro E. G.¹, Lohwasser U.¹, Simón M. R.^{2,3}, Börner A.¹

¹Leibniz Institute of Plant Genetics & Crop Plant Research (IPK) OT Gatersleben, 06466 Seeland, Germany

²Cereals, Faculty of Agricultural Sciences and Forestry, National University of La Plata, La Plata, Argentina

³CONICET CCT La Plata, La Plata, Argentina

⁴Department of Biological and Environmental Sciences, Biological Science Program, College of Art and Science, Qatar University, Doha, Qatar,

⁵Department of Botany, Faculty of Science, Fayoum University, Egypt
schierenbeck@ipk-gatersleben.de

GENETIC DISSECTION FOR SEEDLING DROUGHT STRESS TOLERANCE IN A WINTER WHEAT PANEL

Drought is a major constraint in wheat (*Triticum aestivum* L.) production worldwide. The present work aimed to identify quantitative trait nucleotides (QTNs)/ candidate genes influencing drought tolerance-related traits at the seedling stage in 261 accessions of a diverse winter wheat panel (including 11 Ukrainian genotypes). Seeds from three consecutive years were exposed to polyethylene glycol 12% (PEG-6000) and a control treatment (distilled water) and grown in chamber conditions. The Farm-CPU method was used for the association analysis with 17,093 polymorphic SNPs. Data analysis revealed extensive phenotypic variation in all studied traits suggesting the suitability of the used panel for association genetic studies. All variables analyzed were significantly influenced by the years, genotypes and G × Y (environment) interactions ($p < 0.001$). PEG treatment reduced shoot length (SL) (−36.3%) and root length (RL) (−11.3%) compared with control treatments, while the coleoptile length (CL) was increased by 11% under drought conditions, suggesting that it might be considered as an indicator of stress-tolerance.

Interestingly, three Ukrainian genotypes (Odesska 267, Podoljanka and Polisska 90) showed tolerance for seedling drought stress. Furthermore, we revealed 70 stable QTN across 17 chromosomes. Eight QTNs related to more than one trait were detected on chromosomes 1B, 2A (2), 2B, 2D, 4B, 7A, and 7B and located nearby or inside candidate genes within the linkage disequilibrium (LD) interval. For instance, the QTN on chromosome 2D is located inside the gene *TraesCS2D02G133900* that controls the variation of CL_S and SL_C. The allelic variation at the candidate genes showed significant influence on the associated traits, demonstrating their role in controlling the natural variation of multi-traits of drought stress tolerance. The gene expression of these candidate genes under different stress conditions validates their biological role in stress tolerance. Our findings offer insight into understanding the genetic factors and diverse mechanisms in response to water shortage conditions that are important for wheat improvement and adaptation at early developmental stages.

References

1. Mohamed, E. A., Ahmed, A. A., Schierenbeck, M., Hussein, M. Y., Baenziger, P. S., Börner, A., & Sallam, A. (2023). Screening Spring Wheat Genotypes for TaDreb-B1 and Fehw3 Genes under Severe Drought Stress at the Germination Stage Using KASP Technology. *Genes*, 14(2), 373. doi.org/10.3390/genes14020373
2. Schierenbeck, M., Alqudah, A. M., Thabet, S. G., Lohwasser, U., Simón, M. R., & Börner, A. (2023). Association mapping unravels the genetics controlling seedling drought stress tolerance in winter wheat. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1061845. doi.org/10.3389/fpls.2023.1061845

UDC633.16:575.162

Chebotar G., Börner A., Nagel M.

Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, 06466 Seeland, OT
Gatersleben, Germany

e-mail: Chebotar@IPK-gatersleben.de

HOW TO FIND CANDIDATE GENE – GWAS – WITH SPECIAL EMPHASIS ON BARLEY LONGEVITY

The identification of candidate genes involved in genetic traits of specific interest is crucial in various fields. Genome wide association study – GWAS – “calculate” associations between each marker and a phenotype of interest in the diverse collection of 100–500 distantly related and heterogeneous individuals. Single seed descendants, should be grown and isolated for several growing seasons, with balanced genetic diversity and allele frequency at $\geq 5\%$. This material should be genotyped, for example with SNP chip or with the help of other technologies such as genotype by sequencing etc. and phenotyped. In the last decades, modern methods of high-throughput phenotyping developed extremely fast. After genotyping, the population structure should be defined and LD (Linkage disequilibrium) evaluated.

At the next step investigator chooses the software, packages and models for marker trait association (MTA) analysis. For example, genome association and prediction integrated tool (GAPIT) that run in the R software environment is free and available for public (<https://zzlab.net/GAPIT/>) and include several models. Genetic positions of significant MTAs can be identified using genome browsers developed for the crop of interest, e.g. for barley – Barlex (Colmsee et al., 2015). According to genetic positions candidate genes can be identified at the genome browser integrated in the GrainGenes database – database for *Triticea* and *Avena* (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>).

To identify the genetic factors that affect longevity of barley seeds stored under ambient storage conditions at the Federal Ex-situ GeneBank for agricultural and horticultural plants in Gatersleben, Germany. The ‘Ecoseed panel’ (Nagel et al. (2019)) consisting of 184 spring barley accessions from 23 countries (116 two-rowed, 68 six-rowed) was investigated. It was genotyped by the Illumina HD9K chip and 4.343 markers were mapped on the chromosomes after removal of monomorphic markers and applying minor allele frequency of >10%. Population structure was analyzed with STRUCTURE2.3.4 software (Pritchard et al., 2000) and an average LD decay was ± 1 cM. Using GAPIT FarmCPU method (Liu et al., 2016) 85 significant ($-\log(p) > 5$) marker trait associations (MTAs) were detected. Genetic positions of significant MTAs identified using genome browser Barlex (Colmsee et al., 2015) and about 70 candidate genes were define based on the GrainGenes database (Monat et al., 2019). Thus, GWAS allow to identify genes whose effect on the trait was not known.

References

1. Colmsee, C., Beier, S., Himmelbach, A., Schmutzer, T., Stein, N., Scholz, U., & Mascher, M. (2015). BARLEX – the Barley Draft Genome Explorer. *Molecular Plant*, 8, 964–966. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.03.009> <http://barlex.barleysequence.org>
2. Nagel, M., Alqudah, A.M., Bailly, M., Rajjou, L., Pistrick, S., Matzig, G., Börner, A., & Kranner, I. (2019). Novel loci and a role for nitric oxide for seed dormancy and pre-harvest sprouting in barley. *Plant, Cell & Environment*, 42(4), 1318–1327. <https://doi.org/10.1111/pce.13483>
3. Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959. doi: 10.1093/genetics/155.2.945. PMID: 10835412; PMCID: PMC1461096.
4. Liu, X., Huang, M., Fan, B., Buckler, E. S., & Zhang, Z. (2016). Iterative Usage of Fixed and Random Effect Models for Powerful and Efficient Genome – Wide Association Studies. *PLoS Genet.* 12, e1005767.
5. Monat, C., Padmarasu, S., Lux, T., et al. (2019). TRITEX: chromosome-scale sequence assembly of Triticeae genomes with open-source tools. *Genome Biol.*, 20, 284. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1899-5>

UDC 575.17:575.113.2:633.34

Popovych Yu. A.¹, Blagodarova O. M.², Chebotar S. V.^{1,2}

¹ Odesa I. I. Mechnikov National University, Odesa, Ukraine

² Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations, Odesa, Ukraine

e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

PREFERENCE OF MOLECULAR MARKERS FOR DETECTING ALLELIC VARIANTS OF GLIADINS

The main method of studying allelic variants of gliadins is electrophoresis in acidic PAGE, which actually shows the phenotype determined by the set of genes of the gliadin-encoding locus. This method is difficult to use, because peptides encoded by all gliadin-encoding loci are present on one lane of the gel and may overlap. Therefore, there is a need for molecular markers that would allow the determination of allelic variants of gliadins using PCR. This will help to use gliadins for marker-assisted selection, to identify allelic variants of gliadins even before obtaining grain suitable for electrophoresis of storage proteins. In this regard, the aim of study was to analyze polymorphism of *Gli-1* loci using allele-specific molecular markers and microsatellites and find suitable molecular markers for detecting allelic variants of gliadins by PCR method.

The collection of bread wheat cultivars from different countries, which reflects the maximum diversity of allelic variants of gliadins encoded by the *Gli-B1* locus (provided by Dr. E. Metakovsky) and collection of the modern Ukrainian wheat cultivars and lines from different breeding centers were analyzed using allele-specific primers to loci *Gli-A1*, *Gli-B1* and *Gli-D1* developed by Zhang et al. (2003) and *Taglgap* microsatellite marker described by Devos et al. (1995).

PCR with allele-specific primers to the *Gli-B1* locus permit to differentiate wheat genotypes with the *Gli-B1.1* or *Gli-B1.2* alleles, but we also revealed polymorphism within *Gli-B1.1* or *Gli-B1.2* alleles caused by a microsatellite within the amplified sequence that have been described Devos et al. (1995). Seven alleles were sequenced, and the presence of microsatellite with a CAA cor-motif which vary in number of repeats was confirmed. By using *Taglgap* microsatellite marker we revealed 12 alleles in the investigated wheat collections. The correspondence between "SNP allele of the *Gli-B1* locus – allele of the *Taglgap* microsatellite – allelic variant of gliadins" have been shown.

PCR analyze of the *Gli-A1* locus with two pairs of allele-specific primers developed by Zhang et al. (2003) permit to revealed *Gli-A1.1* and *Gli-A1.2* alleles which were of the same length. Based on the results obtained for the *Gli-A1* locus, correspondence between the *Gli-A1.1/Gli-A1.2* alleles and allelic variants of gliadins encoded by the *Gli-A1* locus was established. Bioinformatics analysis of the sequences coding

Gamma gliadin-A1 gene help to develop a pair of primers MsA1 to microsatellite in this locus. Eight different alleles that correspond to allelic variants of gliadins encoded by the *Gli-A1* locus were identified by using MsA1-primers.

Correspondence between alleles determined in PCR with allele-specific primers to the *Gli-D1* locus has not been established.

As a conclusion, we recommend to use *Taglgap* primers for detecting allelic variants of gliadins encoded at *Gli-B1* and new developed primers MsA1 for detecting allelic variants of gliadins encoded at *Gli-A1* locus.

References

1. Zhang H., Gianibelli M., Rampling M.L., & Gale K.R. (2003). Identification of SNPs and development of allele-specific PCR markers for γ -gliadin alleles in *Triticum aestivum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, 130–138.
2. Devos K. M., Bryan G. J., Collins A. J., Stephenson P., & Gale M. D. (1995). Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers, *Theor. Appl. Genet*, 90, 247–252.

UDC631.528.6:633.13]:632.25(043.2)

Okoń S., Ociepa T., Nucia A., Kowalczyk K.

Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, University of Life Sciences, Lublin, Poland

e-mail: sylwia.okon@up.lublin.pl

IDENTIFICATION AND CHROMOSOMAL LOCALIZATION OF *PM11* AND *PM12* POWDERY MILDEW RESISTANCE GENES IN OAT (*AVENA SATIVA* L.)

Identification and introduction of effective resistance genes into cultivated crops is a very important element of the integrated plant protection system. Powdery mildew is one of the most dangerous diseases of oat. However, modern oat cultivars are characterised by very low level of resistance against powdery mildew. Also small number of effective genes may lead to the pathogen breaking their resistance. Because of this fact we have made an attempt to identify new and effective sources of resistance against powdery mildew in wild oat species *A. sterilis*. We identify two *A. sterilis* genotypes which were resistant against powdery mildew pathotypes collected in different geographical regions and in different years.

Crosses carried out with these genotypes and a susceptible oat cultivar have shown that resistance segregates according to Mendel's law and is conditioned by single dominant genes. In addition, physiological tests of the host-pathogen type showed that the infection profile of genotypes with new sources of resistance is different than infection profiles of genotypes with described so far powdery mildew resistant genes. Segregating populations of the F₂ generation were genotyped using

the DArTseq method. Analysis of the obtained results allowed to locate new genes on the genetic map of oats. The *Pm11* gene was located on chromosome 13A, and the *Pm12* gene on chromosome 7C.

The conducted research allowed the identification of two new, effective genes of resistance to powdery mildew in oats, which can be successfully used in breeding to increase the resistance of cultivated forms.

This work was carried out in the framework of the Programme LEADER V project number: LIDER V/21/p325/L-5/13/NCBR/2014 "Identification of new and effective resistance genes to fungal diseases in oats and development of DNA markers for their identification", supported by the National Research and Development Centre

UDC577.113.5 + 582.919.2

Tynkevich Y. O., Moysiienko I. I., Panchuk I. I., Volkov R. A.

Department of molecular genetics and biotechnology, Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Ukraine
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

5S RIBOSOMAL DNA IN THE TRIBE LIMONIEAE (PLUMBAGINACEAE): MOLECULAR ORGANIZATION, POLYMORPHISM AND TAXONOMIC APPLICATION

Tandemly arranged repetitive regions (repeats) encoding 5S ribosomal RNA (5S rDNA) are an essential element within eukaryotic genomes. Typically, the 5S rDNA repeats in a genome exhibit high similarity, owing to the concerted evolution characteristic of this type of repeats. Each repeat of 5S rDNA comprises an evolutionarily conserved coding sequence (CDS) and a variable intergenic spacer (IGS). 5S rDNA is a popular model for studying the molecular evolution of repetitive sequences, and the elevated mutation rate within the IGS makes it a useful tool for phylogenetic analysis among closely related taxa. Still, information on the molecular organization of 5S rDNA is lacking for many groups of angiosperms, including the Plumbaginaceae family. Certain taxa from this family are endemic to southern Ukraine and listed in the Red Book. However, their taxonomic status remains controversial. Resolving this taxonomic uncertainty requires the application of molecular phylogenetic methods. This study focuses on elucidating the molecular organization of 5S rDNA within four genera of the tribe Limonieae, the largest in the family Plumbaginaceae.

The 5S rDNA repeats for Ukrainian representatives of three *Limonium* species and two *Goniolimon* species were amplified by PCR. Subsequently, the PCR products underwent cloning using a plasmid vector and were sequenced by Sanger method. Additionally, *de novo* assembly of 5S rDNA was performed for five *Limonium*

species, two *Armeria* species, and one species each of *Ceratolimon* and *Goniolimon* using Illumina short-read libraries.

The analysis revealed that the CDS of 5S rDNA in *Limonium*, *Armeria*, and *Ceratolimon* genera exhibited single mutations that do not affect the folding the secondary structure of 5S rRNA. In contrast, *Goniolimon* species' genomes not only contain functionally normal 5S rDNA repeats but also numerous pseudogenes. These pseudogenes display non-concerted evolution and harbor multiple mutations in the CDS, disrupting the secondary structure of 5S rRNA. The considerable phylogenetic divergence observed between subgenera *Pteroclados* and *Limonium* within the *Limonium* genus suggests that *Pteroclados* may warrant consideration as a distinct genus. The accelerated molecular evolution of the 5S rDNA IGS region proved to be a valuable tool for reconstructing phylogenetic relationships within the studied genera of the Limonieae tribe and for barcoding Ukrainian endemics of the genus *Limonium*.

UDC575.111:551.583

Bucher E.

Agroscope – Federal Department of Economic Affairs, Education and Research
(EAER), 1260 Nyon, Switzerland
e-mail: etienne.bucher@agroscope.admin.ch

PLANT GENOME AND EPIGENOME DYNAMICS IN THE CONTEXT OF CLIMATE CHANGE

Climate change represents one of the greatest challenges to agriculture in Europe and worldwide. It is therefore of key importance to better understand how plants respond to climate change related stresses at both the genetic and epigenetic levels. DNA methylation is a key epigenetic mark, regulates important traits in crops. Stresses can lead to DNA methylation changes in strawberry and some of these changes can be transmitted during clonal propagation.

The role of stress-responsive transposable elements (TEs) as important drivers in genome evolution will be discussed. We hypothesized that because numerous TEs respond to stresses, they could be adaptive as they can create novel gene regulatory pathways that respond to these stresses. To address this, we created Arabidopsis lines that carry novel heat-stress responsive TE insertions and investigated how these lines then respond to stress. The many different ways by which novel TE insertions can impact gene expression and stress adaptation will be discussed.

Our research is aimed to investigate possibilities to mobilize TEs in important crops, such as wheat and rice and to test if we can use TEs to adapt them to climate-change related stresses. It proved to be unexpectedly challenging to mobilize TEs in crops and even more challenging to then test these plants in field experiments.

However, we did find that we could mobilize TEs in both rice and wheat thereby obtaining numerous interesting phenotypic changes that are of agricultural importance.

UDC575+579

Yushchuk O.^{1,2}, Marinelli F.², Fedorenko V.¹

¹ Department of Genetics and Biotechnology, Ivan Franko National University of Lviv, 79005 Lviv, Ukraine

² Department of Biotechnology and Life Sciences, University of Insubria, 21100 Varese, Italy

e-mail: oleksandr.yushchuk.lnu@gmail.com

GLYCOPEPTIDE ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES: AN UPDATED POINT OF VIEW

Glycopeptide antibiotics (GPAs) are non-ribosomally synthesized glycosylated natural products from Gram-positive soil-dwelling actinomycetes. GPAs are at the top of the World Health Organization list of antibiotics critically important for human medicine. Natural GPAs such as teicoplanin and vancomycin are effective weapons against multidrug-resistant (MDR) pathogens. All GPAs inhibit the growth of Gram-positive bacteria by binding to the lipid II (a key cell-wall biosynthesis intermediate). Unfortunately, more and more GPA-resistant pathogens emerge, placing this successful class of antibiotics at risk of obsolescence. GPA-resistance is mediated by the so-called *van* genes, which might include combinations of the *vanHAX* operon, *vanY* gene (coding for cell-wall remodeling enzymes), and *vanRS* operon (coding for a two-component regulatory system controlling the expression of other *van* genes). Notably, *van* genes in GPA-producers (which obviously require them for auto-resistance) and pathogens are very similar, implying a common evolutionary source. An alternative hypothesis suggests that GPA-resistance genes might have independently originated in GPA-producers and other soil Gram-positives.

In this study, we aimed to investigate the distribution of *van* genes in phylum *Actinobacteria* and beyond, reconstructing the scenario of their evolution and spread. By analyzing more than 7000 publicly available actinobacterial genomes, we found *van* genes in one-tenth of them. The presence of *van* genes was not limited to the GPA-producers. Our phylogenetic reconstructions for VanY-like proteins, the VanHAX triads, and for VanRS regulatory pairs revealed complex stories of evolutionary independent acquisitions of the corresponding genes. We continued our search, describing *van* genes from other *Eubacteria* and discovered *van* genes in three novel classes – *Anaerolineae*, *Erysipelotrichia*, and *Ktedonobacteria* – as well as in new genera of *Clostridia* and *Bacilli* classes. The majority of these *van* genes were co-localized with genes of mobile genetic elements. Extended phylogenetic reconstruction revealed that all these *van* genes are most likely derived from

Actinobacteria through several horizontal gene transfer events, which we were able to reconstruct.

Taken altogether, our data portrays the phylum *Actinobacteria* as an incredibly vast original source of GPA resistance determinants. Moreover, it was observed that these GPA-resistance genes are actively migrating to other bacterial taxa, which might mediate their transition to pathogens. Interestingly, such variability of *van* genes in *Actinobacteria* is not easily explained by means of self-defence against GPA-producers (which are a very minor fraction of *Actinobacteria*). Hence, we are tempted to speculate that *van* genes might have other physiological roles in *Actinobacteria*; this possibility merits further investigation.

UDC579.252.2

Kachor A.^{1,2}, Samborsky M.², Rebets Y.², Gromyko O.¹

¹ Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

² Explogen LLC, Lviv, Ukraine

e-mail: smu62@ukr.net

GENOMIC CHARACTERIZATION OF ACTINOMYCETE STRAIN *MUMIA* SP. PV 4–285 ISOLATED FROM *PHYLLOSTACHYS VIRIDIGLAUCESCENS* RHIZOSPHERE

The genus *Mumia*, belonging to the family *Nocardioideae*, was established in 2014 and contains three species, *Mumia flava*, *Mumia xiangluensis*, and *Mumia zhuanghuii* [2]. The members of the genus were isolated from different sources, namely, from mangrove soil [1], rhizosphere [3], and the intestinal contents of plateau pika [2]. In the search for producers of new biologically active compounds, rhizosphere soil was collected in 2008 from *Phyllostachys viridiglaucescens* growing in the Nikitsky Botanical Garden (Crimea, Ukraine). From this soil sample, strain Pv 4–285, which is affiliated with the genus *Mumia*, was isolated by direct inoculation on humic vitamin agar.

Sequencing of *Mumia* sp. Pv 4–285 using Illumina and Oxford Nanopore technology resulted in a chromosome of 4,649,352 bp with G+C content of 70.43%. Further analyses indicate that it contains 4,398 protein-coding sequences, 46 tRNA and 9 rRNA genes. RAST server for annotation predicted the highest genes encoding for metabolism (596 genes), followed by energy subsystem (216 genes), protein processing (200 genes), stress response, defense and virulence (112 genes), DNA processing (86 genes), cellular processes (61 genes), membrane transport (40 genes), RNA processing (40 genes), cell envelope (16 genes), regulation and cell signaling (9 genes), and miscellaneous (12 genes). In *Mumia* sp. Pv 4–285 genome were predicted by antiSMASH v. 7.0.0 five biosynthetic gene clusters (BGCs) with low similarity to known clusters: 1 terpene, 1 betalactone, 1 NRPS-independent siderophore, 1 PKS-I BGC, and 1 RiPP-like BGC.

To clarify the taxonomic relationship of *Mumia* sp. Pv 4–285 with *M. flava* DSM 27763, *M. xiangluensis* DSM 101040 and *M. zhuanghuii* DSM 106288 average nucleotide identity (ANI) analysis and *in silico* DNA-DNA hybridization were performed. Strain Pv 4–285 had 77.2, 85.8 and 85.8% ANI values with *M. flava*, *M. xiangluensis* and *M. zhuanghuii* respectively and 20.7, 30.1 and 30.1% DNA-DNA relatedness values with *M. flava*, *M. xiangluensis* and *M. zhuanghuii* respectively.

Based on the results obtained in current study, our isolate *Mumia* sp. Pv 4–285 potentially could be a novel species of this genus. Moreover, further analysis of secondary metabolites will possibly discovery of new bioactive compounds.

References

1. Lee, L. H., Zainal, N., Azman, A. S. et al. (2014). *Mumia flava* gen. nov., sp. nov., an actinobacterium of the family *Nocardioideae*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 64(Pt 5), 1461–1467. doi:10.1099/ijs.0.058701–0
2. Tian, Z. S., Lu, D., Jin, et al. (2020). *Mumia zhuanghuii* sp. nov., isolated from the intestinal contents of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) on the Qinghai-Tibet Plateau. *Int J Syst Evol Microbiol*, 70 (4), 2233–2238. doi:10.1099/ijs.0.003979
3. Zhou, S., Jia, F., Liu, C., et al. (2016). *Mumia xiangluensis* sp. nov., isolated from the rhizosphere of *Peucedanum praeruptorum* Dunn. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 109(6), 827–832. doi:10.1007/s10482–016–0682–9

UDC577.21:616.6

Sirokha D.¹, Kalynovskyi V.², Zelinska N.³, Gorodna O.¹, Livshits L.¹

¹ Laboratory of Human Genomics, Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

² Taras Shevchenko Kyiv National University, Kyiv, Ukraine

³ Ukrainian Scientific and Practical Center for Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: livshits@edu.imbg.org.ua

THE OLIGOGENIC IMPACT OF *KIAA1210* & *CFAP47* MUTATIONS ON THE DEVELOPMENT OF DSD FEATURES IN A PATIENT WITH A C.34G>C *GATA4* MUTATION

Differences in sexual development (DSD) are an important class of rare human diseases involving numerous genes. Nevertheless, about half of 46, XY DSD cases remain genetically unsolved. To investigate disease-causing gene variants combination and genotype-phenotype correlation we analyzed 46, XY DSD patient and family members carriers of c.34G>C (p.Gly12Arg) in *GATA4*, which had not been previously described in DSD patients. Moreover, a *GATA4* mutation c.34G>C was registered in ClinVar in a 46, XY person without DSD features. The aim of our study was to look for potential causative variants previously not implicated in DSD to analyze the oligogenic origin of described DSD phenotype.

Clinical, hormonal, and histological investigations as well as whole exome sequencing for 46, XY DSD patient were performed. 46, XY SRY+ patient had a female phenotype, with both gonads being dysgenetic and hypoplastic. Heterozygous missense mutation c.34G>C (p.Gly12Arg) in *GATA4* gene (MAF = 0.0001752) was not previously identified as DSD-causing.

Moreover, two rare hemizygous mutations: c.8212T>C (p.Ser2738Pro) in *CFAP47* (MAF unknown) and c.1214G>A (p.Arg405His) in *KIAA1210* (MAF=0.008459) located on the X chromosome and involved in spermatogenesis were identified in our patient, but previously not described for DSD patients. Bioinformatic analysis revealed that all these variants are considered pathogenic.

Based on obtained results we hypothesize, that in *GATA4* gene c.34G>C allele together with c.8212T>C in *CFAP47* and c.1214G>A in *KIAA1210* are resulting in oligogenic DSD features exclusively in 46, XY individuals.

UDC577.21

Monczak Y., Peltier L., Laneuville P.

Division of Molecular Genetics McGill University Health Center,
Department of Experimental Medicine of McGill University
McGill University, Canada
e-mail: yury.monczak@mcgill.ca

MOLECULAR DNA TRACKING OF CORD BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION WITH MULTI-DONOR POOLS: WHEN ONE DONOR IS NOT ENOUGH

Human hematopoietic stem cells (HSC) used for therapeutic transplantation can be obtained from several donor sources, including bone marrow aspirates and post-induction peripheral blood. Umbilical cord blood has also proven to be a rich source of HSC, and banking of cord blood specimens for potential autologous transplantation has become a routine alternative. The number of HSC found in cord blood samples varies greatly, and most cord blood specimens collected during childbirth are not conserved or banked, since they have suboptimal numbers of HSC.

Novel alternatives have been tried in research studies that aim to increase the numbers of transplanted HSC from cord bloods. One such method combines a few MHC-compatible cord blood HSC into one graft, but this method is limited by the availability of haplo-identical donors. *Ex-vivo* expansion, or cultivation, of HSC before transplantation aims to increase the number of HSC to an acceptable threshold, but this has not always proven to give acceptable results. Furthermore, these post-collection techniques have the disadvantage of increased costs of transplantation.

In the present pilot study, a small cohort of pooled cord bloods from several donors was combined in a successful series of transplantations. Molecular identity methods (short-tandem repeats (STR), or micro-satellites markers) allowed a careful mechanism of following the engraftment of a HLA-matched donor in a pooled HSC graft.

(This study was part of Dr. Linda Peltier's PhD thesis, co-directed by Dr. Pierre Laneuville and Dr. Yury Monczak at the Department of Experimental Medicine of McGill University).

UDC577.213/.215

Segrè G.

University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

e-mail: segre@physics.upenn.edu

GEORGE GAMOW'S FRIEND MAX DELBRUCK – THE FOUNDER OF MODERN VIRUS STUDIES

George Gamow and Max Delbruck were very close friends and fellow physicists in the 1930s. They then decided to start in new fields, Gamow in astrophysics and cosmology, while Max Delbruck began studying, virus replication as a key to biology. Both succeeded and remained pioneers.

References

1. Segrè G. (2011). *Ordinary Geniuses: Max Delbrück, George Gamow and the Origins of Molecular Biology and Big Bang Cosmology*. New York: Viking, 330 p.

Макет В.Г. Вітвицька

Підписано до друку 28.12.2023 р. Формат 70×108/16. Ум. друк. арк. 15,6.
Тираж 50 прим. Зам. № 2729.

Видавець і виготовлювач

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39
e-mail: druk@onu.edu.ua

