



NECTAR AND POLLEN PRODUCTIVITY OF COMMON CHICORY

Adamchuk Leonora^{1*}, Bilotserkivets Tetiana², Šimková Jana³

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Products of the Agro-Industrial Complex, Chabany, Ukraine

³Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 24. 11. 2017

There is a need for further study of new and forgotten species of high-yielding plants for the expansion of biodiversity of the forage base of honey bees and the receipt of high-quality commercial products at bee-farms. The aim of research was to explore pollen and honey properties of common chicory (*Cichorium intybus* L.). The selection of plant samples was carried out in Kyiv, Vinnytsia, Khmelnytsky, Poltava, Sumy, Chernihiv and Kirovohrad regions of Ukraine. Standard statistic and morphometric methods, as well as mathematical formulas were used for determining the biological performance indicators. A long flowering period of common chicory was ascertained in the range from 75 to 102 days. Plant productivity indicators for honey bees were established. Biological nectar productivity was in the range from 92.55 to 190.04 g from one common chicory plant. Honey productivity was in the range from 166.59 to 301.34 kg/ha. The biological pollen productivity of one plant of common chicory was in the range from 1.785 to 3.064 g. As a result of pollen analysis of polyfloral honey obtained during the summer of 2016 the pollen grains of common chicory were found in the range from 1 to 27%. Pollen lumps of common chicory in the range from 10 to 80% of the total fee were in polyfloral bee pollen collected during the summer of 2016. The morphometric parameters of the bee pollen were ascertained: the sharpening level of the pollen lump was 4 ± 0.15 points, the weight of one pollen lump was 7.21 ± 0.255 mg, the length of one pollen lump was 3.42 ± 0.048 mm, the width of one pollen lump was 2.97 ± 0.070 mm. Our further research in this direction may be conducted to determinate of the biologically active components of cichorium honey and bee pollen.

Keywords: nectar; honey; pollen productivity; *Cichorium*

Introduction

Recently, scientists devote much attention to providing of bees with high quality feed (Максимов et al., 2014; Рожков и Токап, 2014). Scientists point to the necessity to optimize forage resources for bees and improve honey-pollen resources of the area (Brovarskij et al., 2010; Боярчук 2015; Люльчак і Адамчук, 2016). For this purpose, special honey plants are used, which are grown specifically for bees, on the grounds of their high productivity, valuable medicinal or commodity qualities of the products obtained from them and prolonged use (Глухов, 1955; Brovarskij et al., 2010; Brindza et al., 2015; Grygorieva et al., 2016; Адамчук та ін., 2016; Redina et al., 2016; Адамчук і Акульонок, 2017).

However, there is a need for further search for plant species which can provide bee families with complete protein and carbohydrates. The considered value to bees has common chicory (*Cichorium intybus* L.). This is a perennial plant that has a prolonged flowering period. The study of the species

***Corresponding author:** Leonora Adamchuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ leonora.adamchuk@gmail.com

composition of the bee pollen conducted in Ukraine showed that in the summer and late summer periods, the share of pollen of herbaceous plants rose sharply (including common chicory) and it was 91.3 and 93.7%, respectively of the total amount of bee pollen (Stashenko, 2005).

However, the duration of flowering chicory may change according to the nature-climatic conditions. So, some scientists indicate 32 days (Мельников и Еськов, 2015). Others studies of the phenology of harvesting bee pollen of *Cichorium intybus* during the year showed that it continues for 99 days (Sürer and Sorkun, 2006). Chicory is a source of protein feed and nectar for bees. Its honey productivity is 100 kg/ha, and honey is light, has a bluish tint and pleasant taste (Глухов, 1955). From 1 day one flower of chicory allocates 100–250 mg of nectar, therefore this plant is recommended for use in a trophic conveyor for honey bees (Прибылова и Иванов, 2011).

The first information about using of chicory could be found in the writings of Pliny (23–79 A.D.). Avicenna (980–1037) used chicory for treating many diseases. Scientists had thoroughly studied the biochemical composition and properties of raw chicory (Deng et al., 2001; Kisiel and Zielińska, 2001; El-Lakany et al., 2004; Malarz et al., 2013; Wang et al., 2013; Aisa and Xin, 2015). They consider that the most valuable substances contained in chicory are inulin, lactucin and taraksasterol. Studies were conducted on plant cultivation, since chicory is considered highly suitable for culture introduction (Таранов, 1986). The conditions for organic production of chicory are investigated (Sürer and Sorkun, 2006).

For beekeepers, this plant is valuable due to the flowering even in the cool and rainy weather, as well as the stability of stairs to frost. However, there is a need for further study of nectarous properties *Cichorium*, the definition of pollen productivity, the period of nectar production in Ukraine conditions for the possibility of using this plant as a source of feed for bees and obtaining qualitative commodity products in bee-farms. Therefore, the aim of research was to explore pollen and honey properties of common chicory.

Material and methodology

Scientific issues which set up during the research, have been solved experimentally, using the next methods of research: zootechnical (setting experiments, nectar, honey and pollen productivity), microscopical (nectarial and pollen productivity of enthomopile plants, analysis of pollen), micrometrical (morphological features of bee pollen, formation of pollen lump), statistical (biometrical data processing) and analytical (literature review, analysis and generalization of the results of research).

Thus, biological nectar productivity was determined by multiplying the average amount of sugar released by one inflorescence (mg), by the number of flowers per plant (pcs.) and the duration of flowering of the plant (days). The conventional technology of common chicory cultivation based on a wide-row sowing method with a width of rows of 45 cm and distance in the row between plants 10–12 cm. That is, 9 pcs. per 1 running meter or 27 units. per square. We derived a formula for calculating the probable honey yield of a solid mass of the plant taking into account the obtained results of nectar productivity:

$$\frac{(BN \times NP) \times 0.5}{DF} = HP$$

where: *BN* – biological nectar productivity of 1 plant, kg; *NP* – number of plants per 1 ha, pcs.; 0.5 – coefficient of conversion to the actual honey stock; *DF* – the duration of flowering, days; *HP* – honey productivity, kg/ha

Experimental samples were collected in the 2016 summer period. Equipment involved in research: scales ANG 100C, microscopes Zeiss SteREO Discovery V20 and Zeiss HBO 50/AC. Online database PalDat, ChemStation databases and personal developments served as information media. Next software resources have been used: Ascension Waves vision and other specialized software, statistical programs for micrometry, graphic editor Paint.Net 4.0.

Results and discussion

We have established the flowering period of one *Cichorium intybus* plant in Skvyra, Baryshivka and Kyiv-Sviatoshyn districts of Kyiv region; Khmilnyk, Vinnitsia region; Stara Syniava district, Khmelnytskyi region; Myrgorod district, Poltava region; Konotop and Romny districts Sumy region; Pryluky district, Chernihiv region; Gaivoron district, Kiyrovohrad region (Table 1).

Table 1 Period of flowering of common chicory (*Cichorium intybus*) in some regions of Ukraine, $n = 50$

№	District	Start of flowering season, dd.mm	End of flowering season, dd.mm	Duration, days
1.	Skvyra district, Kyiv region	20.06	10.09	82
2.	Baryshivka district, Kyiv region	20.06	12.09	84
3.	Kyiv-Sviatoshyn district, Kyiv region	20.06	10.09	82
4.	Khmilnyk, Vinnitsia region	20.06	15.09	87
5.	Stara Syniava district, Khmelnytskyi region	22.06	10.09	80
6.	Myrgorod district, Poltava region	15.06	15.09	92
7.	Konotop district, Sumy region	22.06	05.09	75
8.	Romny district, Sumy region	22.06	05.09	75
9.	Pryluky district, Chernihiv region	22.06	15.09	85
10.	Gaivoron district, Kiyrovohrad region	10.06	20.09	102

It was found out that the largest period of flowering *Cichorium intybus* was in Myrgorod (92 days) and Gaivoron (102 days) districts. Thus, in Konotop and Romny districts the period of flowering was 26% shorter compared to Gaivoron. However, throughout in the Forest-Steppe zone of Ukraine, *Cichorium intybus* has a long flowering time compared to other plant species and averaged 84 ± 8 days. This gives reason to consider *Cichorium intybus* promising for use in beekeeping. In addition, this plant provides bees with carbohydrate and protein foods in the second half of the summer, which is very important for the formation of fodder stocks in the winter and the growth of generations of bees that will go to winter.

Nectar productivity of *Cichorium intybus* is determined by the amount of sugar in the nectar of flowers from one plant in g (Table 2).

Table 2 Nectar productivity of common chicory (*Cichorium intybus*), $n = 10$

№ area	Indicator				
	Total sugar content in nectar				
	M $\pm$ m, mg	δ	Cv, %	Min, mg	Max, mg
1.	1.10 $\pm$ 0.026	0.084	7.569	0.951	1.150
2.	1.13 $\pm$ 0.007	0.022	1.961	1.087	1.149
3.	1.05 $\pm$ 0.025	0.078	7.406	0.952	1.150
4.	1.09 $\pm$ 0.030	0.094	8.630	0.951	1.149
5.	1.12 $\pm$ 0.021	0.067	5.941	0.956	1.150
6.	1.14 $\pm$ 0.002	0.005	0.428	1.135	1.150
7.	1.03 $\pm$ 0.025	0.080	7.776	0.954	1.150
8.	1.11 $\pm$ 0.023	0.071	6.399	0.953	1.149
9.	1.11 $\pm$ 0.018	0.056	5.104	1.003	1.149
10.	1.12 $\pm$ 0.014	0.045	4.031	1.003	1.150
	Number of flowers in the inflorescence				
1.	19.4 $\pm$ 0.60	1.897	9.780	16	22
2.	19.4 $\pm$ 0.43	1.350	6.958	18	22
3.	19.0 $\pm$ 0.54	1.700	8.946	16	22
4.	19.0 $\pm$ 0.45	1.414	7.443	16	20
5.	19.2 $\pm$ 0.53	1.687	8.784	16	22
6.	20.2 $\pm$ 0.47	1.476	7.306	18	22
7.	19.2 $\pm$ 0.61	1.932	10.063	16	22
8.	20.0 $\pm$ 0.30	0.943	4.714	18	22
9.	19.4 $\pm$ 0.52	1.647	8.487	16	22
10.	19.6 $\pm$ 0.27	0.843	4.302	18	20
	Number of inflorescences per plant				
1.	104.6 $\pm$ 7.91	23.916	23.916	65	133
2.	89.2 $\pm$ 6.21	22.018	22.018	61	117
3.	74.3 $\pm$ 8.93	37.989	37.989	31	115
4.	81.7 $\pm$ 11.13	43.082	43.082	35	132
5.	77.3 $\pm$ 8.93	36.529	36.529	33	122
6.	89.7 $\pm$ 6.78	23.888	23.888	57	116
7.	62.4 $\pm$ 5.99	30.333	30.333	43	94
8.	80.9 $\pm$ 12.49	48.809	48.809	32	131
9.	89.0 $\pm$ 8.49	30.159	30.159	53	125
10.	81.8 $\pm$ 11.99	46.340	46.340	34	129

M – arithmetic mean; m – error of a measurement; δ – standard deviation; Cv – coefficient of variation; Max, Min – maximum, minimum value sample

The obtained results confirm that the index of honey productivity varies from 166.59 to 301.34 kg/ha depending on the place of germination. Significant influence on this index may be the soil, depth of groundwater, rainfall and other natural and climatic factors.

It has been established that biological pollen productivity of one *Cichorium intybus* plant was ranging 1.785 to 3.064 g. Assuming that bees gather 50% of pollen, it is possible to collect from 89.25 to 153.29 g of pollen from 100 of plants. Apart from that, it is also possible to trace the dependency between honey productivity and pollen productivity of the plant. Thus, the highest recorded value of these variables was observed in Skvyra district, Kyiv region and the lowest – in Konotop district, Sumy region.

Pollen grains of *Cichorium intybus* were also researched in honeys of different plants origin. It has been established that in coriander honey the pollen of this plant is ranging from 1 to 5%; summer herbage honey – from 8 to 20%; buckwheat honey – from 2 to 8%; sunflower honey – from 1 to 4%; tilia honey – from 1 to 3%; late-summer herbage honey – from 18 to 27% of pollen grains. This fact proves that bees willingly use *Cichorium intybus* during all of the active season.

Calculations of the productivity of *Cichorium intybus* in various regions of the Forest-Steppe zone of Ukraine are presented in Table 3.

Table 3 Honey and pollen productivity of common chicory (*Cichorium intybus*), $n = 10$

№ of area	BNP, g	HP, kg/ha	Quantity indicator, $M \pm m$			Averaged indicator	
			pollen in the flower, mg	number of flowers in inflorescence	number of inflorescences on the plant	pollen in inflorescence, mg	BPP, g
1.	183.04	301.34	1.51 ± 0.041	19.4 ± 0.60	104.6 ± 7.91	29.294	3.064
2.	164.26	263.98	1.49 ± 0.053	19.4 ± 0.43	89.2 ± 6.21	28.906	2.578
3.	121.55	200.11	1.53 ± 0.052	19.0 ± 0.54	74.3 ± 8.93	29.070	2.159
4.	147.20	228.42	1.48 ± 0.050	19.0 ± 0.45	81.7 ± 11.13	28.120	2.297
5.	132.98	224.40	1.50 ± 0.028	19.2 ± 0.53	77.3 ± 8.93	28.800	2.226
6.	190.04	278.86	1.41 ± 0.026	20.2 ± 0.47	89.7 ± 6.78	28.482	2.554
7.	92.55	166.59	1.49 ± 0.043	19.2 ± 0.61	62.4 ± 5.99	28.608	1.785
8.	134.70	242.46	1.56 ± 0.043	20.0 ± 0.30	80.9 ± 12.49	31.200	2.524
9.	162.90	258.73	1.46 ± 0.056	19.4 ± 0.52	89.0 ± 8.49	28.324	2.520
10.	183.16	242.42	1.49 ± 0.035	19.6 ± 0.27	81.8 ± 11.99	29.204	2.388

BNP – biological nectar productivity of one plant; HP – honey productivity; BPP – biological pollen productivity; M – arithmetic mean; m – error of a measurement

The appearance of the pollen of *Cichorium intybus* in the late-summer heritage honey proves the significant value of this plant in providing of carbohydrate feed for bees. It is $22.8 \pm 1.53\%$. The bee pollen from local apiaries during the flowering of *Cichorium intybus* has been analyzed. It has been established that from 63 of studied samples of bee pollen 37 contained pollen lumps formed from *C. intybus* by bees. 10 of them contained *Cichorium intybus* bee pollen ranging from 10 to 80%, the others – less than 10%.

Most of the pollen lumps of *Cichorium intybus* had a shaping level of 4 points (Table 4). Bee pollen was not an identical form, flattened sides. It was established that the weight of one pollen lump was in the range from 2.8 to 12.2 mg.

Table 4 Morphological characteristics of bee pollen lump of *Cichorium intybus*, $n = 50$

Indicator	M $\pm$ m	Cv (%)	δ	Max	Min
Weight, mg	7.21 $\pm$ 0.255	25.047	1.806	12.2	2.8
Length, mm	3.42 $\pm$ 0.048	7.735	0.264	4.04	2.82
Width, mm	2.97 $\pm$ 0.070	12.988	0.386	3.74	2.05
Shaping level, point	4 $\pm$ 0.15	20.761	0.830	5	3

M – arithmetic mean; m – error of a measurement; Cv – coefficient of variation; δ – standard deviation; Max, Min – maximum, minimum value sample.

It was found that the variation in the length of the pollen lump was weak (7.74%), in contrast to other indicators. The sharpening level of pollen lump (4 points) allows us to assume the possibility of using this plant to obtain commercial bee pollen.

Conclusions

It was established a long flowering period of common chicory in the range from 75 to 102 days. Plant productivity indicators for honey bees were established: biological nectar productivity was in the range from 92.55 to 190, 04 g from one common chicory plant; honey productivity was in the range from 166.59 to 301.34 kg/ha; the biological pollen was in the range from 1,785 to 3,064 g. As a result of pollen analysis of polyfloral honey obtained during the summer of 2016 the pollen grains of common chicory were found in the range from 1 to 27%. Pollen lumps of common chicory in the range from 10 to 80% of the total fee were in polyfloral bee pollen collected during the summer of 2016. The morphometric parameters of the bee pollen were ascertained: the sharpening level of the pollen lump was 4 ± 0.15 points, the weight of one pollen lump was 7.21 ± 0.255 mg, the length of one pollen lump was 3.42 ± 0.048 mm, the width of one pollen lump was 2.97 ± 0.070 mm.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» TRIVE (ITMS 26110230085) and within the project ITEBIO (ITMS 26220220115). Co-author Leonora Adamchuk thanks to the International Visegrad Fund for scholarship and research internships, during which were got the results and knowledge presented in this paper.

References

- Aisa, H.A., Xin, X. 2015. *Cichorium glandulosum* Bioss. et Huet (Juju, Chicory). *Dietary Chinese Herbs*, p. 711–720. DOI: [10.1007/978-3-211-99448-1_80](https://doi.org/10.1007/978-3-211-99448-1_80)
- Brindza, J., Schubertova, Z., Brovarskyi, V., Motyleva, S., Mertvischeva, M., Grygorieva, O. 2015. Morphological characteristics of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) pollen grains and bee pollen. *Науковий вісник НУБіП України. Серія Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, Вип. 223, с. 17–24. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2015_223_4

- Brovarskij, V., Brindza, J. a i. 2010. *Včelí obnôžkový peľ*. Vydavateľ – FOP IS, Maidachenko.
- Deng, Y. Scott, L., Swanson, D., Snyder, J. K., Sari, N., Dogan H. 2001. Guaianolide sesquiterpene lactones from *Cichorium intybus* (Asteraceae). *Naturforsch*, vol. 56b, p. 787–796. DOI: 10.1002/chin.200203022.
- El-Lakany, A.M., Aboul-Ela, M.A., Abdul-Chani, M.M., Mekky, H. 2004. Chemical constituents and biological activities of *Cichorium intybus* L. *Nat Prod Sci*, no 10(2), p. 69–73.
- Grygorieva, O., Nikolaieva, N., Brindza, J., Klymenko, S. 2015. Pollen and bee pollen features of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Науковий вісник НУБіП України. Серія Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, вип. 223, с. 35–40. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2015_223_6
- Kisiel, W., Zielińska, K. 2001. Guaianolides from *Cichorium intybus* and structure revision of *Cichorium sesquiterpene lactones*. *Phytochemistry*, no. 57, p. 523–527. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11394851>
- Malarz, J., Stojakowska, A., Szneler, E., Kisiel, W. 2013. A new neolignan glucoside from hairy roots of *Cichorium intybus*: a review. *Phytochem Lett*, vol. 6, p. 59–61. DOI: 10.1016/j.phytol.2012.10.011
- Redina, N.M., Adamchuk, L.O., Nikolaieva, N.V., Brindza, J. 2016. Morphological characteristics of bee pollen obtained from *Brassica napus* L. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Ґжицького*, т. 18, № 2–3, (68), с. 73–78. <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/728/727>
- Süer, B., Sorkun, K. 2006. A phenological calendar of pollens collected by *Apis mellifera* L.: a review. *Academic Journal*, vol. 6(10–12), p. 12.
- Wang, Q., Liu, Y., Chen, G., Cui, J. 2013. Antimicrobial and antioxidant activities of *Cichorium intybus* root extract using orthogonal matrix design: a review. *J Food Sci*, vol. 78(2), p. 258–263.
- Адамчук, Л.О., Акулюнок, О.І. 2017. Морфологічні особливості бджолиного обніжжя з *Salix* L. *Науковий вісник НУБіП України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, вип. 250, с. 105–113. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2016_250_15
- Адамчук, Л.О., Броварський, В.Д., Новицька, А.Т., Білоцерківець, Т.І. 2016. *Cichorium* L. Для забезпечення бджіл кормами. *Науково-технічний бюлетень*, вип. 116, с. 5–15. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntb_2016_116_4
- Боярчук, С.В. 2015. Оптимізація забезпечення кормами бджолиних сімей. *Науковий вісник НУБіП України*, №. 223, с. 57–64.
- Глухов, М. М. 1955. *Медоносные растения*. Издание – Москва, Сельгосиздат, 512 с.
- Люльчак, О.А., Адамчук, Л.О. 2016. Біорізноманіття пилюконосних рослин. *Збірник праць за підсумками VI Міжнародної науково-практичної конференції вчених, аспірантів і студентів*, с. 135–137.
- Максимов, А.С., Максимов, С.П., Лимбунов, С.Г. 2014. Медоносные ресурсы и качество меда степной и лесостепной зон Республики Бурятия. *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В. Р. Филипова*, ч. 2 (35), с. 128–131.
- Мельников, А.В., Еськов, И.Д. 2015. Последовательность цветения нектароносных и пыльценосных растений в западной микрорегии Саратовской области. *Сборник статей международной научно-практической конференции посвященной 128-й годовщине со дня рождения академика Н. И. Вавилова: Вавиловские чтения*, с. 270.
- Прибылова, Е.П., Иванов, Е.С. 2011. Оценка нектаропродуктивности видов растений и травянистых экосистем Рязанской области. *Вестник Российского университета дружбы народов*, ч. 2, с. 16–21.
- Рожков, К.А., Токар, А.І. 2014. Качество естественных кормов медоносных пчел в условиях Ленинградской области. *Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого*, ч. 76, с. 34–38.
- Стащенко, В.І. 2005. *Флороміграція бджіл та хімічний склад бджолиного обніжжя в умовах Лісостепу України*: автореф. дис. на здоб. наук. ст. канд. с.-г. наук: спец. 06.02.04 «Технологія виробництва продукції тваринництва». Київ: НАУ, 23 с.
- Таранов, Г.Ф. 1986. Корма и кормление пчел. Издательство – Москва, Россельхозиздат, 160 с.



BIOCHEMICAL INDEXES OF TISSUES IN SOME COMMERCIAL FISH SPECIES AT THE ZAPORIZKE RESERVOIR (UKRAINE)

Ananieva Tamila*, Fedonenko Elena

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИН ДЕЯКИХ ПРОМИСЛОВИХ ВИДІВ РИБ ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА (УКРАЇНА)

Ананьєва Таміла, Федоненко Олена

Received 23. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 24. 11. 2017

The purpose of the work was to study the ecological and physiological state of the industrial ichthyofauna of the Zaporizke Reservoir on the basis of biochemical analysis of tissues and organs of fish with different types of nutrition and habitat in modern conditions. The indexes of protein, total lipids, and glycogen contents had been determined in the main commercial fish species from two sections of the Zaporizke Reservoir (Ukraine) with different contamination levels. The research was conducted using the muscle, liver and gills tissue samples from pike-perch (*Sander lucioperca* L.), European perch (*Perca fluviatilis* L.), bream (*Abramis brama* L.), and roach (*Rutilus rutilus* L.). Subjects were selected by standard methods of research control catches at the lower section of the Zaporizke Reservoir area near the Viyskove village (48° 22' 30.75" N; 35° 20' 80.05" E), which is characterized by environmental conditions as "conventionally clean", and Samara Bay (48° 53' 40.21" N; 35° 18' 73.20" E) as technogenically contaminated zone. In predatory fish in the muscles and liver tissue there were the higher protein contents, due to the peculiarities of their nutrition. The processes of carbohydrate and lipid metabolism were most susceptible to deterioration of the environment, as it was evidenced by a statistically significant ($p \leq 0.05$) reduction in the contents of both glycogen and total lipids in the liver tissues in fish from the "contaminated" zone of the reservoir. Violations of plastic and energy exchange were exposed, that they had a chronic character. Obtained data could be used for estimation of food quality of the explored industrial-valuable fishes of the reservoir, and for the diagnostic prognoses of the ecological and physiological state of fish populations under the conditions of anthropogenic loading.

Keywords: commercial fishes; biological tissues; protein content; total lipids; glycogen; Zaporizke reservoir

Вступ

Риба є цінним промисловим продуктом, що представляє харчову цінність для людини, тому біохімічна індикація рибної сировини дає важливі критерії для оцінки якості рибних запасів та їх сільськогосподарської значущості. За рахунок якісної рибної продукції можливо вирішити проблему білкового дефіциту, що здебільшого відчуває людина (Hadjinikolova, 2008; Ананьєва та ін., 2013; Porto et al., 2016). У складі тканин риб присутні всі білкові компоненти

*Corresponding author: Tamila Ananieva, Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine,
✉ ananieva.tamila@gmail.com

й амінокислоти, які необхідні для нормальної життєдіяльності людини. Основними біохімічними показниками загального стану риб є вміст білків, жирів та вуглеводів у її тканинах. Аналіз цих параметрів дозволяє оцінити стан рибних запасів у природних водоймах в умовах трансформації внаслідок антропогенного впливу на водні екосистеми (Федоненко та ін., 2012; Fedonenko et al., 2016).

В умовах тотального забруднення поверхневих водойм питання фізіолого-біохімічного моніторингу природних популяцій риб стають все більше актуальними.

В системному еколого-біологічному тестуванні риб в умовах техногенної трансформації водних екосистем важливе значення мають закономірності пластичного та енергетичного обміну, які відображають фізіолого-біохімічний статус організму протягом річного життєвого циклу (Образова и др., 2016; Fedonenko, Ananieva, 2016).

Виходячи з вищенаведеного, метою роботи стало дослідження еколого-фізіологічного стану представників промислової іхтіофауни Дніпровського водосховища на підставі біохімічного аналізу тканин і органів риб з різним типом харчування та середовищем існування в сучасних умовах.

Матеріали та методи

Для дослідження були вибрані чотири види риб, які є характерними для промислових виловів у Запорізькому водосховищі й відрізняються за способом існування та спектром харчування: лящ (*Abramis brama* L.) – типовий бентофаг, раціон якого містить ракоподібних, молюсків, личинок комах, рослинність; плітка (*Rutilus rutilus* L.) – споживає рослинність, фітопланктон і зоопланктон; судак (*Sander lucioperca* L.) та окунь (*Perca fluviatilis* L.) – хижаки, харчуються рибою. Проби риби відбиралися на двох ділянках Запорізького водосховища, найбільше освоєних у промисловому навантаженні: нижній біля с. Військове (48° 22' 30.75" N; 35° 20' 80.05" E) та Самарській затоці (48° 53' 40.21" N; 35° 18' 73.20" E), розташований в місці впадіння р. Самари в Запорізьке водосховище. Для дослідження статевозрілих особин віком 3–4 роки обох статей, які мали приблизно однаковий розмір та вагу, відбирали за стандартною методикою (Методи..., 2006) у листопаді 2016 р. у двох районах Запорізького водосховища, що характеризувалися за екологічними умовами як “умовно чиста” і “забруднена” зони. Тканину м'язів, печінки та зябер відокремлювали, подрібнювали й визначали вміст загального білка методом Лоурі, вміст загальних ліпідів – методом Фолча, вміст глікогену – антроновим методом Зейфтера (Прохорова, 1982). Одержані цифрові дані піддавали статистичній обробці за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики для малої вибірки. Вірогідність розбіжностей між показниками оцінювали за t-критерієм Ст'юдента для парних показників при рівні значущості $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення

Запорізьке водосховище розташоване на території Дніпропетровської та Запорізької адміністративних областей України. Знизу водосховище обмежено греблею Дніпрогес біля м. Запоріжжя, зверху – греблею Дніпродзержинської ГЕС у м. Кам'янське. Об'єм водосховища – 3,2 км³, площа – 420 км², довжина – близько 170 км, ширина – від 0,6 км, у районі затоплених порогів, до 3,5 км, у верхній частині, середня глибина – 8 м, найбільша – 45 м. Водоймище характеризується доброю проточністю – водообмін здійснюється 12–14 разів на рік. Спрацювання рівня за рік становить 0,5–1 м. Площа мілководь (до 2 м²) – 36 %. За гідрохімічними показниками нижня ділянка водосховища вважається екологічно умовно чистою, а Самарська затока – стійкою зоною токсифікації, токсикологічний режим якої формується під впливом води середньої за водністю степової ріки Самара (річний стік у середньому складає 500 млн м³), куди потрапляють високомінералізовані скидні води Західного Донбасу. Вода у Самарській затоці відзначається високою мінералізацією

(3 200 мг/дм³) і вмістом важких металів, влітку прозорість води складає 120 м, вміст кисню – 4 мг/м³, амонійного азоту – 0,5 мг/дм³, фосфатів – 0,65 мг/дм³ (Федоненко та ін., 2012). Проте завдяки великій площі мілководь, слабкій проточності і добре розвиненій кормовій базі це – один із основних нерестових районів (1,5 тис. га нерестилищ).

Результати досліджень щодо визначення вмісту білка в тканинах промислових риб Запорізького водосховища представлені в таблиці 1. З отриманих результатів видно, що м'язова тканина містить найбільшу кількість білка у порівнянні з печінкою та зябрами. Якщо порівнювати між собою риб, які ведуть хижий і мирний спосіб життя, бачимо, що у біологічних тканинах хижаків вміст білка вищий. Це пояснюється тим, що хижаки споживають білкову їжу і їм необхідна більша кількість поживних і енергетичних речовин, оскільки вони ведуть більш рухливий спосіб життя.

Таблиця 1 Вміст білка у тканинах промислових риб Запорізького водосховища (г/100 г сухої маси, $M \pm m$, $n = 8$)

Table 1 The protein content in tissues of commercial fishes from the Zaporizke Reservoir (g/100 g of dry weight, $M \pm m$, $n = 8$)

Вид риби	Нижня ділянка водосховища			Самарська затока		
	м'язи	зябра	печінка	м'язи	зябра	печінка
Окунь	92,7 $\pm$ 3,1	55,2 $\pm$ 2,2	51,3 $\pm$ 3,1	86,6 $\pm$ 0,5	42,3 $\pm$ 1,09*	36,14 $\pm$ 1,1*
Судак	93,6 $\pm$ 4,4	51,7 $\pm$ 1,8	47,0 $\pm$ 1,6	85,0 $\pm$ 4,5	45,3 $\pm$ 0,5*	34,3 $\pm$ 0,5*
Лящ	91,6 $\pm$ 1,5	46,0 $\pm$ 3,9	46,0 $\pm$ 0,8	80,6 $\pm$ 0,9*	41,3 $\pm$ 2,1	33,2 $\pm$ 1,1*
Плітка	76,6 $\pm$ 3,1	37,0 $\pm$ 0,4	61,0 $\pm$ 3,3	72,4 $\pm$ 1,3	35,6 $\pm$ 1,3	40,4 $\pm$ 1,2*

*достовірні відхилення у порівнянні з даними досліджень нижньої ділянки Запорізького водосховища, $p < 0,05$

Спираючись на усереднені дані інших авторів (Яржомбек и др., 1986; Hadjinikolova, 2008; Porto et al., 2016), можемо відмітити, що вміст білка у більшості риб із Запорізького водосховища декілька нижчий за рівень, відповідний даному сезону. Це може вказувати на послаблення обмінних процесів у риб, знижені фізіолого-функціональні можливості, що у свою чергу може призводити до зниження імунітету, і як наслідок, до підвищення захворюваності і сприйнятливості до різного роду інфекцій.

У Самарській затоці Запорізького водосховища вміст білка у м'язах досліджуваних видів риб знижувався, але достовірне відхилення на 14 % було тільки у ляща.

В зябрах достовірне зниження вмісту білка відмічено у хижих риб – на 24 % у окуня і на 13 % у судака.

В печінці вміст білка був достовірно знижений у всіх видів риб, у окуня – на 30 %, у судака – на 27 %, у ляща – на 30 %, у плітки – на 34 %.

М'язова тканина складає основну масу тіла риб і є найбільш цінною в харчовому відношенні, як для людини, так і для інших ссавців. Зябра риб приймають на себе перший „удар”, викликаний хімічними змінами у водному середовищі, що часто і відбивається на біохімічних показниках в цьому органі. М'язи також можуть слугувати індикаторами забруднень, але у меншій мірі, ніж зябра, нирки і печінка.

Порівнюючи між собою результати, отримані з двох ділянок Запорізького водосховища, можемо сказати, що вміст білка в тканинах риб з нижньої ділянки водосховища вищий майже по всіх показниках, ніж у риб з Самарської затоки. Вміст білка в тканинах риб залежить від багатьох факторів, але у першу чергу визначається рівнем розвитку кормової бази.

Самарська затока є замуленою ділянкою водосховища з великою кількістю мілководь і добре розвинутою природною кормовою базою для риб. Проте оскільки затока відчуває на собі значний антропогенний вплив і стан навколишнього середовища несприятливий через токсичне забруднення, вміст білка в тканинах промислових риб знижений в порівнянні з нижньою ділянкою Запорізького водосховища.

Жир в тілі риб – речовина дуже лабільна не тільки в кількісному, але і в якісному відношенні. Він є головним енергетичним джерелом, тому кількість його змінюється залежно від віку, сезону року, змін в харчуванні, а також у зв'язку з голодуванням, тривалими міграціями риби тощо. Жир відкладається в певних місцях тіла риби, типових для даного виду.

Жир риб переважно складається з триглицеридів і жирних кислот, як ненасичених (84 %), так і насичених (близько 16 %).

Як видно з результатів дослідження, більша кількість загальних ліпідів міститься у м'язовій тканині і печінці мирних промислових риб, таких як лящ, плітка (табл. 2).

Таблиця 2 Вміст ліпідів у тканинах промислових риб Запорізького водосховища (г/100 г сухої маси, $M \pm m$, $n = 8$)

Table 2 The lipid content in tissues of commercial fishes from the Zaporizke Reservoir (g/100 g of dry weight, $M \pm m$, $n = 8$)

Вид риби	Нижня ділянка водосховища			Самарська затока		
	м'язи	зябра	печінка	м'язи	зябра	печінка
Окунь	22,3 $\pm$ 0,6	14,1 $\pm$ 1,2	48,3 $\pm$ 1,2	29,3 $\pm$ 0,06*	17,25 $\pm$ 0,5	46,2 $\pm$ 1,1
Судак	21,6 $\pm$ 0,02	13,8 $\pm$ 0,9	42,2 $\pm$ 0,3	37,95 $\pm$ 0,03*	16,4 $\pm$ 1,06	44,5 $\pm$ 0,7
Лящ	29,9 $\pm$ 0,2	14,2 $\pm$ 0,7	66,1 $\pm$ 2,4	49,9 $\pm$ 0,3*	15,7 $\pm$ 1,8	54,1 $\pm$ 0,99*
Плітка	45,85 $\pm$ 0,3	13,7 $\pm$ 1,3	59,1 $\pm$ 1,1	49,1 $\pm$ 0,4*	16,2 $\pm$ 0,8	52,2 $\pm$ 2,1*

*достовірні відхилення у порівнянні з даними досліджень нижньої ділянки Запорізького водосховища, $p < 0,05$

Значна трофічна пластичність та швидке пристосування в кормовому раціоні коропових риб дозволяють їм значною мірою накопичувати ліпіди в печінці, які можуть бути використані як для енергетичних, так і для пластичних потреб. Загальний вміст ліпідів свідчить про активність анаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії, або про їх використання в адаптивних перебудовах метаболізму і структурних компонентах клітини. Характер розподілу ліпідів в тканинах і органах різних видів і екологічних груп залежить від умов середовища, рухової активності, віку тощо. У хижаків, які ведуть рухливий спосіб життя, жир витрачається активніше.

Потрібно відмітити, що вилов відбувався в осінній період, після літнього нагулу перед зимівлею, коли у риб накопичується найбільша кількість жиру.

Судячи з отриманих результатів щодо вмісту загальних ліпідів, можемо сказати, що найбільший їх вміст визначався в печінці, меншою мірою ліпіди відкладаються у м'язах. Зябра відзначаються низьким рівнем загального жиру та слабким ліпідним обміном як неспецифічна для їх запасання тканина.

У риб з Самарської затоки відмічено значне збільшення вмісту загальних ліпідів у м'язах: у плітки – на 70 %, у ляща – на 67 %, у окуня – на 31 % та у судака – на 75 %. Підвищений вміст ліпідів у м'язовій тканині риб Самарської затоки може свідчити про порушення обміну речовин через несприятливі умови існування, що виникли в цьому районі.

В печінці риби виявлено знижений вміст жиру, достовірні відхилення встановлені у мирних риб, у ляща – на 18 %, у плітки – на 12 %.

Значне зменшення вмісту загальних жирів у печінці досліджуваних риб, відібраних у Самарській затоці, свідчить про загальне порушення ліпідного обміну та процесів накопичення запасних ліпідів.

Необхідною умовою для використання жиру при енергетичному обміні є добре забезпечення організму киснем. В Самарській затоці вода з низьким вмістом кисню, що вірогідно може гальмувати процес накопичення ліпідів. Також негативний вплив численних промислових стоків порушує ліпідний обмін в організмі гідробіонтів, внаслідок чого риба погано переносить зимівлю.

У будь-якому живому організмі, у тому числі у риб, речовинами, що легко мобілізуються в цілях виробництва енергії, є вуглеводи, і в першу чергу глюкоза і запасний вуглевод – глікоген. Глікоген є резервною формою вуглеводів і зустрічаються фактично у всіх клітинах в різних кількостях.

Результати наших досліджень показали, що вміст глікогену найбільш високий у печінці риб, де відбувається його специфічне запасання (табл. 3). У м'язовій тканині рівень глікогену вищий, чим у зябрах, особливо у хижих риб, які відрізняються високою рухливістю. Це можна пояснити інтенсивним вуглеводним обміном у м'язах, значною потребою глікогену для здійснення швидких рухів, в порівнянні із зябровим епітелієм.

Таблиця 3 Вміст глікогену у тканинах промислових риб Запорізького водосховища (г/100 г сухої маси, $M \pm m$, $n = 8$)

Table 3 The glycogen content in tissues of commercial fishes from the Zaporizke Reservoir (g/100 g of dry weight, $M \pm m$, $n = 8$)

Вид риби	Нижня ділянка водосховища			Самарська затока		
	м'язи	зябра	печінка	м'язи	зябра	печінка
Окунь	0,78 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,01	3,80 $\pm$ 0,05	0,62 $\pm$ 0,01*	0,14 $\pm$ 0,01	2,50 $\pm$ 0,02*
Судак	0,93 $\pm$ 0,008	0,17 $\pm$ 0,05	2,80 $\pm$ 0,00	0,66 $\pm$ 0,05*	0,15 $\pm$ 0,02	1,80 $\pm$ 0,06*
Лящ	0,74 $\pm$ 0,006	0,15 $\pm$ 0,03	2,20 $\pm$ 0,001	0,81 $\pm$ 0,016	0,20 $\pm$ 0,01	2,10 $\pm$ 0,08
Плітка	0,70 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,016	2,18 $\pm$ 0,001	0,78 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,04	1,76 $\pm$ 0,06*

*достовірні відхилення у порівнянні з даними досліджень нижньої ділянки Запорізького водосховища, $p < 0,05$

Показники вмісту глікогену в печінці хижих риб виявились вищими у порівнянні з мирними. В печінці плітки та ляща ці показники склали по 2,2 г%, у хижих риб окуня та судака вони істотно вищі – на 72 та 27 % відповідно.

У особин промислових видів риб, виловлених у Самарській затоці Запорізького водосховища, спостерігається переважне зниження вмісту глікогену в досліджуваних тканинах та органах. У м'язах окуня показники глікогену знизились на 20 %, у м'язах судака – на 29 %. У печінці окуня вміст глікогену знизився на 35 %, у печінці судака – на 36 %, плітки – на 20 %.

З отриманих в ході досліджень результатів можна зробити висновок, що антропогенне забруднення Самарської затоки впливає на метаболічні процеси іхтіофауни, і особливо на вуглеводний обмін, оскільки в усіх тканинах та органах досліджуваних нами риб було виявлено зниження показників вмісту глікогену. Отже вуглеводний обмін є чутливим до змін умов навколишнього середовища.

Висновки

У хижих риб у м'язах та печінці спостерігається вищий вміст білка, що пов'язано із особливостями їх харчування. В досліджуваних тканинах хижих риб зафіксовано більший вміст глікогену, оскільки глікоген використовується при необхідності швидкої мобілізації, пов'язаної з кидковими рухами та переслідуванням жертви. Найбільш чутливими до погіршення умов середовища є вуглеводний та ліпідний обміни, про що свідчить статистично достовірне зниження вмісту глікогену у тканинах риб із "забрудненої" зони водосховища, та порушення обміну ліпідів в тканинах печінки та м'язів. Зниження запасних ліпідів у печінці риб може призводити до порушень в функціонуванні організму. У всіх досліджуваних риб найбільші відхилення біохімічних показників були знайдені у печінці, проте у тканині зябер не виявлено значущих змін у вмісті пластичних і енергетичних речовин. Це свідчить про переважно хронічний характер токсичного впливу на іхтіофауну Запорізького водосховища внаслідок поступового забруднення водного середовища й багаторічної акумуляції токсичних речовин.

Отриманні данні можуть бути використані для оцінки харчової якості досліджуваних промислово-цінних риб водосховища, а також для діагностичних прогнозів еколого-фізіологічного стану популяцій в умовах антропогенного впливу.

Література

- Fedonenko, E., Ananieva, T. 2016. Biochemical composition of roe and juvenile fish tissues under the various anthropogenic effects upon reservoir. *Екологічний Вестник Северного Кавказа*, т. 12, № 2, с. 35–38.
- Fedonenko, O. Sharamok, T. Ananieva, T. 2016. Biochemical parameters of blood in fish from Zaporozhian Reservoir. *International Letters of Natural Sciences*, vol. 51, pp. 43–50. DOI: [10.18052/www.scipress.com/ILNS.51.43](https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.51.43)
- Hadjinikolova, L. 2008. Investigations on the chemical composition of carp (*Cyprinus carpio* L.), bighead carp (*Aristichthys nobilis* Rich.) and pike (*Esox lusius* L.) during different stages of individual growth. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol. 14, no 2, p. 121–126.
- Porto, H.L.R., de Castro, A.C.L., Filho, V.E.M., Rádis-Baptista, G. 2016. Evaluation of the Chemical Composition of Fish Species Captured in the lower Stretch of Itapeturu River, Maranhão, Brazil. *Int'l Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engg. (IJAAEE)*, vol. 3, no 1, p.181–186. <http://dx.doi.org/10.15242/IJAAEE.U0416214>
- Ананьєва, Т.В., Федоненко, О.В., Півненко Ю.В. 2013. Біохімічний статус тканин як індикатор еколого-фізіологічного стану промислових риб. *Вісник Запорізького національного університету*, №1, с. 28–34.
- Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод. Під ред. В. Д. Романенко. 2006. Київ, 628 с.
- Образова, С.Б., Кайрат, Б.К., Шалгимбаева, С.М. и др. 2016. Сравнительный биохимический анализ органов молоди некоторых лососевых рыб при различных условиях выращивания. *Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство*, № 4, с. 99–107.
- Прохорова, М.И. 1982. *Методы биохимического исследования*. Ленинград, Изд. ЛГУ, 222 с.
- Федоненко, О.В., Єсіпова, Н.Б., Шарамок, Т.С. 2012. *Сучасні проблеми гідробіології: Запорізьке водосховище: довідник*. Дніпропетровськ: ЛІРА, 280 с.
- Яржомбек, А.А., Лиманский, В.В., Щербина, Т.В. 1986. *Справочник по физиологии рыб*. Москва.: Агропромиздат, 192 с.



PERSPECTIVES OF *LITHOSPERMUM OFFICINALE* L. CULTIVATION

Andrushchenko Olena

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ПЕРСПЕКТИВИ КУЛЬТИВУВАННЯ *LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.

Андрущенко Олена

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 24. 11. 2017

Lithospermum officinale L. was used by people from ancient times as a magical, religious and medicinal plant. *Lithospermum officinale* is known for its useful properties as a medicinal and oilseed plant. Now it is of interest as a perspective source of fatty oils, medicinal raw materials, and biologically active compounds. Gromwell in the last century have met as usual in Europe, but researchers of modern flora refer to species that occur sometimes or are offered to regional security lists. In the case of industrial use, there is a need for the introduction of a gromwell into a culture. The features of *Lithospermum officinale* ontogeny during growing in the Forest-steppe zone of Ukraine are that in the first year of vegetation of plants there are all age states – from sprout to the generative age state, which ends with the formation of a small amount of viable seeds. After the cutting of the aboveground part, there was the formation of proleptic vegetative-generative shoots, on which buds, flowers, and several erems were formed. The formation of sylleptic shoots is characteristic of perennial plants in the second decade of March. When cultivating *Lithospermum officinale* in the studied conditions it is recommended a sowing before winter, or preliminary stratification of seeds. During spring sowing seedlings were obtained in the second half of May, and sown seeds before the winter – in early April. In laboratory conditions stratified *Lithospermum officinale* seeds sprouted on the 5th day, germination was 72%. Using of crops is possible in the second year of vegetation. Using of aboveground biomass in the budding phase is due to the high content of biologically active compounds. The content of sugars in the budding phase was 5.4–7.2%, ascorbic acid – 236.3–373.9 mg%, chlorophyll *a* – 1.39–1.49 mg/g, chlorophyll *b* – 0.35–0.41 mg/g and carotenoids – 0.77–0.78 mg/g. In culture conditions, the yield of biomass of the gromwell was 1.6 t/ha, and the seeds – 287 kg/ha.

Keywords: *Lithospermum officinale* L.; ontogenesis; cultivation; gromwell stratification

Вступ

Рослини, що належать до роду Горобейник (*Lithospermum* L.) з родини Boraginaceae Juss. з прадавніх часів використовуються людиною. Археологічні знахідки плодів свідчать про багатогранність його використання та присутність як елементу культури у населення різної географічної локалізації, що існувала у різні історичні епохи. Найбільш ранні артефакти пов'язані із культурою Кукутень-Трипілля, які датуються V-IV тисячоліттям до н. е. (Solcan et al., 2014). Плоди *Lithospermum officinale* L. виявлені у похованні раннього бронзового періоду в с. Шарбья

*Corresponding author: Olena Andrushchenko, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ novaflora@ukr.net

у Польщі (Baczynska and Litynska-Zajac, 2005). У гробниці Янгхай (Китай, I тисячоліття до н. е.) знайдено бочки, краї яких оздоблені орнаментом із плодів *Lithospermum officinale* (Hong-En et al., 2007). На думку дослідників використання плодів горобейника виконувало певні соціальні функції і свідчило про багатство, силу та престиж у суспільстві. Імовірно воно мало також символічне значення, виступаючи елементом намиста або мозаїки (Solcan et al., 2014), та використовувалося як магічний компонент у лікувальних засобах (Baczynska and Litynska-Zajac, 2005).

Lithospermum officinale відомий своїми корисними властивостями як лікарська та олійна рослина (1987). Для виробництва він являє інтерес як перспективне джерело жирної олії. Його насіння містить до 15 % жирної олії, цінної для косметичної промисловості і фармакології, оскільки поліненасичені жирні кислоти становлять 66 % від їх загальної кількості (Kuhnt, 2012). Наприкінці XIX ст. горобейник лікарський на території Євразії був поширений переважно в середній Європі (від південної Скандинавії і Англії до Іспанії, Італії, Греції) та Західній і Середній Азії (Шмальгаузен, 1897). За зведенням кінця XX століття – на території України вважався звичайним (Определитель..., 1987). Дослідники сучасної флори відносять *Lithospermum officinale* до видів, що трапляються зрідка (Винокуров, 2014; Коломийчук, 2016), та навіть пропонують до регіональних охоронних списків (Кузьмишина та ін., 2009).

У перспективі промислового використання виникає необхідність введення горобейника лікарського в культуру, оскільки ресурсні запаси, очевидно, не зможуть забезпечити виробничі потреби.

Матеріали та методи

Насінний матеріал *Lithospermum officinale* (горобейник лікарський) був одержаний з Ботанічного саду Латвійського університету. Досліджували насіння власної репродукції. Його схожість перевіряли лабораторним методом, пророщуючи в чашках Петрі на зволоженому папері у термостаті при температурі 25 °C; стратифікація – при + 5 °C упродовж п'яти тижнів. Підзимовий висів насіння здійснювали в останню декаду листопада, весняний – наприкінці березня. Дослідні ділянки знаходились на території Національного ботанічного саду (НБС) ім. М. М. Гришка НАН України (Правобережний Лісостеп). Ґрунти темно-сірі, опідзолені, слабо змиті. Досліджено рослини 1-го, 2-го та 3-го років вегетації впродовж 2014 – 2016 років. Експерименти проводили у трикратній повторності. Вибірка при визначенні метричних показників становила 20 рослин. Використовували візуальні спостереження для визначення фенологічних фаз розвитку рослин. Хімічні аналізи проводили в біохімічній лабораторії відділу культурної флори НБС ім. М.М. Гришка. Вміст фотосинтетичних пігментів (хлорофілів і каротиноїдів) визначали спектрофотометрично; абсолютно суху речовину шляхом висушування зразків при температурі 105 °C до постійної маси; вміст аскорбінової кислоти – за Ярусовою (Крищенко, 1983); загальний цукор – за А.В. Петербургським (1963).

Результати та їх обговорення

Горобейник лікарський – багаторічна трав'яниста рослина висотою 60 – 80 см із прямостоячим розгалуженим стеблом. Листки чергові, прості, цілокраї, ланцетні. Стебло і листки опушені жорсткими короткими притиснутими волосками. Квітки двостатеві, правильні, зібрані в завійки; віночок 46 мм завдовжки, блідо-жовтий. Плід – ценобій, що складається із чотирьох еремів.

Для культивування рослин насамперед необхідно дослідити етапи її розвитку. Особливості онтогенезу *Lithospermum officinale* полягають у тому, що у перший рік вегетації у рослин спостерігаються всі вікові стани – від проростку до генеративного вікового стану, який завершується утворенням невеликої кількості життєздатного насіння.

Поява сходів спостерігається на 19 – 30 добу після весняної сівби залежно від забезпеченості вологою. Вегетативна фаза триває 77 – 78 діб. Фаза цвітіння наступала вже на 10 добу після початку бутонізації. Генеративний пагін наростає поступово із утворенням нових цимбодів, тому одночасно на рослині відбувається бутонізація, цвітіння і плодоношення. Важливе значення має час висіву насіння. За весняної сівби сходи вдавалося отримати у другій половині травня, а висіяне насіння під зиму сходить вже на початку квітня (рис. 1). Це не впливало на насінневу продуктивність, але підвищувало польову схожість рослин на 15 %.

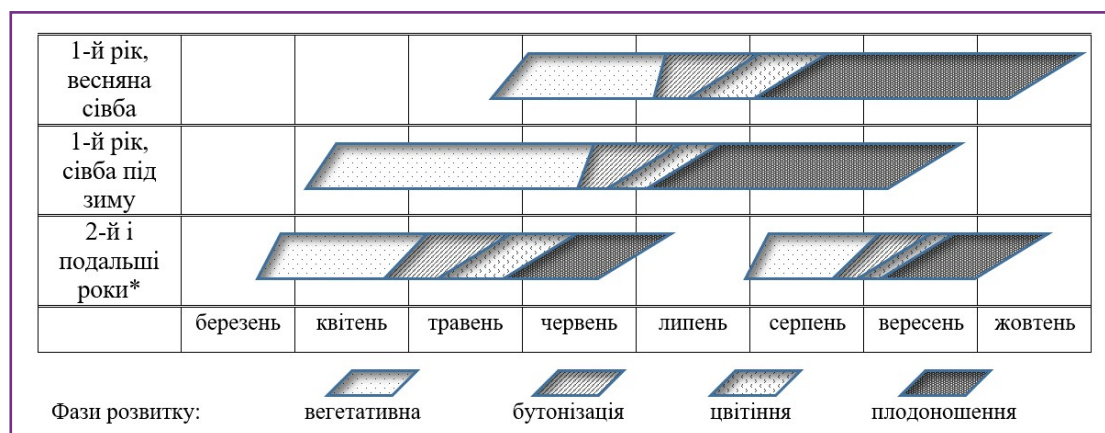


Рисунок 1 Феноспектри однорічних та багаторічних рослин *Lithospermum officinale* L. (2014 – 2016 рр.)
Figure 1 Fenospectra of annual and perennials plants of *Lithospermum officinale* L. (2014–2016)

Суцвіття у рослин першого року життя слабо розвинуті і складаються з 2 – 3 рацемозних вісей, які несуть 4 – 10 цимбодів. На місці кожної квітки формується в середньому 1 ерем.

Для рослин другого та наступних років життя характерне відростання силептичних пагонів у другій декаді березня. Генеративна фаза наступала через 42 – 44 доби і завершувалася досяганням насіння у першій половині липня. У порівнянні із першим роком життя вегетативна фаза є коротшою приблизно на 30 діб, а досягання насіння відбувалося на 2 місяці раніше. Після скошування надземної частини спостерігалось відростання пролептичних вегетативно-генеративних пагонів, на яких розпочиналися бутонізація, цвітіння і зав'язувалося кілька еремів. Слід відзначити, що на рослинах *Lithospermum officinale*, у яких після досягання насіння не були видалені силептичні пагони, розвиток пролептичних пагонів не відбувався. Ереми, що формуються у кількості від 1 до 4 у кожному цимбоді, після досягання залишаються триматися на плодоніжці до осені. Відсутність осипання насіння є цінною господарською характеристикою.

Ереми горобейника лікарського мають міцну оболонку із гладенькою світло-сірою поверхнею, що робить їх за механічними та зовнішніми ознаками подібними до камінців. Насіння має фізіологічний спокій, тому проростання його тривале і неодноразове. Нами визначалася схожість енергія проростання в лабораторних умовах. Дані показники різнилися між собою залежно від способів передпосівної обробки. Енергія проростання насіння *Lithospermum officinale* слабо виражена, проростання насіння відбувалося протягом двох місяців. Найкраща схожість виявлена після стратифікації, яка становила 72 % та у 1,5 рази перевищувала показник у контролі.

Біохімічні дослідження надземної частини рослин *Lithospermum officinale* виявили високий вміст сухої речовини, загального цукру та значну кількість аскорбінової кислоти. Біохімічний склад аналізували у двох фазах: бутонізації та плодоношення. Вміст сухої речовини

більш ніж подвоювався на момент плодоношення з 21 до 48 %. Кількість загального цукру у фазу бутонізації дещо вища і становить 5,4 – 7,2 %, зменшуючись до 3,9 – 4,0 %. Особлива відмінність між фазами виражалася у вмісті аскорбінової кислоти: 236,3 – 373,9 мг% під час бутонізації та 12,9 – 10,0 мг% під час плодоношення. Достатньо високий рівень кількості фотосинтетичних пігментів зафіксовано у фазу бутонізації: хлорофілу *a* – 1,39 – 1,49, хлорофілу *b* – 0,35 – 0,41 і каротиноїдів – 0,77 – 0,78 мг/г.

Досліджуючи продуктивний потенціал *Lithospermum officinale* в умовах польової культури з'ясували, що дворічні рослини, висіяні із шириною міжрядь 45 см, здатні утворити 1,6 т/га біомаси. Реальна урожайність насіння становила 287, тоді як потенційна – 509,6 кг/га.

Висновки

При культивуванні *Lithospermum officinale* в умовах Лісостепу України рекомендовано здійснювати посів під зиму, або попереднє стратифікування насіння. В лабораторних умовах стратифіковані ереми *Lithospermum officinale* проростали на 5-у добу, схожість становила 72 %. Експлуатація посівів можлива на другий рік вегетації. Використання надземної біомаси у фазу бутонізації обумовлене підвищенням вмістом біологічно активних сполук. В умовах культури урожайність біомаси горобейника лікарського становила 1,6 т/га, а насіння – 287 кг/га.

Література

- Baczynska, B., Litynska-Zajac, M. 2005. Application of *Lithospermum officinale* L. in early Bronze Age medicine. *Vegetation History and Archaeobotany*, vol. 14, no. 1, p. 77–80. DOI: [10.1007/s00334-004-0054-7](https://doi.org/10.1007/s00334-004-0054-7)
- Hong-En, J., Xiao, L., Chang-Jiang, L., Yu-Fei, W., Cheng-Sen, L. 2007. Fruits of *Lithospermum officinale* L. (Boraginaceae) used as an early plant decoration (2500 years BP) in Xinjiang, China. *Journal of Archaeological Science*, vol. 34, no. 2, p. 167–170. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2006.04.003>
- Kuhnt, K. 2012. Searching for health beneficial n-3 and n-6 fatty acids in plant seeds. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, vol. 114, no. 2, p. 153–160. DOI: [10.1002/ejlt.201100008](https://doi.org/10.1002/ejlt.201100008)
- Solcan, L., Danu, M., Irimia, I., Bodi, G. 2014. Use and possible significance of two species of Boraginaceae family in prehistory – a review of the Cucuteni culture finds. *An. Stiint. Univ. Al. I. Cuza Iasi, Sect. II a. Biol. veget.*, vol. 60, no. 2, p. 63–75. http://www.bio.uaic.ro/publicatii/anale_vegetala/issue/2014F2/07-2014F2.pdf
- Винокуров, Д.С. 2014. Синтаксономія ксеротермної рослинності долини р. Інгул (Клас *Festuco-Brometea*). Частина 2. Лучно-степова, чагарниково-степова, справжньостепова рослинність. *Укр. бот. журн.*, т. 71, № 5, с. 537–548.
- Коломійчук В. 2016. Ботанічна характеристика проектного заказника «Преславська лука» (Запорізька обл.). *Інтродукція та збереження рослинного різноманіття*, вип. 1(34), с. 19–23.
- Крищенко В.П. 1983. *Методы оценки качества растительной продукции*. М.: Колос. 192 с.
- Кузьмішина, І.І. 2009. Охоронний статус рідкісних та зникаючих видів рослин Шацького національного природного парку. *Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки*, № 2, с. 27–31.
- Определитель высших растений Украины*. 1987. Под ред. Прокудина Ю. Н. Киев: Наук. думка. 548 с.
- Петербургский А.В. 1963. *Практикум по агрономической химии*. Л.: Изд-во сельскохозяйственной литературы. 591 с.
- Шмальгаузен, И.Ф. 1897. *Флора Средней и Южной России, Крыма и Северного Кавказа. Руководство для определения семенных и высших споровых растений*, т. 2. Двудольные сростнолепестные и безлепестные, однодольные, голосемянные и высшие споровые. Киев, тип. Т-ва печ. дела и торг. И.Н. Кушнерев и Ко в Москве, Киевск. отд-ние. XVI+752 с.



STERLET, AS A VALUABLE RESOURCE FOR FOOD PRODUCTION

Antonenko Alina*, Kireeva Irina

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

СТЕРЛЯДЬ, ЯК ЦІННИЙ РЕСУРС ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКЦІЇ ХАРЧУВАННЯ

Антоненко Аліна, Кіреєва Ірина

Received 4. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 24. 11. 2017

The article is devoted to the analysis of the productive indicators of sterlet females during the spawning campaign on the stretch of the practice at Fortuna-XXI. The paper used the conventional fish farming methods of the study. Stimulation of the maturation of sexual products of sires conducted by ecological and physiological methods with a single injection of synthetic drugs "surfahon" and their subsequent aging under controlled conditions. Getting of sex products – by method Podushka S. "Analysis breeding and biological results of the 2nd round of spawning in PE "Fortuna – XXI" – showed that females sterlet quantitative research individual reproductive rates differ slightly. Only females number 4 of the maximum body weight observed the dependence of the basic reproductive performance of this indicator. For round 2 breeding operations received 3.5 kg of caviar, fertilization rate which was 75%, in line with regulatory requirements. Overall, spawning with females of sterlet experimental group was satisfactory. Plan on getting sexual products of sterlet is 80%.

Keywords: sterlet; spawning campaign; research group; mass; reproductive indicators

Вступ

Природні популяції стерляді в результаті антропогенного впливу продемонстрували високу вразливість, яка привела до скорочення її природних запасів і поступового зникнення з промислу в ряді регіонів, в тому числі і в Нижньому Дніпрі. Одним із шляхів подолання даної ситуації є організація штучного відтворення стерляді в умовах спеціалізованих підприємств. Мета досліджень – аналіз репродуктивних показників самок стерляді (Андрющенко, 2014).

Матеріали та методи

Об'єкт досліджень – стерлядь (*Acipenser ruthenus* L.). Повносистемне господарство ПП «Фортуна – XXI» розташоване в 3 зоні рибиництва (Полісся, Україна). Водопостачання – р. Дніпро. У роботі користувалися загальноприйнятими в рибистві методами дослідження (Львов и др., 1993). Стимуляція дозрівання статевих продуктів плідників проводилася еколого-фізіологічним методом з одноразовим ін'єктуванням синтетичним препаратом «сурфагон»

*Corresponding author: Alina Antonenko, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ alinaantonenko199544@gmail.com

і наступним їх витримуванням в контрольованих умовах. Отримання статевих продуктів – метод Подушки С. (Алимов і Андрющенко, 2008).

Результати та їх обговорення

Нерестова компанія з стерляддю проводилася в 2 тури. В 2-му турі рибоводних робіт брали участь 12 самок і 24 самців. Маса дослідних самок коливалась від 2 кг (№ 11) до 2,4 кг (№ 4, 16) при середньому показнику 2,2 кг (табл. 1).

Аналіз отриманих рибоводно-біологічних даних показав, що час дозрівання статевих продуктів у дослідних самок варіював в діапазоні 20 (№ 1) – 27 годин (№ 13, 15, 16), що в середньому склало 25 годин (№ 10, 11, 12) і відповідало нормативним показникам. При цьому особини № 3, 4 дозріли – через 21 годину. У самки № 17 відбулась резорбція ікри, тому подальші роботи з нею не проводились.

Таблиця 1 Репродуктивні показники самок стерляді
Table 1 The reproductive indicators of sterlet females

Номер	Маса, кг	Час дозрівання статевих продуктів, годин	Маса ікри, г	Робоча плодючість, тис. ікринок	Кількість ікринок в 1 г, екз.	Відсоток запліднення ікри, %
1	2,1	20	350	32,5	93	78
3	2,2	21	350	32,5	93	78
4	2,4	21	380	34,6	91	71
5	2,2	22	310	28,5	92	61
8	2,3	24	260	26,0	100	85
10	2,2	25	320	30,4	95	63
11	2,0	25	290	29,6	102	63
12	2,2	25	300	28,8	96	63
13	2,3	27	330	31,0	94	79
15	2,1	27	300	29,4	98	79
16	2,4	27	340	32,3	95	79
17	2,2	24	резорбція	–	–	–
Середній показник	2,2	25	320	30,5	95	75
Всього	–	–	3 530	–	–	–

Показник кількості отриманої ікри коливався у досить широкому діапазоні. Максимальну кількість ікри отримали від самки № 4 масою 2,4 кг – 380 г, що перевищувало мінімальний показник на 120 г (самка № 8 масою – 2,3 кг). Від самок № 1 та 3 масою 2,1 і 2,2 кг відповідно, отримали по 350 г ікри, в той час як від решти особин – від 300 до 340 г ікри. Всього за 2-ий тур рибоводних робіт отримали 3,5 кг ікри, що в середньому на одну особину склало – 0,3 кг.

Відомо, що робоча плодючість залежить від маси самки і кількості отриманих статевих продуктів. Максимальна робоча плодючість 34,6 тис. ікр. відмічена відповідно у найкрупнішій самки № 4. При цьому, у самки № 11, яка мала найменшу масу – 2,0 кг, даний показник досяг

29,6 тис. ікринок, що перевищувало мінімальний показник на 30 тис. ікр. (самка № 8) У самок № 1 та 3 робоча плодючість була однакою – 32,5 тис. ікринок. Середня робоча плодючість самок у дослідній групі особин склала 30,5 тис. ікр., що відповідало нормативним вимогам.

Кількість ікринок у 1 г ікри характеризує їх розмір. Найкрупніша ікра спостерігалась у самки № 4 – 91 екз./г, в той час як у самки № 11 – 102 екз/г. В середньому кількість ікринок в 1 г ікри у самок 2-го туру рибоводних робіт сягала 95 екземплярів.

Для оцінки рибоводної якості ікри визначався відсоток її запліднення, який у пар самок – № 1, 3, 10 – 13, № 13 – 17 мав однакові значення – 78, 63 та 79 % відповідно. Середній відсоток запліднення ікри у самок 2-го туру досяг нормативних 75 %. При цьому, у самки № 5 він не перевищував 61 %, що було на 24 % менше, ніж у самки № 8, ікра якої запліднилась на 85 %.

Висновки

Аналіз рибоводно-біологічних результатів 2-го туру нерестової компанії на ПП “Фортуна – XXI” показав, що у дослідних самок стерляді кількісні індивідуальні репродуктивні показники відрізнялись незначно. У самки № 4 з максимальної масою тіла спостерігалась залежність основних репродуктивних показників від цього показника. Всього за 2 тур рибоводних робіт отримано 3,5 кг ікри, відсоток запліднення якої склав 75 %, що відповідало нормативним вимогам. В цілому, нерестова компанія з самками стерляді дослідної групи пройшла задовільно. План з отримання статевих продуктів стерляді виконано на 80 %.

Література

- Алимов, С. І., Андрющенко, А.І. 2008. *Осетривництво*. Київ, 502 с.
- Андрющенко, А.І. 2014. *Аквакультура штучних водойм. Частина 2. Індустріальна аквакультура*. Київ. 586 с.
- Гринжевський, М.В., Андрющенко, А.І., Третьак, О.М., Грициняк, І.І. 2000. *Основи фермерського рибного господарства*. Київ, 340 с.
- Васильева, Л.М. 2000. *Биологические и технологические особенности товарной аквакультуры осетровых в условиях Нижнего Поволжья*. Астрахань. 190 с.
- Львов, Л.Ф., Резанова, Н.И., Крупный, В.А. 1993. *Рекомендации по выращиванию стерляди*. Киев. 28 с.



ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF EARLY-FLOWERING PLANTS

Balaeva-Tichomirova Olga*, Leonovich Evgenia

Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Belarus

ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ РАННЕЦВЕТУЩИХ РАСТЕНИЙ

Балаева-Тихомирова Ольга , Леонович Евгения

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 24. 11. 2017

In connection with the increase in the impact of unfavorable environmental factors on biological objects, including plants used in agriculture, it is important to find adequate ways to counteract current stressors (climate change – extreme temperature effects, drought and excessive watering of soils, accumulation of heavy metals and other). Among the factors that counteract stress, natural biocompatible biologically active compositions containing endogenous antioxidants are of great interest. The aim of the study was to justify the possibility of using primroses as a biosubstance containing endogenous antioxidants to reduce and prevent the effects of oxidative stress. The object of the study were early-flowering plants – *Allium ursinum* L., *Primula véris* L., *Allium schoenoprásu* L. In the primrose leaves, the content of endogenous antioxidants (diene conjugates, the sum of flavonoids, the sum of phenolic compounds, ascorbic acid), the activity of the antioxidant system (the content of lipid peroxidation products, diene conjugates) was determined. The investigated parameters were determined by the spectrophotometric method. Results of the study. Analyzing the changes in antioxidant activity of early flowering plants, it has been established that they are characteristics of structural-functional adaptations and vary insignificantly depending on the place and conditions of growth and the type of plant population, which makes it possible to cultivate them without loss of value characteristics as an antioxidant biosubstance and conservation of biodiversity of protected natural populations. The results of the study can be used to create from primrose extracts possessing antioxidant effect, which are affordable and simple in their implementation and the ability to further process biological objects with this substrate, increasing their stress resistance to unfavorable factors.

Keywords: early-flowering plants; biosubstances; endogenous antioxidants; indicators of non-enzymatic antioxidant system; oxidative stress

Введение

Стрессоры при воздействии на биологические объекты формируют неспецифичную ответную реакцию, во многом определяемую либо избыточностью проокислительных процессов, либо недостаточностью существующих эндогенных антиоксидантных систем. Обработка биологического объекта биосовместимым природным антиоксидантным поликомпонентным препаратом может повысить устойчивость его к действию факторов, вызывающих окислительный стресс или снизить последствия данного воздействия. В качестве сырья для

*Corresponding author: Olga Balaeva-Tichomirova, Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Belarus, ✉ olgabal.tih@gmail.com

таких антиоксидантных экстрактов предполагается использовать биомассу раннецветущих растений, для этого необходимо исследовать содержание эндогенных антиоксидантов, содержащихся в раннецветущих растениях (Веретенников, 2006).

Цель работы – обосновать возможность использования первоцветов в качестве биосубстанции содержащей эндогенные антиоксиданты для снижения и предупреждения последствий окислительного стресса.

Материалы и методы

Объект исследования – раннецветущие растения – лук медвежий (*Allium ursinum* L.); первоцвет весенний (*Primula vѐris* L.); лук шнитт (*Allium schoenoprásu*m L.).

Предмет исследования – содержание эндогенных антиоксидантов (суммы флавоноидов, суммы фенольных соединений, аскорбиновой кислоты), активность антиоксидантной системы (содержание продуктов перекисного окисления липидов, диеновых конъюгатов).

Исследуемые показатели определялись спектрофотометрическим методом.

Содержание диеновых конъюгатов определялось в суспензии хлоропластов, растворяя их в смеси гептан: изопропиловый спирт в соотношении 1 : 1 (Ермаков, 1987). Концентрация продуктов перекисного окисления липидов устанавливалась по тесту с тиобарбитуровой кислотой (Либберт, 1976). Содержание суммы фенольных соединений определялось в спиртовых экстрактах при добавлении реактива Фолина-Чиокальтеу (Веретенников, 2006). Содержание суммы флавоноидов выявлялось в спиртовых экстрактах при добавлении раствора алюминия хлорида (Гребинский, 2005).

Математическую обработку полученных результатов проводили методами параметрической и непараметрической статистики с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 2003, STATISTICA 6.0. Достоверность различий учитывали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Раннецветущие растения на всех стадиях развития устойчивы к климатическому стрессу (низкой температуре, влажности воздуха и почвы в начале вегетации, значительных перепадах ночных и дневных температур воздуха и почвы, к постоянным северо-западным ветрам). Первоцветы обладают высокой способностью к биологической адаптации, что необходимо для их нормального функционирования под воздействием экстремальных условий. Сложные условия произрастания приводят к активации окислительного стресса и увеличению числа свободных радикалов, что может привести к гибели клеток и как следствие гибели самого растения.

Установлено, что эндогенные вещества растения способны нейтрализовать избыточное образование свободных радикалов, проявляя тем самым защитные, антиоксидантные свойства. Выявлено, что способностью к «тушению» реакций одноэлектронного восстановления кислорода обладают такие соединениями, как аскорбиновая кислота, токоферол, восстановленный глутатион, флавоноиды, полифенольные комплексы, полиамины, свободные аминокислоты (в частности, пролин), растворимые углеводы.

Ферменты-антиоксиданты катализируют преимущественно реакции нейтрализующие супероксид и перекись водорода, а детоксикация реактивных производных кислорода (синглетный кислород, гидроперекисный радикал, гидроксил-радикал и пероксинитрит) осуществляется эндогенными антиоксидантными относящимися к неферментативной антиоксидантной системе растения.

Фенольные соединения участвуют в окислительно-восстановительных процессах, защитных механизмах, в процессах роста растения, являются антиоксидантами и стимулируют деление клеток. Наибольшее содержание фенольных соединений зафиксировано в листьях первоцвета весеннего природной популяции, произрастающей в лесничестве Борисовского

района, и составляет 50,32 мг/г. Наименьшее значение данного показателя отмечено в листьях лука медвежьего природной популяции, произрастающего в лесничестве Витебского района и составляет 14,26 мг/г, что в 3,53 раза меньше, чем в листьях первоцвета весеннего. Значение данного показателя внутри популяции одного вида варьируют незначительно и составляет у первоцвета весеннего $\Delta 1,01$ мг/г, у медвежьего лука – $\Delta 1,12$ мг/г, у лука шнитт – $\Delta 1,68$ мг/г. Выявлено, что содержание данного показателя статистически значимо отличается между растениями, произрастающими в г. Витебске и Витебском районе и растениями из Борисовского района, что может быть связано с более северным местом расположения популяций и большему климатическому стрессу (табл. 1).

Таблица 1 Содержание эндогенных антиоксидантов и активность антиоксидантной системы листьев природных и интродукционных популяций раннецветущих растений ($M \pm m$)
Table 1 The content of endogenous antioxidants and the activity of the antioxidant system of leaves of natural and introductive populations early-flowering plants ($M \pm m$)

Растительный объект	Место сбора		
	Ботанический сад (г. Витебск)	Лесничество (Борисовский р-н)	Лесничество (Витебский р-н)
Диеновые конъюгаты (мкмоль/г)			
<i>Allium ursinum</i>	0,54 $\pm$ 0,03	0,49 $\pm$ 0,07 ¹	0,54 $\pm$ 0,03 ¹
<i>Primula véris</i>	0,74 $\pm$ 0,01 ¹⁻³	0,81 $\pm$ 0,05 ¹⁻³	0,84 $\pm$ 0,14 ¹⁻³
<i>Állium schoenoprásium</i>	0,45 $\pm$ 0,02 ¹⁻³	0,41 $\pm$ 0,03 ¹⁻³	0,21 $\pm$ 0,02 ¹⁻³
Продукты перекисного окисления липидов (нмоль/г)			
<i>Allium ursinum</i>	8,49 $\pm$ 0,20	4,56 $\pm$ 0,79 ¹	7,18 $\pm$ 1,02 ¹
<i>Primula véris</i>	4,51 $\pm$ 0,17 ¹⁻³	5,10 $\pm$ 0,82 ¹⁻³	4,57 $\pm$ 0,36 ¹⁻³
<i>Állium schoenoprásium</i>	2,62 $\pm$ 0,45 ¹⁻³	3,30 $\pm$ 0,59 ¹⁻³	2,77 $\pm$ 0,32 ¹⁻³
Сумма фенольных соединений (мг/г)			
<i>Allium ursinum</i>	22,99 $\pm$ 3,73	20,60 $\pm$ 2,70 ¹	14,26 $\pm$ 4,79 ¹
<i>Primula véris</i>	49,62 $\pm$ 4,80 ¹⁻³	50,32 $\pm$ 2,08 ¹⁻³	49,67 $\pm$ 2,07 ¹⁻³
<i>Állium schoenoprásium</i>	15,39 $\pm$ 2,01 ¹⁻³	19,76 $\pm$ 1,29 ¹⁻³	18,08 $\pm$ 3,35 ¹⁻³
Сумма флавоноидов (мг/г)			
<i>Allium ursinum</i>	1,83 $\pm$ 0,66	1,76 $\pm$ 0,60 ¹	1,09 $\pm$ 0,23 ¹
<i>Primula véris</i>	2,28 $\pm$ 0,28 ¹⁻³	2,01 $\pm$ 0,38 ¹⁻³	2,21 $\pm$ 0,44 ¹⁻³
<i>Állium schoenoprásium</i>	1,23 $\pm$ 0,17 ¹⁻³	1,16 $\pm$ 0,10 ¹⁻³	1,21 $\pm$ 0,11 ¹⁻³
Аскорбиновая кислота (мг/г)			
<i>Allium ursinum</i>	23,59 $\pm$ 0,221	18,96 $\pm$ 0,313 ¹	16,72 $\pm$ 0,411 ¹
<i>Primula véris</i>	77, 43 $\pm$ 0,54 ¹⁻³	81,65 $\pm$ 0,73 ¹⁻³	78,32 $\pm$ 0,62 ¹⁻³
<i>Állium schoenoprásium</i>	11,65 $\pm$ 0,15 ¹⁻³	10,22 $\pm$ 0,13 ¹⁻³	10,06 $\pm$ 0,11 ¹⁻³

¹ – $P < 0,05$ по сравнению с биомассой *Allium ursinum* (ботанический сад); ² – $P < 0,05$ по сравнению с биомассой *Allium ursinum* (Борисовское лесничество); ³ – $P < 0,05$ по сравнению с биомассой *Allium ursinum* (Витебское лесничество); ⁴ – $P < 0,05$ по сравнению с биомассой *Primula véris* (ботанический сад); ⁵ – $P < 0,05$ по сравнению с биомассой *Primula véris* (Борисовское лесничество); ⁶ – $P < 0,05$ по сравнению с биомассой *Primula véris* (Витебское лесничество)

Флавоноиды защищают растительные ткани от избыточной радиации, обладают противовоспалительным, антиоксидантным действием, участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, протекающих в растительных тканях, нейтрализуя избыток свободных радикалов.

Наибольшее содержание суммы флавоноидов зафиксировано в листьях первоцвета весеннего интродукционной популяции, произрастающей в ботаническом саду г. Витебска, и составляет 2,28 мг/г. Наименьшее значение данного показателя отмечено в листьях лука медвежьего природной популяции, произрастающего в лесничестве Витебского района и составляет 1,09 мг/г, что в 2,1 раза меньше, чем в листьях первоцвета весеннего.

Отмечено, что содержание суммы флавоноидов статистически значимо отличаются в зависимости от местопроизрастания, но изменения значений данного показателя варьируют незначительно. Так, например, у медвежьего лука при сравнении с растениями из лесничества Витебского района содержание суммы флавоноидов в 1,68 раз и 1,61 раза больше в популяциях ботанического сада и лесничества Борисовского района соответственно. Данный показатель изменяется незначительно в пределах одного вида, мг/г: у первоцвета весеннего на $\Delta 0,27$, у медвежьего лука – $\Delta 0,76$, у лука шнитт – $\Delta 0,07$.

Аскорбиновая кислота является важнейшим внутриклеточным антиоксидантом, способным легко отдавать два атома водорода, используемых в реакциях обезвреживания свободных радикалов. Наибольшее содержание аскорбиновой кислоты зафиксировано в листьях первоцвета весеннего, произрастающего в природной популяции в лесничестве Борисовского района и составляет 81,65 мг/г. Наименьшее значение данного показателя отмечено в листьях лука шнитт природной популяции, произрастающего в лесничестве Витебского района и составляет 10,06 мг/г, что в 8,12 раза меньше, чем в листьях первоцвета весеннего. Отмечено, что разница в содержании витамина С между видами растений значительная и отличается в 4,32 раза и 7,99 раз при сравнении содержания в листьях первоцвета весеннего с медвежьим луком и луком шнитт соответственно, и при сравнении – между медвежьим луком и луком шнитт в 1,86 раз. У одного вида растения в зависимости от местообитания показатель изменяется незначительно, например у медвежьего лука содержание витамина С в 1,41 раз и 1,25 раза больше в популяциях ботанического сада г. Витебска и Борисовского района соответственно при сравнении с растениями из популяции лесничества Витебского района.

Для оценки возможности данного растения противостоять неблагоприятным факторам окружающей среды, помимо содержания эндогенных антиоксидантов, используют активность антиоксидантной системы, которую оценивают по содержанию промежуточных и конечных продуктов перекисного окисления липидов. Наибольшее содержание диеновых конъюгатов выявлено в листьях первоцвета весеннего, произрастающего в природной популяции лесничества Витебского района и составляет 0,84 мкмоль/г, наименьшее значение – 0,21 мкмоль/г в листьях лука шнитт того же местопроизрастания, что в 4 раза меньше чем в листьях первоцвета весеннего. Установлено, что разница в содержании диеновых конъюгатов между видами растений значительная и отличается в 1,56 раза и 4 раза при сравнении содержания в листьях первоцвета весеннего с медвежьим луком и луком шнитт соответственно, и при сравнении между медвежьим луком и луком шнитт – в 2,57 раза. При сопоставлении данных по одному виду в зависимости от местопроизрастания и типа популяции значительных изменений не отмечено. Наибольшие отличия выявлены у лука шнитт, которые составляют при сравнении природной популяцией Витебского лесничества с интродукционной популяцией ботанического сада г. Витебска 2,14 раза и 1,95 раза – с природной популяцией Борисовского района.

Наибольшее содержание продуктов перекисного окисления липидов зафиксировано в листьях медвежьего лука, произрастающего в Ботаническом саду г. Витебска. Отмечено, что данный показатель выше у медвежьего лука в 1,9 раза по сравнению с первоцветом и в

3,2 раза по сравнению с луком шнитт. В зависимости от местообитания данный показатель изменяется незначительно, но у медвежьего лука повышен в популяциях ботанического сада г. Витебска и лесничества Витебского района в 1,86 и в 1,57 соответственно при сравнении показателя с популяцией лесничества Борисовского района.

Активность антиоксидантной системы выше в популяциях ботанического сада г. Витебска и лесничества Витебского района, что связано с тем, что данные местопроизрастания видов находятся севернее на карте Республики Беларусь, где усиливаются потоки холодного северо-западного ветра, увеличиваются колебания температур воздуха и почвы, и как следствие повышается количество свободных радикалов и необходимость в их утилизации.

Таким образом, по содержанию эндогенных антиоксидантов наибольшей антиоксидантной активностью и возможностью противодействовать последствиям окислительного стресса обладают листья первоцвета и медвежьего лука не зависимо от типа популяции и местопроизрастания.

Лук шнитт обладает достаточным запасом антиоксидантных соединений и активностью антиоксидантной системы, но уступает по всем показателям первоцвету весеннему и медвежьему луку, что доказывается данными таблицы 1, наибольшее содержание суммы фенольных соединений, суммы флавоноидов, аскорбиновой кислоты отмечено в листьях первоцвета весеннего. Активность перекисного окисления липидов снижена в листьях первоцвета весеннего по сравнению с медвежьим луком в 1,9 раза. По сравнению с медвежьим луком в первоцвете весеннем увеличено содержание следующих показателей: сумма фенольных соединений – в 2,16 раза, сумма флавоноидов – в 1,25 раза, аскорбиновой кислоты – в 3,28 раза. По сравнению с луком шнитт в первоцвете весеннем увеличено содержание следующих показателей: суммы фенольных соединений – в 3,2 раза, суммы флавоноидов – в 1,9 раза, аскорбиновой кислоты – в 6,6 раза.

Выводы

Таким образом, биомасса первоцветов может быть использована для изготовления экстрактов, обладающих антиоксидантным действием, которые являются доступными по цене и простыми по своей реализации и возможностью в дальнейшем обрабатывать биологические объекты данным субстратом, увеличивая их стрессоустойчивость к неблагоприятным факторам.

Проанализировав изменения показателей антиоксидантной активности раннецветущих растений, установлено, что они являются характеристиками структурно-функциональных адаптаций и варьируют незначительно в зависимости от места и условий произрастания и типа популяции растений, что дает возможность их культивирования без потери ценностных характеристик как антиоксидантной биосубстанции и сохранения биоразнообразия охраняемых природных популяций.

Литература

- Ercisl, S., Orhan, E., Ozdemir, O., Sengul, M. 2008. Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity, plant nutritional elements, and fatty acids in tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* clone *Derepazari*) grown in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, vol. 46, no. 10–11, pp. 683–687. DOI: [10.1080/13880200802215818](https://doi.org/10.1080/13880200802215818)
- Kothari, V., Seshadri, S. 2010. Antioxidant activity of seed extracts of *Annona squamosa* and *Carica papaya*. *Nutrition and Food Science*, vol. 40, no. 4, p. 403–408. DOI: [10.1108/00346651011062050](https://doi.org/10.1108/00346651011062050)
- Kuntorini, E.M., Dewi, M. 2016. Anatomical structure and antioxidant activity of red bulb plant (*Eleutherine americana*) on different plant age. *Biodiversitas*, p. 229–233. DOI: [10.13057/biodiv/d170123](https://doi.org/10.13057/biodiv/d170123)
- Charles, Denys, J. 2013. *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. Springer Science + Business Media New York, 610 p. ISBN 978-1-4614-4309-4.



ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF “HAIRY” ROOT CULTURE AND REGENERATED PLANTS OF *RUTA GRAVEOLENS* L. AGAINST SOME SOIL AND PATHOGENIC BACTERIA

**Bielikova Olena^{1*}, Matvieieva Nadiia²,
Tashyrev Oleksandr², Yastremskaya Larisa³**

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

³National Aviation University, Kyiv, Ukraine

Received 21. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 24. 11. 2017

Ruta graveolens L. has potential value in traditional medicine by various active substances in the composition, which act as antioxidants and have anticancer, antiviral and antibacterial properties. The present study was undertaken to evaluate the effect of genetic transformation on antibacterial activity of ethanol and water extracts of “hairy” root culture and regenerated plant of *Ruta graveolens* against human pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* B-904, *Bacillus subtilis* sub sp. *subtilis*, *Escherichia coli* B-906, *Pseudomonas aeruginosa* B-907 and soil bacteria *Micrococcus luteus*, *Enterobacter hormaechei*, *Kocuria carniphila*, *Citrobacter freundii*, *Rhodococcus erythropolis* and yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*. Both extracts from control and transgenic roots demonstrated antimicrobial activity against Gram-positive bacteria. The extracts didn't inhibit growth of Gram-negative bacteria and yeast. The activity of ethanol extract was greater than the activity of water extracts. In some cases, the extracts from ‘hairy’ root culture exhibited higher antimicrobial activity than the extracts from the control plants.

Keywords: *Ruta graveolens* L.; antimicrobial activity; “hairy” root culture microorganisms

Introduction

Ruta graveolens L. is the source of more than 120 biologically active compounds of different classes such as phenols, flavonoids, alkaloids, anthocyanins, indoles, tannins (Melnik and Grytsyk, 2015). The plants have potential value in traditional medicine by various active substances in the composition, which act as antioxidants and have anticancer, antiviral and antibacterial properties (Fadlalla et al., 2011; Asgarpanah and Khoshkam, 2012). Previously, it was shown that extracts of *Ruta graveolens* exhibit antimicrobial activity against a broad spectrum of microorganisms (Ivanova et al., 2005; Pandey et al., 2011; Amabye and Shalkh, 2015; Saeidinia et al., 2016).

The plants collected in nature usually are a source of biologically active compounds with antimicrobial activity. At the same time, transgenic plants and “hairy” roots can also be used as a source of the compounds with antimicrobial properties. Therefore, now there is high interest in obtaining transgenic roots of *Ruta graveolens*. “Hairy” root culture can grow in bioreactors in nutrient media

***Corresponding author:** Olena Bielikova, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ belikova.e.y@gmail.com

without growth regulators. It is the advantage of using these roots for a synthesis of secondary metabolites, which have a practical interest (Kuzovkina and Schneider, 2006).

It is known that the “hairy” root extracts exhibit antimicrobial activity. But the content of biologically active compounds, that contribute to antimicrobial properties, can change dramatically as a result of the bacterial transformation of plants. It was previously shown that transgenic roots of *Ruta graveolens* possess higher antimicrobial activity than control plants (Matvieieva et al., 2015), but the question of spectrum antimicrobial activity of «hairy» roots extracts is still relevant. The activity of *Ruta graveolens* plant extracts, regenerated from “hairy” roots is still unexplored.

The aim of the study was to evaluate the effect of genetic transformation on antibacterial activity of ethanol and water extracts of “hairy” root culture and regenerated plant of *Ruta graveolens* against human pathogenic bacteria and some strains of soil microorganisms.

Material and methodology

Ruta graveolens “hairy” root culture and regenerated from these roots transgenic plants were obtained earlier (Matvieieva and Shakhovsky, 2017). The samples were cultured in *in vitro* conditions on Murashige and Skoog (MS) solidified medium (Murashige and Skoog, 1962) with a twice reduced content of macrosalts. Plants or roots were collected from the nutrient medium, washed with distilled water for obtaining of the extracts. The samples were homogenized with distilled water or 70% ethanol. Then homogenized mass was separated by centrifugation (14 000 rpm for 6 min) in Eppendorf centrifuge. Supernatants were collected and centrifuged again for 4 minutes. The supernatant was applied to discs, the total volume of extract content on each disk was 40 µl.

For these assays, the following microorganisms were used pathogenic test-microorganisms: *Staphylococcus aureus* B-904, *Bacillus subtilis* sub sp. *subtilis*, *Escherichia coli* B-906, *Pseudomonas aeruginosa* B-907; soil bacteria: *Micrococcus luteus*, *Enterobacter hormaechei*, *Kocuria carniphila*, *Citrobacter freundii*, *Rhodococcus erythropolis* and yeast: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis* (from the collection of microorganisms of Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine). Disco-diffusion method was used for the testing of antimicrobial activity. As a control, we used discs with antibiotics (penicillin, tetracycline, oleandomycin, streptomycin, lincomycin, ciprofloxacin, erythromycin, rifampicin, furagin) and extragents (distilled water or 70% ethanol).

Antibacterial activities were evaluated by the diameter of an inhibition zone (mm) at the end of the incubation time (1–7 days at 25–37 °C in depending on the strain of microorganisms).

Results and discussion

The antimicrobial activities of extracts of the control, transgenic *R. graveolens* plants, and “hairy” root culture was evaluated (Figure 1).

The results showed that water and ethanol extracts differed significantly in antimicrobial activity.

All kinds of extracts were ineffective against gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*) and yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida tropicalis* (Table 1).

Water extracts from the control plants demonstrated antimicrobial activity against *Micrococcus luteus*, *Enterobacter hormaechei*, *Kocuria carniphila*. Ethanol extracts from the control plants inhibited growth of *Micrococcus luteus*, *Enterobacter hormaechei*, *Kocuria carniphila*, *Rhodococcus erythropolis* and *Staphylococcus aureus* bacterial strains. Ethanol extracts from the control plants showed twice higher antimicrobial activity against *Enterobacter hormaechei*, because inhibition zones were 12 and

24 mm in the case of using of water and ethanol extracts, respectively. The same time there was some difference in antimicrobial activity of water and ethanol extracts against *Kocuria carniphila*. Ethanol extracts of the control plants have shown five times more active against *Micrococcus luteus* than water extracts.

It was shown that extracts of transgenic roots inhibited growth of *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter hormaechei*, *Kocuria carniphila*, *Rhodococcus erythropolis*. In addition, ethanolic extracts inhibited grows of these bacteria and also grows of *Bacillus subtilis*. Ethanolic extracts had two times higher antimicrobial activity against all of these microorganisms, except *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* (Figure 1).

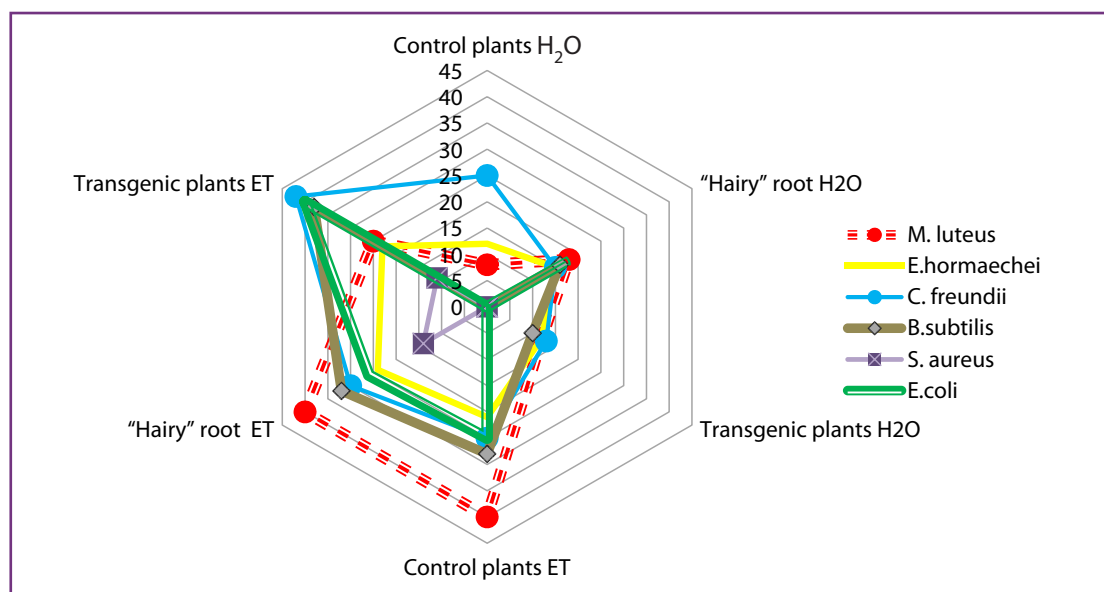


Figure 1 Zones of inhibition of microorganisms growth depending on the type of extract (water and ethanol) of *Ruta graveolens* L. control plants, transgenic plants, and "hairy" root culture

We did not find the significant difference in antimicrobial activity in an extract of "hairy" root culture and transgenic plants with the exception of the effect of the water extract on *Staphylococcus aureus*. It must be noted that only ethanol extract of transgenic *Ruta graveolens* plants inhibited a growth of *Staphylococcus aureus*.

One of the practical problems is a study of changes of antimicrobial activity after *Agrobacterium*-mediated transformation of plants. It was shown that in some cases the extracts from the transgenic plants demonstrated antimicrobial activity nonrelevant for the mother plants. For example, water extracts from the control plants were not active against *Rhodococcus erythropolis*, but water extracts from transgenic plants inhibited a growth of these bacteria. In addition, ethanol extract from the transgenic plants demonstrated greater antimicrobial activity against *Rhodococcus erythropolis* than the extract from the control plants.

Thus as it shown at Figure 1, the ethanol extracts demonstrated higher antimicrobial activity than the water one. This kind of extracts from "hairy" root culture and transgenic *Ruta graveolens* plants more effectively inhibited grows of microorganisms than ethanol extracts from the control plants.

Table 1 The diameter of the inhibition zones (mm) of microorganisms growth by extracts of *Ruta graveolens* L.

Strain	Extracts of <i>Ruta graveolens</i>					
	control plants		"hairy" roots		transgenic plants	
	H ₂ O*	ET**	H ₂ O	ET	H ₂ O	ET
<i>Micrococcus luteus</i>	8	40	18	40	12	25
<i>Enterobacter hormaechei</i>	12	21	15	24	12	23
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Kocuria carniphila</i>	25	25	15	30	13	42
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0	28	16	32	10	38
<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	0	14	0	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	25	17	26	0	40
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	0	0	0	0

* water extract; ** ethanol extract

As the control, we used discs with antibiotics. The studied microorganisms were mostly sensitive to such antibiotics as Ciprofloxacin, Rifampicin, Furagin (Figure 2).

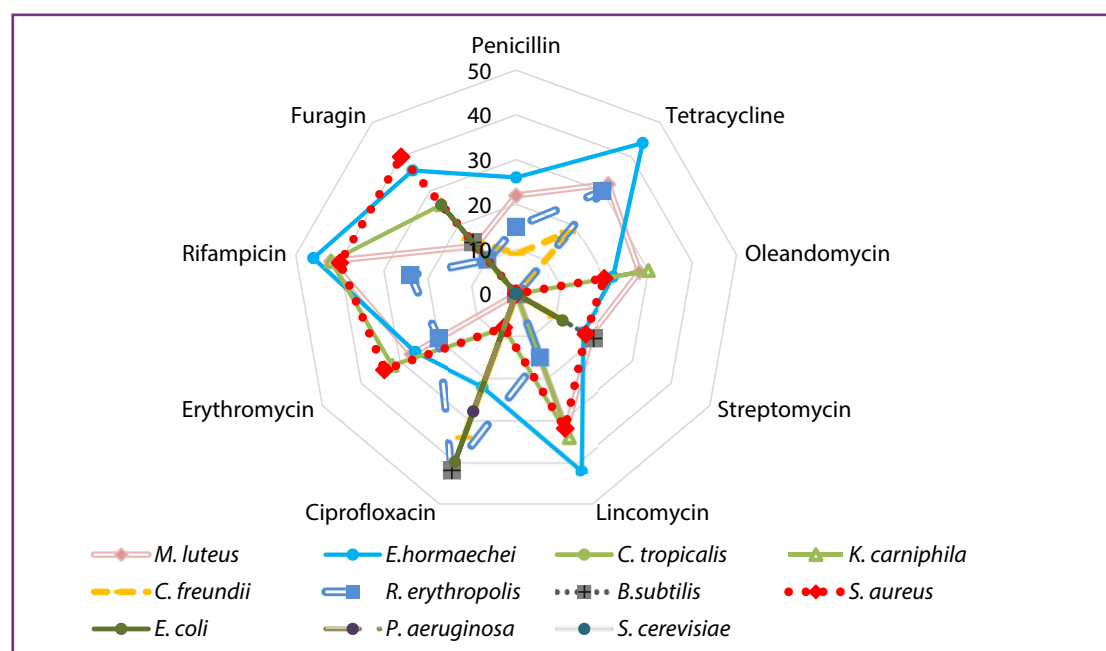


Figure 2 Zones of inhibition of microorganisms growth depending on using of different antibiotics

Conclusion

It was shown that genetic transformation has led to the changes in *Ruta graveolens* antimicrobial activity. These effects resulted in an increasing of the activity against some Gram+microorganisms. At the same time, both water and ethanol extracts from transgenic roots and plants and the extracts from the control plants did not inhibit grows of Gram-negative microorganisms and yeasts.

References

- Amabye, T.G., Shalkh, T.M. 2015. Phytochemical Screening and Evaluation of Antibacterial Activity of *Ruta graveolens* L. – A Medicinal Plant Grown around Mekelle, Tigray, Ethiopia. *Nat Prod Chem Res.*, vol. 3, no. 6, p. 195. DOI: [10.4172/23296836.1000195](https://doi.org/10.4172/23296836.1000195)
- Asgarpanah, J., Khoshkam, R. 2012. Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. *J. of Med. Plants Res.*, vol. 6, no. 23, p. 3942–3949. DOI: [10.5897/JMPR12.040](https://doi.org/10.5897/JMPR12.040)
- Fadlalla, K., Watson, A., Yehualaeshet, T. et al. 2011. *Ruta graveolens* extract induces DNA damage pathways and blocks Akt activation to inhibit cancer cell proliferation and survival. *Anticancer Res*, vol. 31, p. 233–241.
- Ivanova, A., Mikhova, B., Najdenski, H., Tsvetkova, I. 2005. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*. *Fitoterapia*, vol. 76, p. 344–347. DOI: [10.1016/j.fitote.2005.02.008](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.02.008)
- Kuzovkina, I., Schneider, B. 2006. Genetically transformed root cultures – generation, properties and application in plant sciences. *Progress in Botany*, vol. 67, p. 275–314.
- Matvieieva, N., Gladka, G., Govorukha, V., Prekrasna, Ie., Suslova, O., Tashyrev, O. 2015. Antimicrobial activity of extracts from *Ruta graveolens* L. “hairy” roots. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. Part II*, p. 468–470.
- Matvieieva, N., Shakhovsky, A. 2017. Regeneration of *Ruta graveolens* Transgenic Plants. *Ekin J.*, vol. 3, no. 1, p. 66–71.
- Melnyk, M.V., Grytsyk, A.R. 2015. Research of component composition of *Ruta graveolens* L. herb essential oil. *The Pharma Innovation Journal*, vol. 4, no. 2, p. 36–38. ISSN 2277- 7695.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, vol. 15, no. 3, p. 473–497. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)
- Pandey, P., Mehta, A., Hajra, S. 2011. Evaluation of Antimicrobial Activity of *Ruta graveolens* Stem Extracts by Disc Diffusion Method. *J. of Phyt.*, vol. 3, no. 3, p. 92–95. ISSN 2075-6240.
- Saeidinia, A., Keihanian, F., Fallah Delavar, S., Keihanian, F. Ranjbar, A., Fallah Karkan, M. 2016. Lack of antibacterial activity of *Ruta graveolens* extracts against *Enterococcus faecalis*. *Pak. J. Pharm. Sci.*, vol. 29, no. 4, p. 1371–1374.



DEVELOPMENT AND TESTING OF THE TECHNOLOGY OF PRODUCTION OF THE BEEBREAD WITH THE USE OF ARTIFICIAL COMBS

Brovarskyi Valerii¹, Velychko Serhii¹, Brindza Jan², Adamchuk Leonora^{1*}

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 24. 11. 2017

Until recently, the main mass of beebread was lost in the process of melting raw and used as material and only its minor portion was used by beekeepers for their own needs. This was mostly due to considerable time to remove beebread from combs as well as bad preservation in the condition of normal environment. However, nowadays with the increase in demand for this kind of product of beekeeping, scientists and practitioners are interested in the development of the technologies of beebread production. The aim of our work was to develop new technological equipment for bee bread production of using artificial comb. Research and construction equipment and its testing were conducted during 2011–2016. The bases of scientific research were “Research Apiary of Holosiievo” of the Department of Horse-Breeding and Beekeeping of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine) and Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety of the Slovak University of Agriculture in Nitra (Slovak Republic). Approval of new industrial technology was carried out on bee-farms of different forms of ownership in Ukraine. Currently, this technology is patented (no. UA71320) and used by beekeepers in Ukraine. The plastic cartridges were developed, which with the help of holders can be easily connected to each other and forming an artificial comb. One side of the comb is assembled from individual cartridges (435 × 300 mm, 300 × 435 mm, 435 × 230 mm), then a polyethylene Backlit membrane (PET) with the thickness of 0.36 mm is put over and serves as a partition. Then the second side is put over the membrane. The cartridges assembled into the comb are connected to each other with holders. Such comb after filling bee pollen is put into the bee family nest to obtain the beebread. After the comb gets filled with beebread, it is removed from the hive, then the cartridges are separated and the content of the cells is ejected. After ripening of the bee bread for two weeks, comb removed from the hive, the cartridges are then separated and the content of the cells is ejected. We were also designed and constructed manual and mechanized device for bee pollen compression and beebread removing.

Keywords: beebread; artificial comb; production technology; manual and mechanized device

Introduction

Until recently, the main mass of beebread was lost in the process of melting raw and used as material and only its minor portion was used by beekeepers for their own needs. This was mostly due to considerable time to remove beebread from combs as well as bad preservation in the condition of normal environment. However, nowadays with the increase in demand for this kind of product of beekeeping, scientists and practitioners are interested in the development of the technologies of beebread production.

***Corresponding author:** Leonora Adamchuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ leonora.adamchuk@gmail.com

During the planning of obtaining the beebread, first of all the favorable conditions are organized for bees to prepare it (Бабич і Мерець, 1979; Броварський і Барій, 1995; Поліщук і Акумова, 1998; Brovarski et al., 2010; Величко, 2015).

Thus, in the radius of productive flight, bees have to be provided with sufficient number of protein feed sources, i.e. the flowering of polliniferous plants those produce highly-nutritional pollen (Таранов, 1986; Богомолов, 2012; Боярчук, 2015). It has been proved, that pollen-giving bees more intensively prepare bee pollen from plants, which produce pollen of a high nutritious value. Apart from that, the optimal conditions for the development of bee family are created (Жоржускене и Кждзяускене, 1990; Балабушка, 2010; Brovarski et al., 2010; Brindza et al., 2013, 2015; Nikolaieva et al., 2014; Redina et al., 2016). Thus, it is necessary for a bee family to be strong, to have a big amount of brood and a young queen bee (Броварський і Барій, 1995; Гречка, 2011; Прибылова и Иванов, 2011).

V. F. Nekrashevych, R. A. Mamonov, T. V. Torzhenova (Приймак, 2008) recommend to harvest beebread combs in the next periods of the year: during the spring inspection of bee families, when bees start to intensively gather the bee pollen (the old beebread combs can be ejected from the bee hive without dealing harm to the family); during the summer period under certain provision conditions the combs with fully sealed beebread cells are collected; during the autumn period with the formation of nests for families before winter. Then the general method of beebread combs preparation is used. The empty dark-brown and dark combs, which are not affected by illnesses and wax moth, are previously prepared. They are placed in the middle of the bee nest directly behind the combs with brood. They are separated by separating netting for restriction of queen bee's egg-laying. A few days later the comb will be filled with bee pollen. After the bees have sealed the bee pollen with honey, the comb can be moved to another part of the nest, and the new comb can be set on its place for the preparation of the next portion of beebread. During this procedure, it is obligatory to watch if the queen bee has enough space to lay eggs. The disadvantage of this method is a considerable time spending, which causes high cost of the product, as well as the regular intrusion into the work of bee family.

It is known that the beebread reserve of the bee family is created during first half of summer (Івченко, 2002a). Practical experience shows that it is not hard to create a stock of 2–3 beebread combs for each bee family. However, the technological operations of this process depend on the bee management system and the type of the hive. Thus, the general method is used in long hives: the separating netting is placed directly behind the frames with brood and dark-brown comb right next to the netting. After the comb gets filled with beebread, it is replaced with an empty one. If the pollen harvesting falls on the period of intensive spring development of families (May – early June), separating netting and combs for beebread are moved aside to unrestrict the space, which is necessary for breeding.

Practice shows (Таранов, 1986; Бугера, 2001; Івченко, 2002b; Броварський та ін., 2009, 2013) that in double-body and skyscraper hives it is better to accumulate beebread on the hindmost combs of lower case. During the period of intense bee pollen harvesting, the filled combs are ejected and replaced with empty ones. The combs filled with beebread that was removed from beehives are preserved in closed cool room. Before collecting honey they are placed into another case with strong family or into the long hive aside for bees to add honey into beebread cells and seal them. If the second case is not removed from the hive until middle September, bees fill the low-on-honey combs of the lower case with beebread.

The empty combs in lower case stimulate bees to gather pollen. In case of late honey harvesting, strong families are recommended to be moved to other cases, which all the combs from lower case are moved in. The low-on-honey combs are placed into the lower case. There can be also placed

special constructional combs for this reason at the end of honey gathering. In these frames bees put bee pollen. After the end of pollen harvesting the frames with beebread are moved to stock (Івченко і Левченко, 2003).

Beebread as well as honey-and-beebread combs are better preserved in closed cool apartment, where the temperature doesn't fall below 0°C. Frozen beebread that was preserved outside the nest of bee family loses a big part of its valuable properties, however such beebread are still consumable for bees. The combs with beebread from constructional frames can be used for feeding bees in spring. Thus, parts with beebread are cut out, put into container for conservation and poured up with honey. In the spring the mixture is combined with warm water, mashed to get a doughy mass, which is fed to bees. For trading, beebread is obtained in combs or in pure form. The first method has a number of disadvantages: strictly determined temperature mode of conservation, limited range of determined humidity, the necessity of protection from wax moth (Кривцов и Лебедев, 1996; Лебедев, 2001; Приймак, 2008).

That is why most specialists prefer obtaining beebread in pure form. Until recently, two main methods of obtaining the beebread have been widely used: with either full or partial filtering of granules from wax fraction. Both methods include the preparation of beebread within the apiary.

Practitioner recommends to use light, light-brown and brown combs which are almost entirely filled with beebread (Мулявко, 2001). It is not advised to select the cells with pollen those are not completely fermented. It is determined by the visual inspection of beebread cells. In the process of ejection the beebread cells it is not only important to destroy the wax basis of the comb but also to remove its wax shell keeping it unharmed. For this purpose, the most suitable equipment is shredder that has the pins of cylindrical shape as working bodies.

Scientists had developed a special sieving mechanism that allows compressing the beebread cells and destroying their wax shell during the processing of beebread combs. Such method allows excluding the use of machine for separating of the ground wax-beebread mass into fractions from the previously proposed technology (Некрашевич и др., 1988). The beebread can be completely removed from the bee comb with the help of special equipment (Бышов и Каширин, 2012; Некрашевич и др., 2014, 2015a; Мамонов и др., 2016).

Scientists are convinced that the use of proposed method of grinding beebread combs and pneumatic separation with the airflow speed from 7.8 to 8.1 m/s allows ejecting no less than 97% of beebread with the content of wax impurities no more than 2% and output of unharmed beebread granules no less than 80% (Приймак, 2008). It is important that the beebread in combs is ripened. The term of its preservation and affection by pathogenic microorganisms depends on the ripeness of beebread. It has been established that ripened beebread has slightly moistened surface of brown colour. The beebread that has not been fermented has a faint surface and is lighter in colour. The prepared combs are preserved in frameworks in special refrigerator units, where the temperature is sustained between 6 and 8 °C. In such conditions beebread combs can be conserved for no less than a year. It is very comfortable to prepare beebread during the honey pumping period because it is expedient to remove honey from the beebread combs before conservation.

The researchers propose a few technologies for removing of beebread from the bee combs (Таранов, 1986; Жоржускене и Кждзяускене, 1990; Кирьянов и Русакова, 1998; Приймак, 2008).

Obtaining the beebread with soaking of combs. This technology is based on the soaking of the comb in the water during the day for its further centrifugation. Then obtained solution of beebread

is filtered in water from mechanical impurities. After precipitation the water is poured away and wet beebread is dried in specialized lockers. The beebread obtained in such way loses 60% of its properties and does not have much value in apitherapy, though it can be used as a feed for bees as well as in cosmetology, alcohol and food production

Vacuum technology. This technology consists of drying of beebread in the combs and ejecting it using vacuum. The disadvantages of vacuum technology are the low productivity and the necessity in specialize vacuum units of drying lockers of high price. This technology is not used in Ukraine.

Air filtering technology. The technology of obtaining the beebread in the air lockers features the next operations: beebread combs are dried; cooled; the comb is ejected from the frame and the wire is removed; the comb is grinded on special mills. The obtained mass is ventilated in special air lockers, thus cleaning the beebread from wax. The use of this technology is characterized with the big labor costs, which is not profitable in terms of industrial conditions of production.

Freezing of beebread combs. The only difference between the freezing technology and previous one is that the drying and cooling phases are replaced with freezing of the comb. The disadvantage of this technology is that the beebread loses its biological value as a result of using low temperatures. The use of any of mentioned technologies expect observance of the next requirements: in the process of preparing its necessary to remove honey and nectar if present; selected combs must not have any signs of mold or wax moth; drying of the combs or in pure form is conducted at the temperature no higher than 42 °C; the humidity of dried beebread has to be no more than 14–15%; cooling of beebread expects its placement into refrigerator under the temperature of 0 ± 2 °C for 30–50 minutes; air ventilation has to be at the speed of 7.8–8.1 m/s (this contributes to decrease of wax impurities in beebread up to 2%).

V.P. Dombrovskyi in 2013 proposed his own developed **technology with the use of multifunctional collapsible comb** for obtaining beebread. It consists of many plates connected on the ends that have double sided semi cells with bottoms disposed in staggered order (Осташевський, 2006). The disadvantage of this technology is a big number of components, which complicate assembling and disassembling of the comb as well as disables the process of mechanized ejecting of beebread (Броварський та ін., 2015).

G.M. Pryjmak (2008) suggests using **mechanical technology** for obtaining beebread. It includes the next operations: drying raw product (in combs) at the temperature of 40 °C during 10–18 hours until the humidity is 14–15%; cooling of dried product to the negative temperature (-3 °C) and grinding the beebread combs with rollers with the spacing of 4.9–5.0 mm between them; screening and airing of the grinded material with the machine for seeds refinement with the netting diameter of 2.6 mm; disinfection of beebread with gamma radiation or mixture of ethylene oxide and bromomethane; packing the beebread into glass jars or polyethylene packets. The shelf life of such beebread is 1 year. The scientists described the technological line for extraction of beebread and the equipment included in it, the technical characteristics of the machines are presented (Некрашевич, 2007; Гайбарян и др. 2011; Некрашевич и др. 2012, 2015b). In conclusion, the known technologies of the production of beebread allow obtaining this product in the conditions of household and industrial apiaries. It has been established technological parameters of preparation of the raw material (combs) and preprocessing of obtained product. The methods of conserving the beebread as a biologically active product need the further improvement. Therefore, the aim of our work was to develop new technological equipment for bee bread production of using artificial comb.

Materials and methodology

Scientific issues that were set up during the research have been solved experimentally, using the next methods of research: zootechnical (setting experiments, pollen productivity of bee families, ethological observation of bees working, general observation), construction (development and production of the set of equipment) and analytical (literature review, analysis and generalization of the results of research).

Research, construction equipment and his tests were conducted during 2011–2016. Scientific research base were “Research Apiary of Holosiievo” of the Department of Horse-Breeding and Beekeeping of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine) and Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety of the Slovak University of Agriculture in Nitra (Slovak Republic). Approval of new industrial technology was carried out on bee-farms of different forms of ownership in Ukraine. Currently, technology is patented (no. UA71320) and used by beekeepers in Ukraine.

Results and discussion

Equipment for obtaining beebread. For obtaining of the beebread using industrial method, composite authors have given up the use of bee combs and set a target to construct a comb for beebread production that would allow us to increase productivity and mechanize the process of ejecting the prepared product in the industrial technology of beebread production. In order to achieve this, there were developed plastic cartridges (Figure 1a), which with the help of holders can be easily connected to each other. One side of the comb is assembled from individual cartridges (435 × 300 mm, 300 × 435 mm, 435 × 230 mm), then a polyethylene Backlit membrane (PET) with the thickness of 0.36 mm is put over and serves as a partition.

Then the second side is put over the membrane. The cartridges assembled into the comb are connected to each other with holders. Such comb is put into the bee family nest to obtained beebread. After the comb gets filled with beebread, it is removed from the hive, the cartridges are then separated and the content of the cells is ejected. This artificial comb has a set of advantages comparing to the prototype. It allows simplification of the construction, mechanization of the process of ejecting the beebread and prevents most of its damage and pollution with mechanical impurities. For ramming of bee pollen and ejecting the beebread from the cells of cartridges, it was developed special equipment, shown on the Figure 1b.

The device for ramming of the bee pollen and ejecting beebread from the cells of the cartridges of artificial comb consists of the frame, made of stainless steel, on which there are independently moving eliminators of cylindrical form allocated in staggered rows (275 pieces), with a spring of the 30 mm longwise an 5 mm in diameter, placed under each of them. The whole mechanism is covered with a lid that has a fixed handle on it. The manual press for removing of the beebread from the cells of the cartridges of artificial comb is constructed in the next way. The slipper of the press that is performed with possibility of vertical rectilinear movement is connected with a puncheon, equipped with a big amount of pistons, allocated like the cells in the comb. Each piston is equipped with a spring with a gentle elastic rating with a possibility of rectilinear movement in the direction that is parallel to the movement direction of the puncheon. In the unloaded state the pistons have to be on the maximum extension. To the base of the press it is connected the holder for the cartridge of the artificial comb.

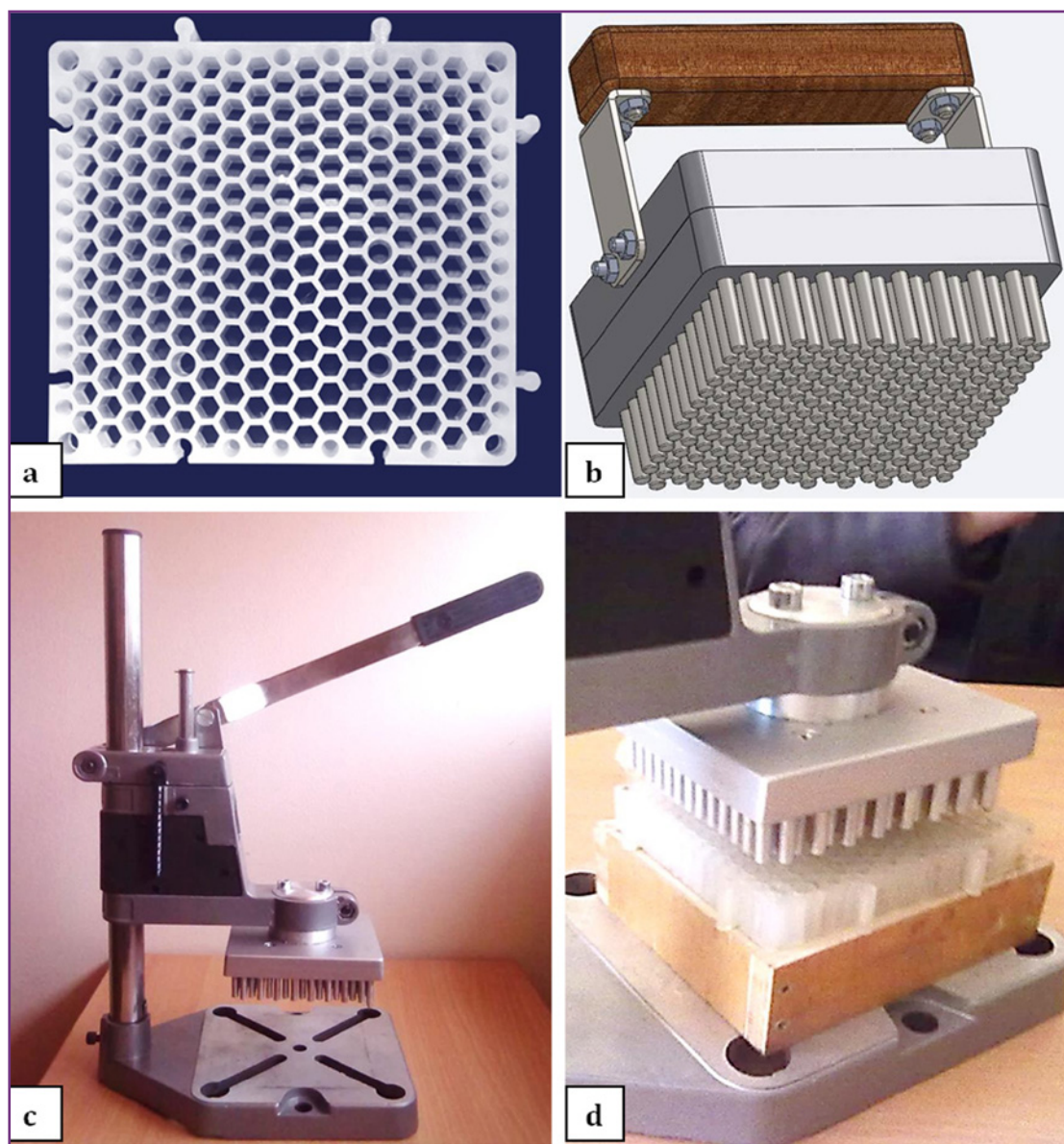


Figure 1 Equipment for beebread industrial technology
a – cartridge; b – manual device for bee pollen compression and beebread removing; c – mechanized device for bee pollen compression and beebread removing; d – cartridge in mechanized device

On the holder there can be fixed one or several connected to each other cartridges. The holder is performed in such a way that it doesn't block the access to the cells of artificial comb, and it is also equipped with a container for the collection of the prepared product. The holder also provides the matching of the axis of cells of the comb with an axis of pistons. It is important to pay attention if the extension of the piston in an unloaded state was equal or bigger than the depth of the cell. That is distance from the surface of the comb to the partition membrane. For ramming, the cartridges connected to each other are fixed horizontally in the holder and filled with bee pollen. Then the

puncheon is moved down. Thus pistons ram the bee pollen with the force depending on the deformation of springs.

After that the puncheon is returned to the starting position. In the process of removing beebread, an individual cartridge is fixed in the holder. Then the puncheon is moved down. Thus, the finished product is removed by pistons into the container. The cartridges free from beebread are later connected to each other and assembled into the comb, which is completed with a partition membrane and used for obtaining the next portion of beebread.

Industrial technology of obtaining beebread. For obtaining of the beebread it is organized the receiving of fresh bee pollen with the help of pollen raps during the first half of spring-summer period, when most polliniferous plants are flowering. In Ukraine it is possible to start gathering the pollen from the middle of May. When the bee families gain the strength of 6–8 bee spaces and have the sufficient (no less than 4–5 kg) feed supply, the hives are equipped with pollen trap with disabled pollen nettings. Very strong families are not recommended to use for pollen gathering as there may happen the violation of flying activity of bees, which precipitates the swarming activation. During the use of pollen trap, the flying appearance and shape changes, which bees have to get used to during first 3–5 days of harvesting campaign. During this period there can be some accumulation or even massive number of bee flying out from the entrance of the hive. After some time though, they gradually begin to fly through the apertures in the netting to the nest and condition returns to normal. After the preparing period, pollen gathering nettings are enabled during all the period of obtaining beebread. Periodic temporary disabling of the nettings during the afternoon when the bees suddenly decrease the amount of gathered pollen is objectionable, as this complicates the activity of the family even more than if the netting is constantly enabled. The short-term periods of bee pollen preparing interchanged with disabling pollen traps, especially when they are removed, are also unwanted. During the period of swarming or insemination flight of the queen, the pollen traps are disabled. A part of pollen, gathered by bees (30–40% on average) reaches the tray of the pollen trap it is removed from the tray every evening. The prolonged stay of the bee pollen in the tray is objectionable, as it can absorb the moisture or get affected by microorganisms, which leads to the spoilage or decrease in quality of the bee pollen. There can be gathered from 100 to 300 g of bee pollen from pollen trap every day.

The harvested bee pollen is cleaned from litter and used for beebread production. Further, to obtain the beebread, the artificial comb is prepared (Figure 2), which is placed horizontally on the bottom of the sheet pan and pour the gathered bee pollen onto the whole surface of the cells. Then the bee pollen is evened with a brush and remains are swept onto the sheet pan. The bee pollen is then rammed with a press. Then the comb is turned over and the same operations are conducted from the other side. After ramming, the bee pollen is poured again on the same side of the comb. It is evened on the surface of the comb and rammed, the comb is turned over and the procedure is repeated on the other side. To fill the cells of each side of the comb, it is spent about 600 g of bee pollen. After that, the surface of both sides is greased with liquid honey (or water solution of honey).

The comb is later returned to the nest of bee family, which occupies no more than 6 bee spaces. It is not reasonable to use strong families for obtaining beebread because the bees in such families will intensively use the protein feed placed in the comb to feed the brood. The artificial comb is placed next to the last in the nest, which is right after the covering frame (Figure 3). It is left in the nest for 2–3 days – until the appearance of glitter on the feed.

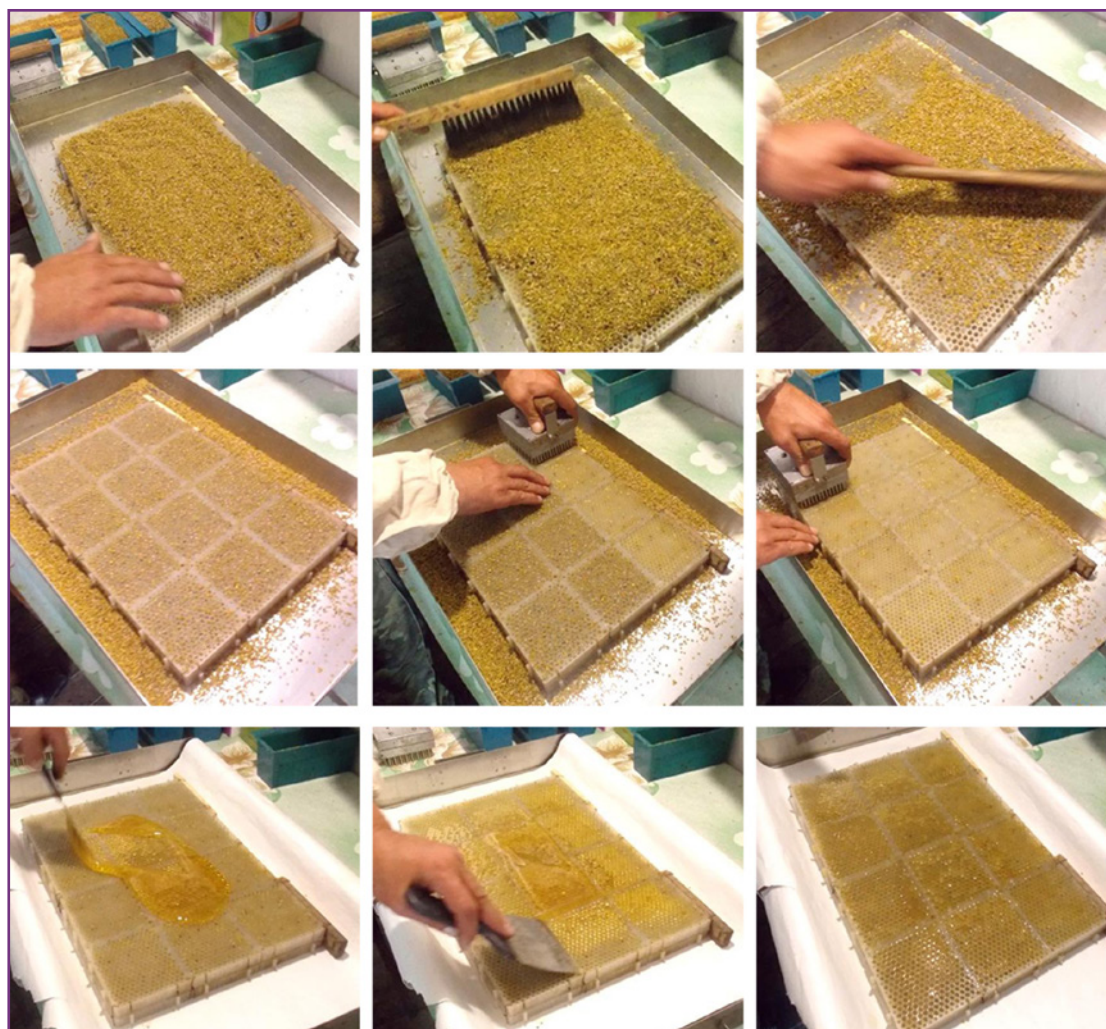


Figure 2 Process of filling the comb with the fresh bee pollen and honey

If the bees do not consume the feed, the frame is left in the nest for 14 days until the beebread is ripened. If otherwise the bees consume protein feed, the comb is removed from the nest. For ripening of the beebread the incubator family is used. To provide the ripening of the beebread the strong family with 14–15 more bee spaces is used. The ceiling (heat insulation) is removed from the nest frames, the ventilation netting is put over the top and install the empty case where the artificial combs are placed for the further ripening of the beebread. This case is necessary to be well provided with heat insulation. To prevent the consumption of protein feed, it is possible to place the comb into the netted isolator.

According to the second method, in the comb during the first and following coverings the small amount of pollen is used. It is strewn in such a way so that each cell got from 3 to 5 pollen lumps, which are rammed with a press. Further, from 3 to 5 pollen lumps are added to the cells, where the bees ate him. Then the pollen is rammed again. During 6–8 days the bees fill the cells with beebread. After that, the combs are conserved in the bee families' nests the same way as in the previous method.

The comb is then left in the nest for 10 days. During this period of time the beebread goes through the fermentation process. Thus, the comb is entirely filled with beebread after the 4th of ramming the bee pollen. However, the disadvantage of this method is a significant labor spent on the execution of the operations of refilling the cells with bee pollen.



Figure 3 Placement of artificial comb in the nest of bee family

After ripening of the beebread the artificial combs are removed from the nests (Figure 4). The cartridges are separated and with the help of mechanized device for bee pollen compression and beebread removing, equipped with a tray for beebread, the beebread is removed from the cells. The cartridges are then connected to each other, the comb is assemble and again used for obtaining beebread.

The technical solution of this technology is that mechanical ramming of beebread in the cells contributes into the increase of beebread density and with the use of artificial comb from biologically inactive material decrease the chance of wax and other impurities in it. The productivity of such method increases due to the absence of the necessity in thermal (steam generator, refrigerator etc.) and pneumatic (vacuum machine, compressor etc.) equipment, and this, in the absence of moisture and temperature drops influence, contributes into the increase of the quality of the obtained beebread.

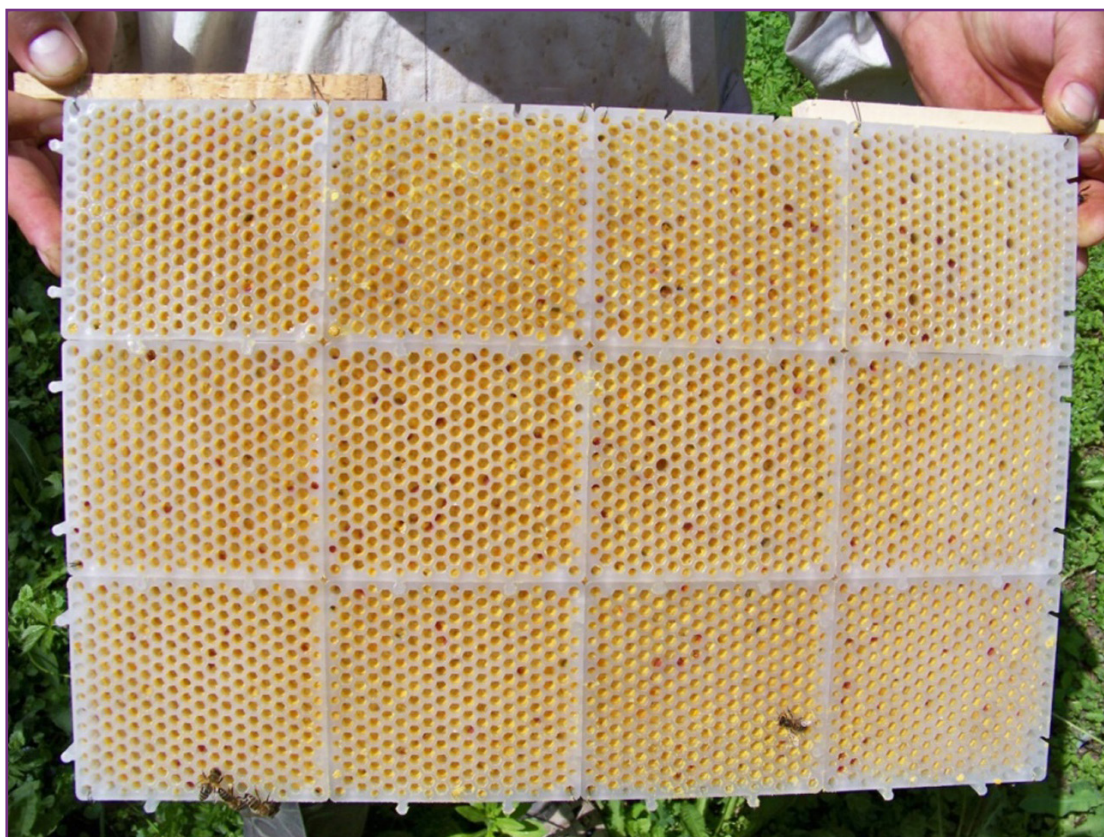


Figure 4 Artificial comb with beebread after maturation

Conclusion

For the first time the industrial technology of beebread production was developed. Equipment has been designed for the production of beebread, the main element of which is an artificial comb. The optimum technological conditions are determined and a state of the bee family for the production of bee bread.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» TRIVE (ITMS 26110230085) and within the project ITEBIO (ITMS 26220220115).

References

- Brindza, J., Brovarskyi V. 2013. *Pollen and bee pollen of some plant species*. Kyiv, Korsunskiy vidavnychiy dim «Vsesvit», 137 p.
- Brindza, J., Schubertova, Z., Brovarskyi, V., Motyleva, S., Mertvischeva, M., Grygorieva O. 2015. Morphological characteristics of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) pollen grains and bee pollen. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія*

Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва, вип. 223, с. 17–24. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2015_223_4

Brovarskij, V., Brindza, J. a i. 2010. *Včelí obnôžkový peř*. Vydavatel'stvo – Kyjev – Nitra, FOP I. S. Maidachenko, 288 p.

Nikolaieva, N.V., Grygorieva, O.V., Brindza, J., Garkava, K.G., Klymenko, S.V. 2014. Morphological features of pollen *Corylus avellana* L. and *Castanea sativa* Mill. as indicator of environmental changes. *Плодоводство и ягодоводство России: сборник научных работ*, том XXXX, часть 1, с. 232–238.

Redina, N.M., Adamchuk, L.O., Nikolaieva, N.V., Brindza, J. 2016. Morphological characteristics of bee pollen obtained from *Brassica napus* L. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Жицького*, т. 18, № 2–3, (68), с. 73–78. <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/728/727>

Бабиц, І.А., Мегедь, О.Г. 1979. *Бджільництво*. Видавництво – Київ, Урожай, 248 с.

Балабушка, В.К. 2010. *Трав'янисті медоноси та пилконоси України: весняні*. Видавництво – Київ, Дім, сад, город, 76 с.

Богомолов, К.В. 2012. *Атлас медоносов пчеловода-практика: справочное издание*. Издательство – Рязанская областная типография, 80 с.

Боярчук, С.В. 2015. Оптимізація забезпечення кормами бджолиних сімей. *Науковий вісник НУБіП України*, вип. 223, с. 57–64.

Броварський, В., Бріндза, Я., Адамчук, Л., Величко, С., Колеснік, А. 2015. *Промислова технологія виробництва перги: методичні рекомендації*. Видавництво – Київ, НУБіП України, 27 с.

Броварський, В.Д., Багрій, І.Г. 1995. *Розведення та утримання бджіл*. Видавництво – Київ, Урожай, 223 с.

Броварський, В.Д., Бріндза, Я., Колесник, А.І., Величко, С.М. (2013). Біохімічні процеси в перзі за різних умов обробки та тривалого зберігання. Матеріали *Міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції «Вода і здоров'я людини»*. Видавництво – Ужгород, Патент, с. 232–235.

Броварський, В.Д., Головецький, І.І., Лосев, О.М., Величко, С.М., Адамчук, Л.О., Степанюк, М.М. 2009. *Бджолине обніжжя, виробництво та зберігання*. Монографія. Видавництво – Київ, ФОП І.С. Майданченко, 76 с.

Бугера, С.І. 2001. Заготівля та використання стільників з пергою. *Пасіка*, № 8, с. 18.

Бышов, Н.В., Каширин, Д.Е. 2012. Обоснование рациональных параметров измельчителя перговых сотов. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*, вып. 6, с. 134–138. <https://elibrary.ru/item.asp?id=17806106>

Величко, С.М. 2015. Формування запасів перги у гніздах бджолиних сімей. *Науковий вісник НУБіП України*, вип. 223, с. 81–85.

Гайбарян, М.А., Мишаков, А.А., Гущина И.В. 2011. Технология и оборудование для производства перги. *Проблемы механизации агрохимического обеспечения сельского хозяйства*, с. 79–86. <https://elibrary.ru/item.asp?id=17548447>

Гречка, Г.М. 2011. Сучасний медозбір і його використання бджолиними сім'ями. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, № 3, с. 63–67. <http://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/visnyk/2011/03/63.pdf>

Державна Служба Інтелектуальної Власності України. *Штучний стільник для виробництва перги*. Власники патенту: Броварський, В., Величко, С., Бріндза Я. Україна. Номер патенту. UA71320. 2012-07-10. <http://uapatents.com/4-71320-shtuchnij-stilnik-dlya-virobnictva-pergi.html>

Жоржускене, А.Э., Кждзяускене, К.В. 1990. Что мы знаем о перге? *Пчеловодство*, № 7, с. 30–33.

Івченко, В.М. 2002b. Топографія перги в сім'ї медоносної бджоли. *Український пасічник*, № 1, с. 4–7.

Івченко, В.М., Левченко, І.О. 2003. Стимули, які спонукають бджіл-збиральниць пилку до відкладання обніжжя в чарунки щільників. *Український пасічник*, № 8, с. 2–3.

- Івченко, В.Ма. 2002. Розміщення білкового корму в гнізді медоносної бджоли. *Бджільництво*. Видавництво – Київ, Аграрна наука, с. 45–48.
- Кирьянов, Ю.Н., Русакова, Т.М. 1998. *Технология производства и стандартизация продуктов пчеловодства*. Издательство – Москва, Колос, 160 с.
- Кривцов, Н.И., Лебедев, В.И. 1996. *Продукты пчеловодства*. Издательство – Москва, Нива России, 253 с.
- Лебедев В.И. 2001. Биологический потенциал пчелиной семьи по сбору пыльцы и заготовке перги. *Итоги и проблемы НИР в пчеловодстве*, с. 60–63.
- Мамонов Р.А., Торженкова Т.В., Хмыров В.Д. 2016. Механизация и экономические аспекты промышленного производства перги. *Инновационное развитие современного агропромышленного комплекса России*, с. 128–131. <https://elibrary.ru/item.asp?id=29219268>
- Мулявко, Н. О. 2001. Бджолиний хліб. *Пасіка*, №5, с. 24–25.
- Некрашевич, В.Ф. 2007. Механизированная линия для промышленной заготовки перги. Современные направления научно-технического прогресса в пчеловодстве, 311а. <https://elibrary.ru/item.asp?id=28923989>
- Некрашевич, В.Ф., Мамонов, Р.А., Буренин, К.В., Карачун, И.Ф. 2014. Исследование процесса измельчения перговых сотов в агрегате АИП-30. *Современные энерго-и ресурсосберегающие, экологически устойчивые технологии и системы сельскохозяйственного производства*, с. 131–134. <https://elibrary.ru/item.asp?id=25103259>.
- Некрашевич, В.Ф., Мамонов, Р.А., Буренин, К.В., Карачун, И.Ф. 2015а. Исследование процесса измельчения перговых сотов в агрегате АИП-30. *Материалы онлайн-конференции, посвященной Дню российской науки*, с. 111–113. <https://elibrary.ru/item.asp?id=29115953>
- Некрашевич, В.Ф., Мамонов, Р.А., Буренина, Е.И., Буренин, К.В., Миронов, В.В. 2016. Средства механизации измельчения пчелиных сотов. *Инновационное развитие современного агропромышленного комплекса России*, с. 157–162. <https://elibrary.ru/item.asp?id=29219565>
- Некрашевич, В.Ф., Мамонов, Р.А., Коваленко, М.В., Нагаев, Н.Б., Буренин, К.В., Буренина, Е.И. 2015b. Технологическая линия извлечения перги. *Пчеловодство*, № 9, с. 56–59. <https://elibrary.ru/item.asp?id=25100073>.
- Некрашевич, В.Ф., Мамонов, Р.А., Чепик, А.Г., Торженкова, Т.В., Коваленко, М.В. 2012. Перга: технология, оборудование и экономические аспекты её производства. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*, с. 139–143. <https://cyberleninka.ru/article/n/perga-tehnologiya-oborudovanie-i-ekonomicheskie-aspekty-eyo-proizvodstva>
- Некрашевич, В.Ф., Стройков, С.А., Бронников, В.И. 1988. Извлечение перги из сотов. *Пчеловодство*, № 10, с. 29–30.
- Осташевський, М. 2006. Технології від Домбровського. *Український пасічник*, №11, с. 37.
- Поліщук, В.П. Акумова, М.М. 1998. Удосконалення сушіння і зберігання квіткового пилку. *Бджільництво*, № 23, с. 208–212.
- Прибылова, Е.П., Иванов, Е.С. 2011. Оценка нектаропродуктивности видов растений и травянистых экосистем Рязанской области. *Вестник Российского университета дружбы народов*, № 2, с. 16–21. <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-nektaroproduktivnosti-vidov-rasteniy-i-travyanistykh-ekosistem-ryazanskoy-oblasti>.
- Приймак, Г.М. 2008. *Бджоловедение. Настільна книга бджоляра*. Видавництво – Київ, Альтерпрес, 638 с.
- Таранов, Г.Ф. 1986. *Корма и кормление пчел*. Издательство – Москва, Россельхозиздат, с. 160.



THE ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF THE VARIOUS EXTRACTS DERIVED FROM THE PSEDOBULBS OF *COELOGYNE SPECIOSA* (BLUME) LINDL. (ORCHIDACEAE) AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Buyun Lyudmyla^{1*}, Tkachenko Halyna², Osadowski Zbigniew²,
Kovalska Lyudmyla¹, Gyrenko Oleksandr¹

¹M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk, Poland

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 24. 11. 2017

The present study was conducted to investigate *in vitro* antimicrobial activity of various extracts obtained from pseudobulbs of an epiphytic orchid *Coelogyne speciosa* against *Staphylococcus aureus* strain (ATCC 25923), a clinically important microorganism responsible for many infections. The pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanical Garden (Kyiv, Ukraine). Antibacterial activities of the extract obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* in various solvent systems were assessed. Consequently, five kinds of solvents were used to extract the active ingredients from the pseudobulbs of *Coelogyne speciosa*. The testing of antibacterial activity of the plant extracts was carried out *in vitro* by Kirby-Bauer disc diffusion technique. The results revealed that ethanolic extracts from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* exhibited strong activity against *Staphylococcus aureus* (inhibition zone diameter was 19 mm), while methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane extracts had no antibacterial activities. Therefore, the research showed that ethanolic extracts obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* possess antibacterial potency against *S. aureus* and may be used as natural antiseptics and antimicrobial agents in medicine and veterinary practice. The antimicrobial effect exhibited by *Coelogyne speciosa* extracts is in agreement with previous data on antimicrobial effects documented for numerous orchid species. Given the medicinal importance of the tested microorganisms, the findings of this research are considered to be very promising in the perspective of new drug development from plant sources. Nevertheless, more research should be carried out to evaluate accurately the roles of particular compounds, isolated from pseudobulb of orchid screened, responsible for the antimicrobial activity.

Keywords: orchids; *Coelogyne speciosa*; pseudobulb; antimicrobial activity; Kirby-Bauer disc diffusion technique

Introduction

Over 50% of all modern drugs are of natural product origin and they play an important role in drug development programs for the pharmaceutical industry (Baker et al., 1995). Moreover, it is apparent that the significance of plant derived medicines has been increasing all over the world. Since Pérez Gutiérrez (2010) highlighted the importance of orchid species as a source of active compounds, interest in orchid properties has been growing. During last few decades many orchid species were

*Corresponding author: Lyudmyla Buyun, M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ buyun@nbg.kiev.ua

screened and a wide range of chemical compounds from medicinal orchids has been identified (Subedi, 2011).

Pseudobulbs are most commonly used parts of orchid plants to cure various disorders, followed by leaves, roots, tubers/rhizomes, and flowers. Major local uses include aphrodisiacs, energizers, and treatments of skin burns, fractured or dislocated bones (both of humans and cattle), headaches, fever, and wounds. Other uses include insect repellent, blood purifier, skin fungi, an antidote against snake bites and scorpion stings, inducement of abortions and recovery from child birth. Moreover, many species of Orchidaceae family also possess antimicrobial activity (Khan and Omoloso, 2004). Orchids are mainly used as paste, powder or juice, solely or mixed with milk, honey or wheat flour. Orchid extracts are either consumed orally or applied externally. Fresh orchid flowers are used to induce vomiting by exposure to a dominant foul smell. Local communities in India and Nepal also commonly eat freshly cut plant of *Coelogyne* species in the forest when they feel thirsty (Subedi, 2011).

Phytochemical studies in the genus *Coelogyne* revealed that these plants have a wide array of secondary compounds resulting in profound biological activity, antimicrobial, in particular (Pant, 2013; Sahaya Shibu et al., 2013).

Therefore, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the crude extracts obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* prepared in different solvent systems against *Staphylococcus aureus*, a clinically important microorganism responsible for many infections, to support the use of these extracts as novel natural products for compounded bacterial-treatment modalities. *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. belongs to the section Speciosae, distributed from mainland Southeast Asia (Thailand), all over Malesia to the islands in the Pacific Ocean (Gravendeel, 2000).

Materials and methodology

Collection of plant material

The pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanical Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine (Figure 1). Since 1999, the whole collection of tropical and subtropical plants (including orchids) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. Besides that, NBG collection of tropical orchids was registered at the Administrative Organ of CITES in Ukraine (Ministry of Environmental Protection, registration No. 6939/19/1-10 of 23 June 2004).

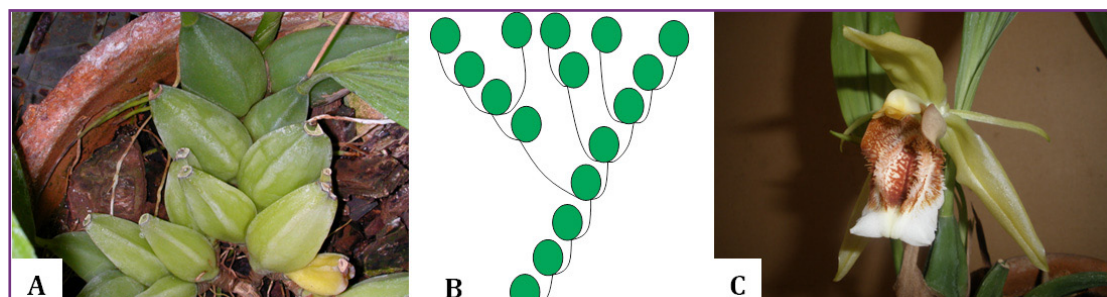


Figure 1 *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. plant cultivated at M.M. Gryshko National Botanical Garden glasshouses
A – an arrangement of pseudobulbs on the rhizome; B – branching pattern of shoot system; C – general view of flower

Pseudobulbs are ovoid and clustered on rhizome, obtusely 4-angled when young (Figure 1A). Synanthous inflorescences, characteristic feature for *Coelogyne speciosa*, are predominant in the section Speciosae: the inflorescence-bearing shoot has an immature pseudobulb hidden in the basal scales and the young leaf or leaves on top of this pseudobulb starts swelling and leaf or leaves fully develop (Gravendeel and de Vogel, 1999).

Laboratory work was carried out in the Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk (Poland).

Preparation of plant extracts

Freshly collected pseudobulbs were washed, weighted, crushed, and homogenized in 96% ethanol, methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane (in proportion 1 : 19) at room temperature. Consequently five kinds of solvent systems were used to extract the active ingredients from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa*.

Bacterial Growth Inhibition Test of Plant Extracts by the Disk Diffusion Method

Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion assay (Bauer et al., 1966). Cultures of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) were suspended in a sterile solution of 0.9% normal saline and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. The culture was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extract dilutions were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37 °C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antimicrobial activity of *Coelogyne speciosa*. A negative control disc impregnated with sterile ethanol, methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane was used in each experiment. The antimicrobial activities of the extracts tested were evaluated at the end of the inoculated period by measuring the inhibition zone diameter around each paper disc in millimeters. The plates were observed and photographs were taken. For each extract six replicate trials were conducted. Zone diameters were determined and averaged. All statistical calculations were performed on separate data from each bacterial strain. The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S) ≥ 15 mm, Intermediate (I) = 11–14 mm, and Resistant (R) ≤ 10 mm (Okoth et al., 2013).

Results and discussion

In the present study, the effect of extracts obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* prepared in various solvents on the growth of *S. aureus* was investigated *in vitro*. The results revealed that ethanolic extracts from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* exhibited strong activity against *Staphylococcus aureus* (inhibition zone diameter was 19 mm), while the methanolic extract from pseudobulbs revealed mild activity (8 mm) (Figure 2 and 3). Moreover, it has been observed that ethyl acetate, hexane and dichloromethane extracts obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* revealed no antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Detailed data regarding the zones of inhibition by the various plant extracts were recorded and presented in Figure 2.

The results obtained from the present study are consistent with earlier reports, which found that other species of *Coelogyne* have noticeable phytochemical, antimicrobial, antioxidant and anticancer activity (Sahaya Shibu et al., 2013). In our previous study (Buyun et al., 2016a-f, Góralczyk et al., 2016,

Tkachenko et al., 2015, 2016), we have reinforced the assumption that *Coelogyne* species could be potential antibacterial or antifungal agents resource.

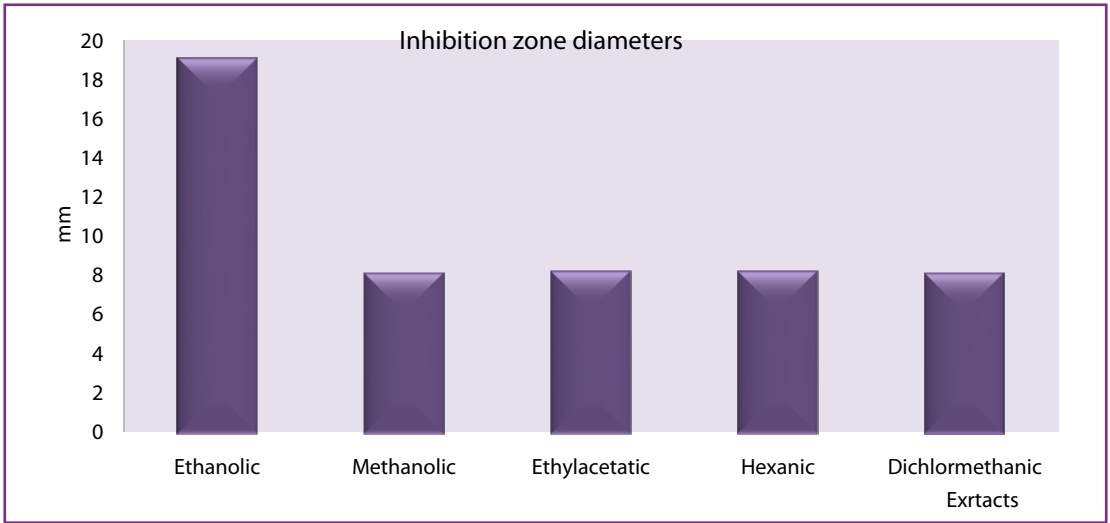


Figure 2 Antimicrobial activity of various extracts obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. against *Staphylococcus aureus* measured as inhibition zone diameter

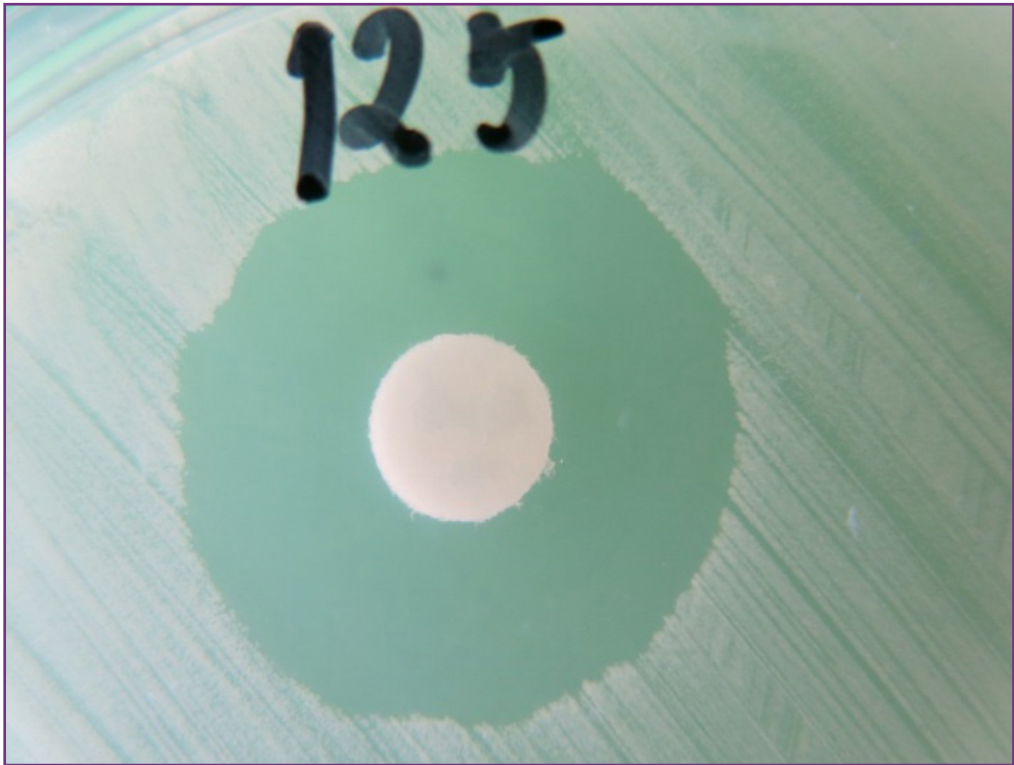


Figure 3 Antibacterial spectrum of ethanolic extract obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. against *Staphylococcus aureus* measured as inhibition zone diameter

The orchid extracts from various species of *Coelogyne* genus displayed varied antimicrobial and antifungal potency. We have determined antifungal potential of eleven species of orchids namely *Coelogyne viscosa* Lindl., *Coelogyne cristata* Lindl., *Coelogyne lawrenceana* Rolfe, *Coelogyne pandurata* Lindl., *Coelogyne assamica* Linden & Rchb.f., *Coelogyne fimbriata* Lindl., *Coelogyne ovalis* Lindl., *Coelogyne asperata* Lindl., *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl., *Coelogyne tomentosa* Lindl. and *Coelogyne brachyptera* Rchb.f. against *Candida albicans* (Tkachenko et al., 2015). Ethanolic orchid leaf extracts resulted in considerable suppression of *S. aureus* growth (Tkachenko et al., 2016). Among orchids selected, marked antimicrobial efficacy was observed for *Coelogyne cristata* (mean diameter of growth of inhibition zones was 27.5 mm), *Coelogyne tomentosa* (26 mm), *Coelogyne lawrenceana* (26 mm), *Coelogyne brachyptera* (26 mm), *Coelogyne viscosa* (25.5 mm), *Coelogyne pandurata* (24.5 mm), and *Coelogyne fimbriata* (24 mm). Thus, our results showed that different extracts of epiphytic orchids from *Coelogyne* genus have potent antimicrobial properties against *Staphylococcus aureus* (Tkachenko et al., 2016).

Previously, we have investigated the antibacterial effects of ethanolic extract of *Coelogyne brachyptera* leaves against specific Gram-positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* locally isolated) and Gram-negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922) and fungal strain (*Candida albicans*) (Buyun et al., 2016e). Our results showed that the ethanolic extract of *Coelogyne brachyptera* leaves showed strong activity against the Gram-positive bacterial strains (20 mm diameter of inhibition zone for *Staphylococcus aureus* and 26 mm for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), and moderate activity against the Gram-negative bacteria (14 mm for *Escherichia coli* and 11 mm for *Pseudomonas aeruginosa*). Extract of *Coelogyne brachyptera* has displayed strong inhibitory activity against test fungus *Coelogyne albicans* (mean diameter of inhibition zone was 17.2 mm) (Buyun et al., 2016e). The ethanolic extract of *Coelogyne ovalis* leaves showed strong activity against *Staphylococcus aureus* (27 mm of inhibition zone diameter), while an ethanolic extract from pseudobulbs revealed less activity (22 mm). Methanolic and ethyl acetate extracts obtained from *Coelogyne ovalis* leaves also showed appreciable antimicrobial activity (32 mm and 35 mm, respectively), whereas those extracts from pseudobulbs revealed no antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (Buyun et al., 2016a).

Also, the results obtained from the present research showed the antimicrobial potential of *Coelogyne speciosa* extracts against *Staphylococcus aureus*. So, these plants extracts can be used as antiseptics and antimicrobial agents in medicine and veterinary. The antibacterial activity in *Coelogyne* may be due to a presence of alkaloids, bibenzyl derivatives, flavonoids, phenanthrenes, and terpenoids.

Clinical studies confirmed diuretic, anti-rheumatic, anti-inflammatory, anti-carcinogenic, antimicrobial, anticonvulsive, relaxation, neuro-protective and antiviral activities (Pérez Gutiérrez, 2010).

Presence of these phytochemicals provides antimicrobial, antitumor, anti-inflammatory, antiviral activities, etc. A number of members of the orchid family are used as potent inhibitor against bacteria and also proved to be a potent antimicrobial agent. The methanolic extract from different parts of orchids has shown antimicrobial activity. A broad spectrum antibacterial activity (24 bacteria and protozoan) was exhibited by *Galeola foliata* leaves and stem bark extracted with petrol, dichloromethane, ethyl acetate, butanol, and methanol. A very good level of activity was demonstrated by the dichloromethane and ethyl acetate fractions (Khan and Omoloso, 2004).

Conclusion

The examined ethanolic extracts obtained from pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* showed different antibacterial activities against *Staphylococcus aureus*, while methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane extracts had no antibacterial activities. The observed activity may contribute to the reasons why orchids are used for infectious and inflammatory conditions in ethnomedicine. The research showed that ethanolic extracts of *Coelogyne speciosa* possess antibacterial potency against *Staphylococcus aureus*. These findings led the authors to suggest that these extracts may be used as a natural antiseptics and antimicrobial agents in medicine and veterinary practice. Taking into account the medicinal importance of the tested microorganism, the data of this research are considered to be very promising in the perspective of new drug development from plant sources. Nevertheless, despite the promising results, more research should be carried out to further evaluate the roles of particular compounds, isolated from all parts of orchid plants, attributable to antimicrobial activity.

References

- Baker, J.T., Borris, R.P., Carte, B., Cordell, G.A., Soejarto, D.D. 1995. Natural product drug discovery and development: New perspective on international collaboration. *J. Natl. Prod.*, vol. 58, p. 1325–1357. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7494142>
- Bauer, A.W., Kirbi, W.M., Sherris, J.C., Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 45, no. 4, p. 493–496.
- Buyun, L., Tkachenko, H., Kovalska, L., Osadowski, Z. 2016a. Preliminary screening of *Coelogyne ovalis* Lindl. (Orchidaceae) for antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. *Dni laboratornoy meditsyny*. Grodno : GrGMU, p. 10. ISBN 978-985-558-668-6.
- Buyun, L., Tkachenko, H., Osadowski, Z. 2016b. Antimicrobial activities of the various extracts obtained from leaves and pseudobulbs of *Coelogyne tomentosa* Lindl. (Orchidaceae). *Ekolohiya – filosofiya isnuvannya lyudstva*, Kyiv, p. 10–12.
- Buyun, L., Tkachenko, H., Osadowski, Z., Kovalska, L. 2016c. Antimicrobial activities of the various extracts obtained from leaves and pseudobulbs of *Coelogyne huettniana* Rchb.f. (Orchidaceae). *Ontohenez – stan, problemy ta perspektyvy vyvchennya roslyn v kulturnykh ta pryrodnykh tsenozakh*, Kherson : RVTs «Kolos», p. 8–11. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/304539606>
- Buyun, L., Tkachenko, H., Osadowski, Z., Kovalska, L., Gyrenko, O. 2016d. Antimicrobial activity screening of extracts from leaves and pseudobulbs of *Coelogyne cristata* Lindl. (Orchidaceae). *Agrobiodiversity for improving nutrition, health, and life quality*, Nitra, p. 40–44. ISBN 978-80-552-1586-0.
- Buyun, L., Tkachenko, H., Osadowski, Z. 2016e. Antibacterial and antifungal activity of the ethanolic extract from *Coelogyne brachyptera* Rchb. f. leaves (Orchidaceae). *Sustainable technologies and the legal economic aspects of agricultural production*, Kyiv, p. 133–135.
- Buyun, L., Tkachenko, H., Osadowski, Z., Góralczyk, A., Kovalska, L., Gyrenko, O. 2016f. Antimicrobial screening of the various extracts derived from the leaves and pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. (Orchidaceae). *Ślupskie Prace Biologiczne*, vol. 13, p. 37–54. ISSN 1734-0926.
- Góralczyk, A., Tkachenko, H., Buyun, L., Osadowski, Z. 2016. The antimicrobial potential of ethanolic extract of *Coelogyne cristata* Lindl. (Orchidaceae) leaves. *Youth and Progress of Biology*, Lviv, p. 259–260.
- Gravendeel, B. 2000. *Reorganising the orchid genus Coelogyne: a phylogenetic classification based on morphology and molecules*. Leiden : Leiden University, 208 p.
- Gravendeel, B., de Vogel, E.F. 1999. Revision of *Coelogyne* section *Speciosae* (Orchidaceae). *Blumea*, vol. 44, p. 253–320. Available at: <http://www.repository.naturalis.nl/record/524978>
- Khan, M.R., Omoloso, A.D. 2004. Antibacterial activity of *Galeola foliata*. *Fitoterapia*, vol. 75, no. 5, p. 494–496.

- Okoth, D.A., Chenia, H.Y., Koorbanally, N.A. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of flavonoids from *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae). *Phytochem. Lett.*, vol. 6, p. 476–481. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2013.06.003>
- Pant, B. 2013. Medicinal orchids and their uses: Tissue culture a potential alternative for conservation. *Afr. J. Plant Sci.*, vol. 7, no. 10, p. 448–467. DOI: 10.5897/AJPS2013.1031.
- Pérez Gutiérrez, R.M. 2010. Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 4, no. 8, p. 592–638. DOI: 10.5897/JMPR10.012.
- Sahaya Shibu, B., Chitra Devi, B., Sarmad Moin, L., Servin Wesley, P. 2013. Evaluation of bioactive potential of *Coelogyne nervosa* A. Rich. – an endemic medicinal orchid of western Ghats, India. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 6, no. 1, p. 114–118. ISSN 0974-2441.
- Subedi, A. 2011. *New species, pollinator interactions and pharmaceutical potential of Himalayan orchids*: dissertation thesis, Leiden : Leiden University. Available at: <http://hdl.handle.net/1887/17943>
- Tkachenko, G.M., Truchan, M.A., Buyun, L.I., Son, H.N., Chiong, M. 2016. Antibakterialnaya effektivnost nekotorykh vidov orkhidey roda *Coelogyne* Lindl. v otnoshenii zolotistogo stafilokokka. *Materialy XI Mezhdunarodnoy (XX Vserossiyskoy) Pirogovskoy nauchnoy meditsinskoy konferentsii studentov i molodykh uchenykh*, Moskva, p. 632–633.
- Tkachenko, G.M., Truchan, M.A., Buyun, L., Kovalska, L., Gyrenko, A. 2015. Antifungal efficacy of some orchids from *Coelogyne* Lindl. genus against *Candida albicans*. *Intehrovanyi zakhyst ta karantyn roslyn. Perspektyvy rozvytku v XXI stolitti*, Kyiv, p. 178–181. DOI: 10.13140/RG.2.1.3305.8648.



STORAGE POTENTIAL OF SEEDS OF MAIZE COLLECTION SAMPLES (*ZEAMAYS* L.)

Corlateanu Liudmila*, Mihaila Victoria, Ganea Anatolii

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Academy of Sciences of Moldova,
Moldova, Chisinau

ПОТЕНЦИАЛ ХРАНЕНИЯ СЕМЯН КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ КУКУРУЗЫ (*ZEAMAYS* L.)

Корлэтяну Людмила, Михаилэ Виктория, Ганя Анатолий

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 25 11. 2017

The main condition for secure *ex situ* conservation of germplasm in plant gene banks is the necessity to preserve the viability of seeds, their physiological quality and to minimize aging rate. Loss of physiological quality of seeds results in yield decrease and low quality of seeds, loss of their uniformity and worsening of growth and development of plants as well as low resistance to environmental stresses. Production of seeds with high germinability is not sufficient per se. To ensure high storage potential of seeds it is necessary not only to obtain seed material with high viability but also to ensure its correct storage with the purpose of maintaining initial germinability. Therefore it is very important to determine storage potential of genotypes before placing them for long-term storage and to rank by this trait of valuable collection material. Use of test for accelerated aging of seeds (AA) allowed determination of genotypic features of maize collection accessions and their grouping by a potential capability of preservation of seed viability after the exposure to stress factors (increased temperature and humidity). With the help of morpho-physiological (germination power and germinability of seeds, length of seedling rootlets, fresh and dry biomass of seedlings, electric conductivity of seeds) and biochemical (peroxidase activity) parameters of seeds and seedlings there has been determined storage potential of various genotypes of maize that is an important complex characteristics of collection accessions when they are placed for long-term storage in plant gene bank. Determination of storage potential allows revealing samples inappropriate for long-term storage and saving resources for conservation, as well as giving recommendations about reproduction of seed material and necessity to restore the viability of collection accessions using different physicochemical factors.

Keywords: maize; storage potential; accelerated aging; germination power, germinability; peroxidase; length of rootlets; biomass of rootlets

Введение

Основным условием гарантированной консервации *ex situ* зародышевой плазмы в генетических банках растений является необходимость сохранения жизнеспособности семян, их физиологического качества и сведение до минимума скорости старения. В последнее время

*Corresponding author: Liudmila Corlateanu, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Academy of Sciences of Moldova, Moldova, Chisinau, ✉ licorlateanu@yahoo.com

в научной литературе активно используется термин «потенциал хранения семян» (Demir and Mavi, 2008; Havstad et al., 2011; Mielezrski and Marcos-Filho, 2013; Nirmala and Umarani, 2014; Aghilian et al., 2014). Потенциал хранения ортодоксальных семян определяется такими факторами как качество семян, обусловленное условиями во время формирования семян, и временем между физиологической зрелостью и урожаем (Villela and Menezes, 2009).

Потеря физиологического качества семян приводит к снижению урожая и низким стандартам семян, к потере их однородности, а также к ухудшению роста и развития растений и низкой устойчивости к экологическим стрессам. Производство семян с высокой всхожестью недостаточно само по себе. Чтобы обеспечить высокий потенциал хранения семян необходимо не только получить семенной материал с высокой жизнеспособностью, но и обеспечить его правильное хранение с целью поддержания начальной всхожести. Поэтому очень важно определить потенциал хранения (ПХ) генотипов перед закладкой на длительное хранение и провести градацию по данному признаку ценного коллекционного материала.

Для определения потенциала хранения семян в генетических банках растений различных стран используют тест на ускоренное старение семян (УСТ), который заключается в инкубации семян в условиях повышенной температуры и влажности, срок воздействия этими факторами на семена зависит от каждой конкретной культуры, а иногда и от конкретного генотипа (International Rules for Seed Testing, 2004). С помощью теста на УСТ семян можно осуществлять мониторинг коллекционных образцов растительного генофонда, что позволяет проводить постоянный учет их жизнеспособности и классифицировать генотипы из рабочих и активных коллекций по параметрам старения семян. С помощью данной методики можно:

1. выявлять образцы, не пригодные к длительному хранению, что позволит сэкономить средства для консервации;
2. давать рекомендации по срокам воспроизводства семенного материала;
3. указать на необходимость восстановления жизнеспособности коллекционных образцов.

Целью настоящих исследований было изучить морфофизиологические и биохимические параметры после ускоренного старения семян кукурузы, позволяющие охарактеризовать их потенциал хранения, и провести градацию генотипов по данному признаку.

Материалы и методы

Объектами исследований служили районированные гибриды кукурузы из генетического банка растений Молдовы. Для определения ПХ семян использовали тест на УСТ (Handbook of vigor test methods, 1995). Тест проводили при температуре воздуха 42 – 44 °С, влажности воздуха 90 – 100 %, срок старения 96 часов, после чего семена проращивали в чашках Петри в термостате при температуре 25 °С. В каждом варианте число семян составляло 300 штук. Определяли следующие морфофизиологические и биохимические параметры семян и проростков: энергию прорастания (ЭП) и всхожесть (В) семян, длину основного корешка (ДК), сырую и сухую биомассу корешков (СБК) проростков (Handbook of vigor test methods, 1995), содержание фермента пероксидазы (ПО) в корешках проростков (Ермаков и др., 1987), электропроводность растворов (International Rules for Seed Testing, 2004). Полученные результаты были обработаны с помощью пакета программ Statistica 7.

Результаты и их обсуждение

После проведения теста на УСТ семян кукурузы было обнаружено уменьшение значений всех морфофизиологических параметров у состаренных семян по сравнению с нормальными. Эти изменения проявились в большей или меньшей степени в зависимости от генотипа. В зависимости от уровня падения энергии прорастания семян генотипы кукурузы были подразделены на 3 группы:

1. падение ЭП составило 10 – 15 % (P402, P280, P310);
2. уменьшение ЭП составило 18 – 20 % (P294, P396, P196, P397, P374);
3. ЭП упала на 25 – 30 % (P461, P262).

После учета всхожести состаренных семян генотипы были определены в 2 группы:

1. падение В составило 19 – 25 % (P402, P461, P294, P196);
2. снижение В (рис. 1) составило 33 – 42 % (P396, P397, P374, P 280, P262, P310).

Обнаружено также уменьшение и других морфофизиологических параметров: длины корешков, длины проростков, сырой и сухой биомассы корешков. ДК корешков проростков после УСТ семян уменьшилась на 10 – 37 % по отношению к контролю. Наиболее сильное торможение роста корешков проростков после УСТ наблюдалось у генотипов P294, P374, а наименьшее – у генотипов P402 и P196. При определении сырой и сухой биомассы корешков проростков кукурузы после УСТ семян проявилась аналогичная закономерность.

Сырая и сухая биомасса корешков уменьшилась на 17,3 – 55,1 % и 10,0 – 65,5 % соответственно по отношению к контролю. Очевидно, что наибольшее падение этих параметров у некоторых генотипов свидетельствует об их меньшей устойчивости к стрессовым условиям повышенной температуры и влажности.

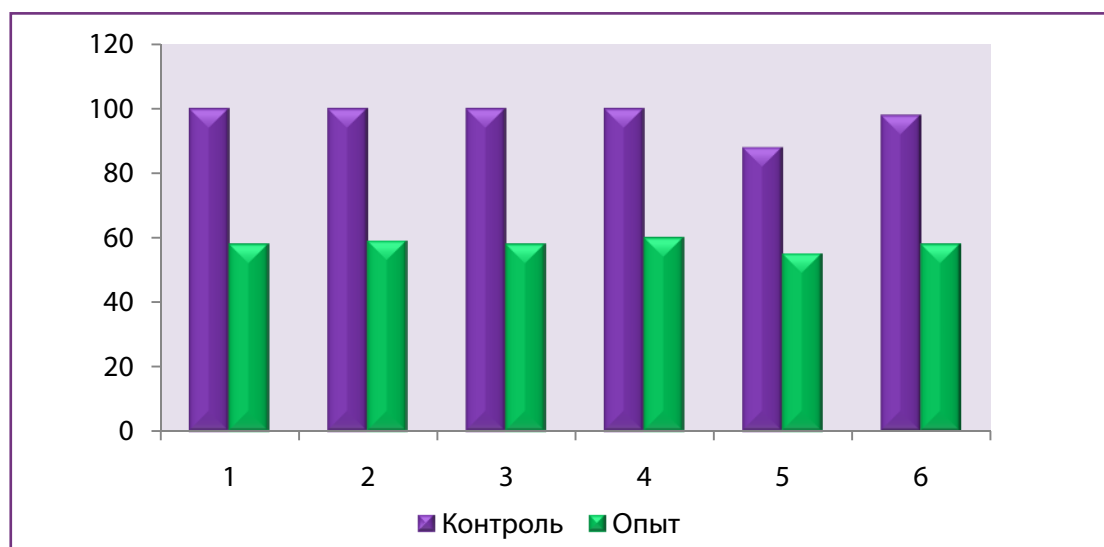


Рисунок 1 Всхожесть семян генотипов кукурузы после УСТ семян, % (контроль и опыт)
Figure 1 Germinability of seeds of maize genotypes after AA, % (control and experiment)

У всех генотипов кукурузы была выявлена значительная положительная корреляция параметра всхожести семян с энергией прорастания ($r = +0,55$), длиной корешков ($r = +0,66$), сырой ($r = +0,69$) и сухой биомассой ($r = +0,53$) корешков проростков. Параметр длина корешков также коррелировал с всхожестью ($r = +0,66$), сырой ($r = +0,69$) и сухой биомассой ($r = +0,58$).

О выходе электролитов из семян кукурузы судили по электропроводности растворов с нормальными и состаренными семенами. Использовали временные экспозиции набухания семян – 24 и 48 часов. Хотя в Международных правилах ISTA предлагается использовать только 24-х часовую экспозицию, мы рекомендуем модифицировать данный метод для семян кукурузы посредством увеличения экспозиции набухания семян до 48 часов, т.к. именно при этой экспозиции более четко проявляется разница между вариантами. Электропроводность опытных растворов с состаренными семенами увеличилась после 48-часовой экспозиции

в зависимости от генотипа в среднем на 13,0 – 97,0 % по отношению к контролю. Существенные колебания данных свидетельствуют об индивидуальной специфичности коллекционных образцов кукурузы. Возрастание электропроводности растворов со старыми семенами объясняется увеличением проницаемости клеточных мембран после УСТ семян.

Содержание в корешках проростков семян кукурузы фермента пероксидазы после проведения теста на ускоренное старение увеличилось в 1,67 – 2,63 раза по сравнению с контролем в зависимости от конкретного генотипа, что является характерным при действии термического стресса. Наибольшее возрастание активности фермента в корешках проростков после проведения теста на ускоренное старение семян было отмечено у генотипов P294, P260 и P310 (табл. 1) (соответственно в 2,6; 2,0 и 2,0 раза) по сравнению с контролем.

Таблица 1 Активность фермента пероксидазы в корешках проростков кукурузы после ускоренного старения семян, усл.ед

Table 1 Peroxidase enzyme activity in seedling rootlets after accelerated aging of maize seeds, c.u.

Генотип	Контроль	Опыт
P 402	1,50 ±0,20	2,71 ±0,32*
P 461	1,70 ±0,13	3,00 ±0,24*
P 294	1,37 ±0,17	3,60 ±0,34*
P 396	1,00 ±0,06	1,67 ±0,18*
P 196	0,90 ±0,12	1,55 ±0,25*
P 397	0,79 ±0,10	1,39 ±0,30*
P 374	0,59 ±0,06	1,11 ±0,20
P 260	0,74 ±0,09	1,49 ±0,46
P 262	1,09 ±0,15	1,97 ±0,32
P 310	0,50 ±0,09	1,02 ±0,13*

* разница существенна при $p \leq 0,05$; * differences are significant with $p \leq 0,05$

Из анализа экспериментальных данных по совокупности различных параметров семян и проростков коллекционных образцов кукурузы наиболее высоким потенциалом хранения обладали генотипы P402, P294, P461, а наиболее низким – P374.

Выводы

Для проведения теста на ускоренное старение семян кукурузы предлагается использовать температуру воздуха 42 – 44 °C на протяжении 96-ти часов вместо температуры 41 °C на протяжении 72-х часов, рекомендуемых в Международных правилах анализа семян. Применение данного теста позволило выявить генотипические особенности коллекционных образцов кукурузы и распределить их по группам с учетом потенциальных возможностей сохранения жизнеспособности семян после воздействия стрессовых факторов. Показано, что электропроводность растворов с состаренными семенами у большинства генотипов выше, чем у растворов с нормальными семенами. С помощью морфофизиологических и биохимических параметров семян и проростков был определен потенциал хранения различных генотипов кукурузы, который является важной комплексной характеристикой коллекционных образцов при закладке их на длительное хранение в генетический банк растений.

Литература

- Aghilian, S., Khajeh-Hosseini, M. Anvarkhah, S. 2014. Evaluation of seed storage potential in forty medicinal plant species. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, vol. 7, no. 10, p. 749–759. ISSN 2227-670X.
- Demir, I. Mavi, K. 2008. Controlled deterioration and accelerated aging tests to estimate the relative storage potential of cucurbit seed lots. *HortScience*, vol. 43, no. 5, p. 1544–1548. ISSN 2327-9834.
- Handbook of vigor test methods. ISTA. 1995. Zurich, Switzerland. 120 p.
- Havstad, T., Aamlid, T., Lomholt, A. 2011. Evaluation of vigor tests for determination of seed storage potential in red clover (*Trifolium pratensis* L.) and timothy (*Phleum pratense* L.). *Seeds Science and Technology*, vol. 39, no. 3, p. 637–648. ISSN 1819-5717.
- International rules for seed testing. 2004. The International Seed Testing Association (ISTA). Switzerland.
- Nirmala, K., Umarani, R. 2014. Storage potential of primed seeds of okra (*Abelmoschus esculentus*) and beet root (*Beta vulgaris*). *Australian Journal of Crop Sciences*, vol. 8, no. 9, p. 1290–1297. ISSN 1835-2707.
- Mielezrski, F., Marcos-Filho, H. 2013. Assessment of physiological potential of stored pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *Journal of Seed Science*, vol. 35, no. 1, p. 42–50. ISSN 2317-1545.
- Villela, F., Menezes, N. 2009. Seed storage potential. In *Seed News*, vol. 13, no. 4, p. 22–25. Available at: <http://www.seednews.inf.br/>
- Ермаков, А., Арасимович, В., Ярош, Н. и др. 1987. *Методы биохимического исследования растений*. Москва, Колос, с. 42–43.



ECOLOGIZATION OF WOODWORKING INDUSTRY AS A FACTOR OF FOREST BIODIVERSITY

Deyneko Lyudmyla*, Kyshnirenko Oksana

Institute for Economics and Forecasting National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ЕКОЛОГІЗАЦІЯ ДЕРЕВООБРОБНОЇ ГАЛУЗІ ЯК ЧИННИК ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ ЛІСІВ

Дейнеко Людмила, Кушніренко Оксана

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 27. 11. 2017

Ways to maintain the forest biodiversity in the context of woodworking industry development are explored in this paper. The purpose of this paper is to substantiate perspective ways of ecologization in woodworking industry, including conservation of resources, implementation of certification and ecological management systems that will not only facilitate economic effects, but will also constitute a precondition for saving the biodiversity of Ukrainian forests. An analysis of logging volumes during the latter years is made. Negative ecological externalities of logging increase are grounded, a loss of biodiversity – in particular. The authors consider as such externalities the following: loss of biodiversity during logging; replacement of primary forests by secondary ones that are not as productive; loss of raw wood during logging and woodworking; emission of harmful substances into the atmosphere through stationary pollution sources; creation of toxic waste; huge volumes of water consumption during production. The authors established that the main factor of woodworking enterprises' influence over the environment is the loss of biodiversity. It leads to a shift in energetic and mass exchange in the biosphere that leads to a deterioration of ecological infrastructure of human living. In addition, it weakens resistance to negative climate change. Modernization of woodworking industry by resource-conserving and waste-free technologies of wood and biomass deep processing, as well as of recycling of products from wood and paper, will decrease the ecological pressure on forest resources and facilitate maintenance of the forest biodiversity. Perspective ways of ecologization in woodworking industry are proposed, based on the best practices of European countries. This will allow for the needs of woodworking industry to be balanced with the ecological capacities of Ukraine.

Keywords: forest biodiversity; woodworking industry; ecologization; conservation of resources; in-depth woodworking maintenance

Вступ

Конвенція «Про біологічне різноманіття» відмічає, що ліси відіграють важливу економічну, соціальну й культурну роль в житті багатьох людей. Вони забезпечують не лише господарську діяльність деревиною, але й забезпечують рекреаційні можливості та сприяють покращанню здоров'я та добробуту населення, захищають джерела питної води та пом'якшують наслідки зміни клімату. Разом з цим біологічне різноманіття лісів дозволяє їм еволюціонувати, краще

*Corresponding author: Lyudmyla Deyneko, Institute for Economics and Forecasting National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ deinekolv@gmail.com

приспосовуватись до зміни умов (як кліматичних, так і наслідків господарської діяльності) підтримувати свої функції в екосистемі та зберігати здатність до покращання якості пород деревини (Convention, 2010).

Актуальність проблеми збереження біорізноманіття лісів полягає в тому, що використання лісів в господарській діяльності призводить до його швидкої руйнації, а та практика, за якої виробництву деревини в управлінні лісами надавалось пріоритетне значення, вимагає заміни на більш збалансовану, де управління лісами тісно пов'язане з охороною біологічного різноманіття, як це передбачено Стратегічним планом у сфері збереження та сталого використання біорізноманіття на 2011 – 2020 роки (Стратегічний план..., 2010).

У статті розглядається актуальне питання: як досягти збереження різноманіття лісів в умовах зростаючого розвитку деревообробної промисловості, для якої вирубка лісів й лісозаготівля є першочерговими умовами забезпечення господарської діяльності.

Наше дослідження поєднує в собі три елементи: огляд відповідної наукової літератури, аналіз стану та ступеня використання лісових ресурсів в Україні, виявлення перспективних можливостей для збереження біорізноманіття.

У аспекті питань збереження біорізноманіття, зокрема в лісовому секторі, важливим є вивчення праць зарубіжних дослідників, які присвятили свої роботи дослідженню цього питання. Так, В. Скотт Швенк, Тереза М. Донован, Вільям С. Кетон, Джаред С. Нунір (Schwenk et al., 2012) виявили, що збереження біорізноманіття лісів є найбільш важливим аспектом, підкреслюючи необхідність управління ландшафтними масштабами для забезпечення повного спектру товарів та послуг екосистем. Такі вчені як Ян Д. Томпсон, Кіміко Окабе, Джейсон М. Тіліанакіс, Пушпам Кумар Еккхард, Дж. Брокерхоф Ненсі, А. Шелхорн Джон, А. Параротта, Р. Насі (Thompson et al., 2011) довели, що зростання біорізноманіття може призвести до збільшення частотності запилення, збільшення темпів боротьби зі шкідниками та зменшення популяції шкідливих організмів, підвищення продуктивності та більшої стійкості в екосистемах лісів та обґрунтували ефективні політики щодо управління збереженням біорізноманіття. Серед сучасних дослідників варто виділити праці А. Чаудхарі, С. Бурієвалов, Лян Пін Коха та С. Хелвег (Chaudhary, 2016), які обґрунтували вплив лісового господарства на багатство видів шляхом здійснення мета-аналізу найпоширеніших систем виробництва деревини по всьому світу з точки зору їх впливу на багатство місцевих видів та виявили економічні ефекти від проведення різних заходів з відновлення екосистем і лісу, відбору та утримання, зниження врожайності, звичайні вибіркові лісозаготівлі, зрошування, агролісомеліорація, лісопромислові плантації. Серед вітчизняних науковців доцільно назвати праці Ю. Туниці (Туниця, 2011), Н. Попадинського (Попадинець, 2014), які дослідили роль і місце лісової галузі у структурі промисловості України, обґрунтували стратегії підвищення конкурентоспроможності цієї сфери та, зокрема, запропонували авторське бачення екологізації соціуму.

Отже, підводячи підсумок досліджень багатьох експертів, відзначаємо, що екозбалансований розвиток лісопромислового комплексу є стратегічним вирішенням низки екологічних, соціальних та економічних проблем для країн.

Матеріали та методи

В основі методології дослідження є системний підхід до вивчення процесу збереження біорізноманіття лісів, за допомогою якого виявлені проблеми розглядаються з позицій цілісності і нерозривності об'єкта та середовища його існування, цілей і методів управління, засобів та інструментів моніторингу. Для проведення науково-дослідної роботи за темою дослідження було використано такі методи:

- ▶ огляд наукової літератури: дослідження літератури, виданої після 2010 року за допомогою комп'ютерних запитів з використанням набору ключових слів: біорізноманіття, деревообробна промисловість, екологізація, ресурсозбереження, екологічні інновації;

- ▶ структурно-функціональний (для обґрунтування інституціональних імперативів розвитку інноваційних виробництв у сфері деревообробної промисловості, виявлення факторів, що впливають на збереження біорізноманіття в господарській практиці);
- ▶ статистико-економічний (для дослідження сучасного стану та тенденцій розвитку лісопромислового комплексу).

Результати та їх обговорення

Лісові масиви України за останні роки піддалися хижацькому знищенню. Станом на теперішній час відбувається зростання обсягів вирубки лісів в Україні майже на 2 % більше ніж у 2015 році та на 21 % більше рівня 2010 року. У 2016 р. обсяги заготівлі ліквідної деревини склали 19 605,7 тис. м³, включаючи 11 294,4 тис. м³ так званого лісу кругляка (42 % в загальній структурі) та 8 311,6 тис. м³ (58 %) паливної деревини. До того ж відбуваються негативні зміни в структурі ліквідної деревини: стало більше заготовлятися деревини паливної, частка якої у 2010 році становила лише 53 %, а у 2016 вже 58 %. Такі диспропорції негативно впливають на забезпечення українських переробників деревиною, що також завдає значних економічних збитків нашій державі. Одночасно при цьому погіршується екологічна безпека, що призводить до непередбачуваних наслідків (рис. 1).

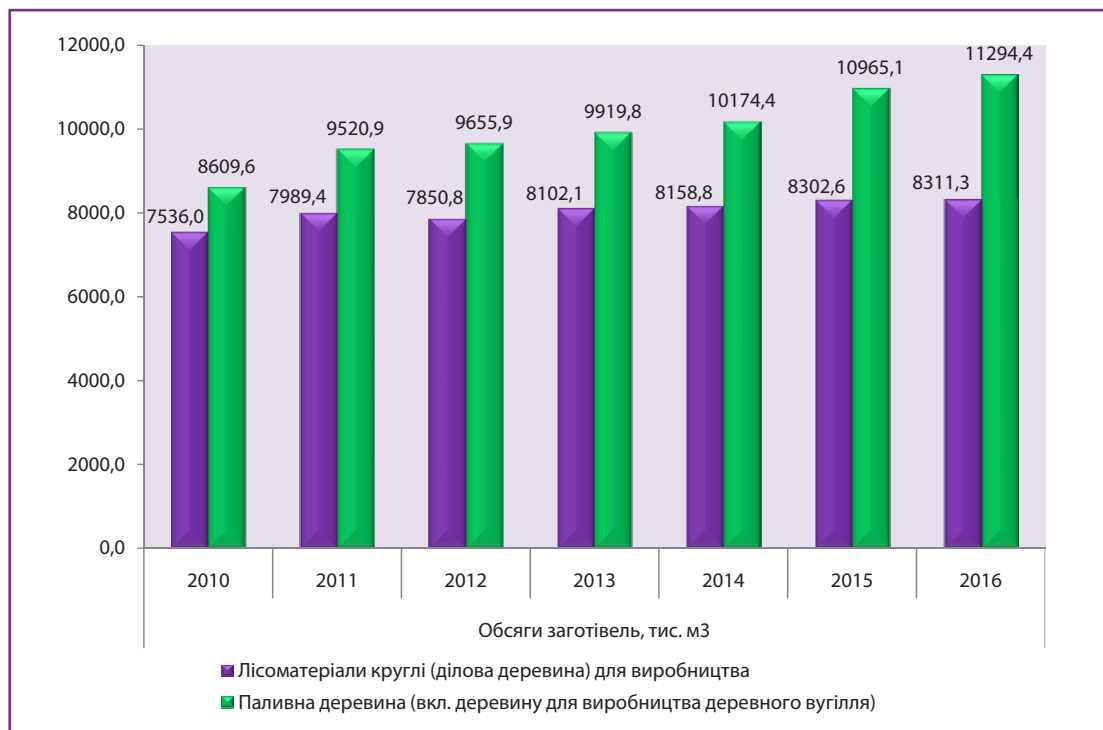


Рисунок 1 Заготівля ліквідної деревини в Україні за 2010 – 2016 рр.

Figure 1 Preparation of liquid wood in Ukraine for 2010 – 2016

Для ефективного розв'язання проблеми збереження біорізноманіття важливим є використання зарубіжного досвіду розвинутих країн. Європейські країни вже давно зрозуміли важливість збереження різноманіття лісів. Так, Швейцарія має цілком збережені лісові ландшафти, без облісаних ерозійних гірських схилів, що зменшило вплив природних катаклізмів. Адже Швейцарія за площею 41,3 тис. кв. км щороку заготовляє 7 млн. кубометрів

деревини, а Українські Карпати за площею 37 тис. кв. км. заготовляють усього 1,9 млн. кубометрів. Річ у тому, що в Швейцарії рубки ведуться в межах природного приросту, тільки вибіркові або котлованні і малі за площею, із застосуванням повітряно-трелювальних установок. Деревина заготовлюється лише взимку. У лісах господарського призначення видове різноманіття захищається в законодавчому порядку.

Багато країн відмовилися від вирубки дерев на своїй території та ведуть політику заборони експорту круглого лісу та необроблених лісоматеріалів задля захисту лісів. До них належить Норвегія, Румунія й Албанія. В Албанії було введено мораторій на рубки лісу та експорт деревини з 2016 року. Заготівля можлива лише в обмежених обсягах для опалення.

Причиною такого кроку, до якого не має претензій Європа, стала катастрофічна втрата лісу, в тому числі через масові нелегальні рубки, масштабні повені та неможливість іншими способами змінити ситуацію через всепоглинаючу корупцію в цій сфері.

В Румунії діє закон, який прирівнює незаконну рубку більше як 1 гектара лісу до тероризму, тобто таким, що буде переслідуватися як посягання на національну безпеку. За останні 10 років Румунські Карпати облісіли, в країні зникало 3 гектари лісу в годину. З 1 жовтня 2016 року Молдова, яка є одним з ключових експортерів необробленої деревини на європейський ринок (90 % експорту – ліс-кругляк), ввела мораторій на вирубку дерев до 2020 року в державних лісах (87 % лісів). Метою такого заходу є захист від обезліснення та захист біорізноманіття лісових систем.

Успішним прикладом є досвід Фінляндії, в якій для збереження біологічного різноманіття природи створена національна програма дій, що ґрунтується на Конвенції ООН про біологічне різноманіття. Збереження біорізноманіття лісів забезпечується шляхом збільшення площ охоронюваних лісів, поліпшення їх якості внаслідок відновлювальних заходів, а також подальшого розвитку раціонального і екологічного лісокористування зі збереженням природного балансу в лісах господарського призначення.

Основою екологічної політики ЄС в сфері збереження біорізноманіття є План дій ЄС щодо захисту прав лісового законодавства, управління і торгівлі (FLEGT), вагому роль в яком відіграють заходи щодо боротьби з незаконними рубками лісу і торгівлею.

Для збереження біорізноманіття лісів України сьогодні першочерговим завданням є екологізація деревообробної промисловості та впровадження інноваційних технологій з поглибленої переробки деревини для виробництва у ньому сучасної продукції, яка відповідала би новітнім світовим вимогам щодо екологічності та енергоефективності.

Екологізація деревообробної промисловості сьогодні, на нашу думку, містить такі елементи: екологічний менеджмент, ресурсозбереження та сертифікація всіх господарських процесів в ланцюгу: заготівля-переробка-відновлення лісів.

Європейська сертифікація готової продукції з деревини враховує комплекс екологічних, економічних та соціальних аспектів переробки деревини й безпечного лісокористування. Домінуючими системами сертифікації в Європі є PEFC (Загальноєвропейська система лісової сертифікації) та FSC Лісова опікунська рада) – міжнародні некомерційні, неурядові організації, націлені на просування сталого лісокористування шляхом незалежної сертифікації третьою стороною. Основним засобом є підписання добровільних угод про партнерство та дотримання Правил заготівлі лісоматеріалів (EUTR). Регламент ЄС вимагає від операторів створення «системи належної сумлінності» (Due diligence system), яка дозволить звести до мінімуму ризик потрапляння на ринок незаконної деревини або продукції з неї. До того ж, системи сертифікації в ЄС (PEFC, FSC) для продукції деревообробної галузі націлені на комплекс екологічних, економічних та соціальних аспектів переробки деревини й безпечного лісокористування.

Ресурсозбереження в деревообробній промисловості слід розглядати як раціональне використання малоцінної деревної сировини, що дозволяє отримувати будівельні матеріали та вироби з необхідними експлуатаційними властивостями та сприяє вирішенню двох взаємопов'язаних стратегічних завдань забезпечення населення доступним і комфортним житлом і розвитком виробництва з поглибленою переробкою деревини.

Щоб залишитися конкурентними, компаніям необхідно впроваджувати системи екологічного менеджменту, зокрема ISO 14001 – міжнародний загальновизнаний стандарт „Системи екологічного менеджменту“, розроблений ІСО (Міжнародною організацією зі стандартизації), що діє як комплексна структура для забезпечення відповідності законодавчим вимогам. Впровадження системи екологічного менеджменту є надійним способом визначення і контролю впливу виробництва на навколишнє середовище, що також впливає на зниження витрат завдяки поліпшенню продуктивності і ефективності, зниження кількості відходів та підвищення енергоефективності для зниження операційних витрат.

Висновки

Підсумовуючи, можна стверджувати, що біорізноманіття є невід'ємною частиною практично всіх екосистемних процесів, при цьому деякі види відграють ключову функціональну роль та необхідні для збереження цінності екосистем. Важливим чинником збереження біорізноманіття лісів в Україні при одночасному розвитку виробництва продукції з деревини з високою частиною доданої вартості є екологізація деревообробної промисловості, ключовими заходами в якій є ресурсозбереження, впровадження систем сертифікації та екологічного менеджменту.

Література

- Chaudhary, A., Burivalova, Z., Koh, L.P., Hellweg, S. 2016. Impact of Forest Management on Species Richness: Global Meta-Analysis and Economic Trade-Offs. In *Sci. Rep.*, 6. Available at: <https://www.nature.com/articles/srep23954.pdf>
- Convention on Biological Diversity. 2010. Available at: <https://www.cbd.int/undb/media/factsheets/undb-factsheets-ru-web.pdf>
- FLEGT Proposal for an EU Action Plan, 21 May 2003. Communication from the Commission to the Council and the European Parliament. Available at: https://ec.europa.eu/europeaid/eu-action-plan-forest-law-enforcement-governance-and-trade-flegt_en
- Schwenk, W. S., Donovan, T.M., Keeton, W. S., Nunery J. S. 2012. Carbon storage, timber production, and biodiversity: comparing ecosystem services with multi-criteria decision analysis. In *Ecological Society of America*, vol. 22, no. 5, pp. 1612–1627.
- Thompson, I.D., Okabe, K., Tylianakis, J.M., Kumar, P., Brockerhoff, E.G., Schellhorn, N.A., Parrotta, J.A., Nasi, R. 2011. Forest Biodiversity and the Delivery of Ecosystem Goods and Services: Translating Science into Policy. In *BioScience*, vol. 61, no. 12, p. 972–981.
- Попадинець, Н.М. 2014. *Внутрішній ринок продукції лісової промисловості України : проблеми та напрями розвитку : монографія*. Львів : ІРД НАН України, 182 с.
- Стратегічний план з біорізноманіття на 2011-2020 роки. 2010. Available at: http://www.menr.gov.ua/docs/protection6/vkonannya/convencia/CBD_Strateg_plan_bioriznomanittya_2011_2020.doc
- Туниця, Ю. 2011. Екологізація економіки: теоретико-методологічний аспект. *Економічна теорія*, вип. 2, с. 5–15.



ADAPTATION – BASE OF PROTECTION OF PLANT ORGANISM FROM THE INFLUENCE OF HEAVY METALS

Dovgopola Kateryna*, Garkava Kateryna, Bruzgina Tetyana

National Aviation University, Kyiv, Ukraine

АДАПТАЦІЯ – ОСНОВА ЗАХИСТУ РОСЛИННОГО ОРГАНІЗМУ ВІД ВПЛИВУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Довгопола Катерина, Гаркава Катерина, Брюзгіна Тетяна

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The study of the adaptation of medicinal plants in the area near the aerodrome to determine the degree of penetration of soil to heavy metals was a purpose of our investigations. It was established of level of biological resistance of plants to pollution for environmental monitoring of the environment. The soil samples and medicinal plants were collected on the territory adjacent to the Zhulyany airfield in the Kyiv region and the aerodrome in Nizhyn, Chernihiv region. To study, the roots of *Taraxacum officinale* W. and *Cichorium intybus* L. have been isolated. These parts of plants are used in official medicine for phytopreparations, therefore analysis of the content of heavy metals in them is relevant. In the soil, the content of heavy metals (Cd, Zn, Pb, Cu) was determined using HCl (1 N), in plants – HNO₃ (1 : 1) by atomic absorption spectrophotometer C-115. To estimate soil contamination, the coefficient of the technogenic concentration was used. The coefficient of biological absorption is used to determine the intensity of migration of heavy metals from the soil to plants. The analysis of the lipid composition in medicinal plant samples was carried out by gas-liquid chromatography. It is established that in soil the content of heavy metals doesn't exceed the maximum permissible concentrations. Heavy metals according to the intensity of accumulation by plants have the following order: Cd > Cu > Zn > Pb. The property of the investigated plants for the accumulation of heavy metals can be used as one of the methods of phytoremediation and phytomonitoring of the medium. Investigation of the content of fatty acids in the plant material may indicate the reaction of the plant organism to stress and as a consequence of further study of the process of adaptation of the plant to the state of growth. The conditions of germination have an effect on the biochemical parameters of biologically active substances in *Taraxacum officinale* and *Cichorium intybus*. It has been established that *Cichorium intybus* is more resistant to unfavorable conditions of germination.

Keywords: adaptation; soil; heavy metals; lipids; herbs

Вступ

Дикорослі трав'янисті рослини являють собою цінний природний ресурс, який відіграє важливу роль у функціонуванні природних екосистем і є джерелом рослинної харчової і лікарської сировини. Враховуючи, що на природні екосистеми велике навантаження

*Corresponding author: Kateryna Dovgopola, National Aviation University, Kyiv, Ukraine,

✉ salashna@ukr.net

має промисловість і транспорт, рослини постійно відчують на собі вплив безлічі різних стресових факторів.

Серед полютантів, які в значних кількостях викидаються в навколишнє середовище і можуть накопичуватися рослинами, особливо виділяється група важких металів, тому ресурсні дослідження і заготовки рослинної сировини повинні супроводжуватися хімічним аналізом на забруднюючі речовини.

Реакції рослин на хімічні стреси, викликані надлишком або нестачею мікроелементів, не можна розглядати як константу, адже у рослин в ході еволюції і протягом індивідуального життя виробляються механізми, що приводять до адаптації і нечутливості до зміни і порушення хімічного балансу в навколишньому середовищі (Овчаренко, 1997). Тому реакції рослин на важкі метали в ґрунті повинні досліджуватися в системі «ґрунтовий субстрат – рослина».

Дослідження адаптації рослин, що зростають на території поблизу аеродромів надає можливість з'ясувати рівень надходження через ґрунт до рослин важких металів і рівень біологічної стійкості рослин до забруднення.

Матеріали та методи

Метою нашої роботи було дослідження рівня накопичення важких металів в ґрунті та рослинах: кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale* W.) і цикорію дикого (*Cichorium intybus* L.) і встановити вплив умов проростання на жирнокислотний склад ліпідів.

Лікарські рослини збирали на території, прилеглій до аеродрому “Жуляни” Київської області та Ніжинського аеродрому Чернігівської області. Для контролю були взяті аптечні фітопрепарати рослин.

Рослини збирали з дотриманням вимог збирання та підготовки рослинної сировини встановлених в фармакогнозії (Ковальов та ін., 2004; Кобзар, 2007) і методик відбору проб ґрунту і рослин (Методические указания..., 1992).

Для дослідження були відібрані окремі частини рослин: корені кульбаби лікарської і цикорію дикого. Саме ці частини рослин використовуються в офіційній медицині з метою отримання фітопрепаратів, тому аналіз вмісту в них важких металів є актуальним.

Вміст важких металів (Cd, Zn, Pb, Cu) у ґрунті визначали з використанням 1н HCl, в рослинах – HNO₃ (1 : 1) на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С–115 (Методические указания..., 1992). Для оцінки забрудненості ґрунтів було використано коефіцієнт техногенної концентрації K_c (характеризує відношення реального вмісту хімічного елемента в ґрунті С до фонового вмісту цього ж елемента С_ф в середовищі: $K_c = C/C_f$). Величина K_c свідчить про активність процесів вилуговування ($K_c < 1$) і накопичення ($K_c > 1$) хімічних елементів у ґрунті (Петрук та ін., 2013).

Для визначення інтенсивності міграції важких металів з ґрунту в рослини використано коефіцієнт біологічного поглинання К_{бп} (відношення вмісту елемента 1х у золі рослини до пх – вмісту елемента у ґрунті: $K_{бп} = 1x/p_x$) (Перельман и Касимов, 1999).

Аналіз жирнокислотного складу ліпідів в зразках лікарських рослин проводився методом газорідинної хроматографії (Брузгіна та ін., 2013).

Результати та їх обговорення

Отримані дані дослідження за результатами аналізу вмісту важких металів в зразках ґрунту та лікарських рослин представлені в таблицях 1 – 3.

Проведені дослідження виявили, що на обстежених ділянках вміст полютантів не перевищує гранично-допустимі концентрації. Внаслідок розрахунку K_c виявлено, що цей показник для Cu, Zn і Cd не перевищує одиницю і коливається в межах 0,12 – 0,68, тобто ці елементи вилуговуються із ґрунту. Лише для Pb K_c > 1, а одже відбувається процес його накопичення.

Таблиця 1 Аналіз вмісту важких металів в зразках ґрунту

Table 1 The analysis of heavy metals in soil samples

Місце відбору проб ґрунту	Cu		Zn		Pb		Cd	
	мг/кг	Кс	мг/кг	Кс	мг/кг	Кс	мг/кг	Кс
Київ “Жуляни”	5,37	0,26	12,8	0,26	12,68	1,27	0,34	0,68
Ніжин САЗ	2,4	0,12	19,46	0,4	12,7	1,3	0,17	0,34
Фоновий вміст	20	–	50	–	10	–	0,5	–
ГДК	55	–	100	–	32	–	3	–

Таблиця 2 Вміст міді та цинку в зразках лікарських рослин

Table 2 The content of copper and zinc in samples of medicinal plants

Місце відбору зразків	<i>Taraxacum officinale</i>				<i>Cichorium intybus</i>			
	мідь, мг/кг		цинк, мг/кг		мідь, мг/кг		цинк, мг/кг	
	1х	Кбп	1х	Кбп	1х	Кбп	1х	Кбп
Київ “Жуляни”	9,93 ± 0,9	1,85	30,20 ± 2,0	2,4	14,27 ± 0,8	2,7	33,50 ± 2,0	2,7
Ніжин САЗ	6,57 ± 0,6	2,74	22,49 ± 1,7	1,6	11,43 ± 0,5	4,8	31,11 ± 1,8	1,6
Фітопрепарат	10,52 ± 1,0	–	15,9 ± 1,2	–	12,9 ± 0,2	–	29,4 ± 1,5	–
ГДК	5,0	–	10,0	–	5,0	–	10,0	–

Таблиця 3 Вміст свинцю та кадмію в зразках лікарських рослин

Table 3 The content of lead and cadmium in samples of medicinal plants

Місце відбору зразків	<i>Taraxacum officinale</i>				<i>Cichorium intybus</i>			
	свинець, мг/кг		кадмій, мг/кг		свинець, мг/кг		кадмій, мг/кг	
	1х	Кбп	1х	Кбп	1х	Кбп	1х	Кбп
Київ “Жуляни”	0,98 ± 0,2	0,07	0,64 ± 1,8	1,9	4,82 ± 0,2	0,4	2,01 ± 0,04	6
Ніжин САЗ	0,62 ± 0,03	0,05	0,17 ± 0,02	1	1,03 ± 0,4	0,08	0,25 ± 0,03	1,4
Фітопрепарат	1,82 ± 0,1	–	0,27 ± 0,03	–	1,15 ± 0,2	–	0,39 ± 0,03	–
ГДК	0,5	–	0,03	–	0,5	–	0,03	–

Результати досліджень показали, що вміст важких металів у рослинній сировині перевищує гранично-допустимі концентрації, це свідчить про високий рівень акумуляції іонів металів. Згідно з даними Кбп інтенсивність накопичення металів рослинами в середньому можна розташувати у такому порядку КбпCd > КбпCu > КбпZn > КбпPb.

Для того, щоб вивчити адаптаційний потенціал, зокрема рослинного організму, потрібно знати, якою є реакція організму на відхилення того чи іншого фактора від норми, які механізми сприяють пристосуванню до мінливих умов середовища.

Велику роль у процесі адаптації до дії антропогенного навантаження, в тому числі до підвищеного вмісту важких металів, відіграють біологічно активні сполуки первинного обміну

(Георгиевский, 1990). Зміни умов середовища відображаються на кількісних показниках біологічно активних речовин, зокрема ліпідів. Ліпіди є одним з головних компонентів біологічних мембран, які взаємодіють із середовищем.

Дослідження жирнокислотного складу ліпідів дає можливість оцінити вплив умов зростання на рослини і може бути використаним як один із показників екологічного моніторингу території та адаптогенної спроможності організму.

Таблиця 4 Жирнокислотний склад ліпідів в зразках лікарських рослин, %
Table 4 Fatty acid composition of lipids in samples of medicinal plants, %

Кислота	<i>Taraxacum officinale</i>			<i>Cichorium intybus</i>		
	місце відбору зразків			місце відбору зразків		
	Київ "Жуляни"	Ніжин САЗ	Фітопрепарат	Київ "Жуляни"	Ніжин САЗ	Фітопрепарат
C14:0	3,9	6,9*	2,9	7,3	6,8	5,7
C15:0	1,9	2,8	1,4	4,4	2,9	3,4
C16:0	40,8	41,7	40,8	44,1*	39,8	39,7
C17:0	0,9	1,4	03,7	1,5	1,9	1,1
C18:0	4,8	6,9*	4,4	5,9	4,8	2,3
C18:1	34,9*	30,6*	37,9	26,5*	31,2*	36,5
C18:2	11,56	8,3*	10,9	8,8	11,6	10,2
C18:3	1,2	1,4	1,0	1,5	1,0	1,1
Σ НЖК	52,3	59,7*	50,2	63,2*	56,2*	52,2
Σ ННЖК	47,7	40,3	4,98	36,8*	43,8	47,8
Σ ПНЖК	12,8	9,7*	11,9	10,3	12,6	11,3

* вірогідна різниця з контролем

Згідно з даними таблиці 4, жирнокислотний склад ліпідів кульбаби лікарської має зміни тільки для умов біля Ніжинського аеродрому, так має місце зростання вмісту міристинової ЖК в 2 рази, стеаринової ЖК на 57 %, та зниження вмісту олеїнової ЖК на 20 % і лінолевої ЖК на 24 %, що обумовлює зростання суми насичених ЖК на 19 % на фоні зниження суми ПНЖК на 19 %. Таким чином, умови зростання впливають на біохімічні параметри біологічно активних речовин для кульбаби лікарської, можливо це спричинено процесом адаптації рослин до умов урбанізованого середовища.

Згідно з отриманими результатами умови зростання впливають на жирнокислотний склад ліпідів цикорію дикого і відрізняються від аптечної проби зміною вмісту пальмітинової ЖК, а також зниженням олеїнової ЖК на 15 і 27 % відповідно, що обумовлює зростання суми насичених ЖК на 8 і 21 % відповідно. Проведені дослідження свідчать про те, що цикорій більш витривалий до несприятливих умов зростання.

Висновки

В ґрунті вміст важких металів не перевищує гранично допустимих концентрацій. Важкі метали за інтенсивністю накопичення рослинами розташовуються в наступному порядку: КбпCd > КбпCu > КбпZn > КбпPb. Властивість досліджених рослин акумулювати важкі

метали може бути використана як один із методів фітореміністрації та фітомоніторингу середовища.

Дослідження вмісту насичених та ненасичених жирних кислот в рослинній сировині може свідчити про реакцію рослинного організму на стрес і як наслідок необхідності подальшого вивчення процесу адаптації рослини до умови місця зростання.

Аналіз механізмів адаптації певних видів лікарських рослин, що зростають на урбанізованій території надає можливість з'ясувати рівень надходження через ґрунт до рослин важких металів, рівень біологічної стійкості рослин до забруднення. Тому в подальших дослідженнях буде проводитись робота з вивчення якісних та кількісних зв'язків інших біологічно активних сполук з адаптогенними властивостями рослин.

Література

- Брузгіна, Т.С., Гаркава, К.Г., Довгопола, К.А. 2013. *Спосіб визначення жирнокислотного складу ліпідів кульбаби та цикорію*. Патент 82299 Україна, МПК G01N 33/00. №201302230; заявл. 22.02.2013; опубл. 25.07.2013. Бюл., № 14. 4 с.
- Георгиевский, В.П. 1990. *Биологически активные вещества лекарственных растений*. Новосибирск: Наука. 333 с. ISBN: 5-02-029240-0.
- Кобзар, А.Я. 2007. *Фармакогнозія в медицині*: Навч. посіб. К.: Медицина. 544 с. ISBN 966-8326-44-X. 67.50 р.
- Ковальов, В.М., Павлій, О.І., Ісакова, Т.І. 2004. *Фармакогнозія з основами біохімії рослин. Підруч для студ вищ фармац навч закл та фармац ф-тів вищих мед навч закл III–IV рівнів акред (2-е вид)*. Х Вид-во НФаУ, МТК-книга. 704 с. ISBN 966-96114-9-0.
- Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства*. Изд. 2-е, перераб. и доп. Москва. 61 с.
- Овчаренко, М.М. 1997. *Тяжелые металлы: в системе почва-растение-удобрение*. Издательство : М.: «Пролетарский светоч». 290 с. ISBN 5889340166.
- Перельман, А.И., Касимов, Г.Н. 1999. *Геохимия ландшафтов*. М.: «Астрей». 768 с. ISBN 5-7594-0077-0.
- Петрук, В.Г., Васильківський, І.В., Іщенко, В.А., Петрук, Р.В., Турчик, П.М. 2013. *Нормування антропогенного навантаження на навколишнє середовище*. Частина 1. Нормування інгредієнтного забруднення: навчальний посібник. Вінниця : ВНТУ. 253 с.



ARTEMISININ AND TOTAL FLAVONOID CONTENT IN *IN VITRO* CULTIVATED *ARTEMISIA ANNUA* L. "HAIRY" ROOT CULTURE

Drobot Kateryna^{1*}, Matvieieva Nadiia¹, Kharkhota Maxim², Shakhovsky Anatolii¹, Ratushnyak Yakiv¹

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 20. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

In this paper artemisinin and total flavonoid content in *in vitro* cultivated non-transformed *Artemisia annua* L. plants and "hairy" root culture were compared. The amount of total flavonoids was determined using modified Aluminium chloride colorimetric method. Determination of artemisinin in *Artemisia annua* extracts was carried out using HPLC analysis. Transgenic roots of *Artemisia annua* accumulated flavonoids in more degree than the roots (1.8 times higher) and leaves (1.6 times higher) of *in vitro* cultivated control plants. At the same time the control roots synthesized artemisinin four times more (up to 6.5 mg/g dry weight) than "hairy" roots. Owing to the higher growth rate (almost 40 times higher in 3 weeks of cultivation) transgenic roots may be suitable for artemisinin production. The data obtained suggest the possibility of using of *Artemisia annua* "hairy" root culture as a potential source of flavonoids and artemisinin.

Keywords: *Artemisia annua* L.; *in vitro* cultivation; "hairy" root culture; artemisinin; flavonoids

Introduction

It is known that oxidative stress is one of the essential factors of aging and development of degenerative diseases. Free radicals, generated under oxidative stress conditions are able to oxidize biomolecules and may cause DNA damage and lipid peroxidation. These processes initiation may results in mutagenesis and cell death (Lobo et al., 2010). Natural antioxidants, such as flavonoids, help to prevent oxidative stress induced deterioration (Cotelle, 2001). Plants are an effective source of natural antioxidants. However, plants and herbs vary in their antioxidant capacity, because of species, varieties, growth conditions, genetics, etc.

Sweet wormwood (*Artemisia annua* L.) – belongs to Asteraceae family and is native to temperate Asia. This species was naturalized in many countries including Ukraine (Boiko, 2013). Interest to *Artemisia annua* plants is related to the extraction of high-efficient antimalarial compound artemisinin from the leaves of this plant (Tu, 2011). *A. annua* plants can be used also as a source of other biologically active compounds.

It was studied that *Artemisia annua* extracts possess antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activities due to the presence of essential oils, phenols, flavonoids and other bioactive substances (Mueller et al., 2000). Moreover synergetic effects of flavonoids combined with artemisinin were demonstrated in cancer treatment. (Ferreira et al., 2010). Over 40 flavonoids were found in *Artemisia*

***Corresponding author:** Kateryna Drobot, Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ katyadrobot@gmail.com

annua. Eupatin, quercetin, apigenin, rutin, luteolin, kaempferol are among them. Therefore phytochemical study of sweet wormwood roots is of great interest. Biotechnological interventions may be helpful to increase the value of *Artemisia annua* plants (Grech-Baran and Pietrosiuk, 2012).

“Hairy” root culture is a type of plant tissue culture, which could be obtained via *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation. It is considered to be an alternative way for producing valuable plant-derived compounds (Srivastava and Srivastava, 2007). «Hairy» root culture is characterized by unlimited and fast growth without use of exogenous hormones; it is unpretending to the growth conditions and doesn't require lighting; the roots can be cultivated in bioreactors. «Hairy» roots of many species have been reported to produce large variety of secondary metabolites native to plant from which it was derived (Christey, 2001).

The aim of this work was to determine the effect *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation on artemisinin and total flavonoid content and to compare the content of these compounds in *in vitro* cultivated sweet wormwood *Artemisia annua* plants and “hairy” root culture.

Materials and methodology

Leaves and roots of non-transformed *Artemisia annua* plants cultivated in *in vitro* conditions on the hormone free half strength Murashige and Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) (Murashige and Skoog, 1962) basal medium were used for the experiments. “Hairy” roots were obtained earlier and were subcultured every two weeks on the same medium at 24 °C and 16 h/d photoperiod. Growth rate of the of control plants and transgenic root lines was studied after 3 weeks of cultivation of excised root tips on $\frac{1}{2}$ MS medium at the same conditions.

Plant material was collected after 1 month of cultivation, lyophilized and mashed into powder. The amount of total flavonoids in the 70% ethanolic extracts of *Artemisia annua* was determined using modified Aluminium chloride colorimetric method (Pękal and Pyrzynska, 2014). Rutin was used as standard, and the results were expressed as rutin equivalents (RE) in milligram per gram of dry weight.

For artemisinin determination *Artemisia annua* herb powder was macerated using ethyl acetate solvent in 1/40 ratio during 20 minutes. The mixture was filtered using vacuum pump. Solution was evaporated using SpeedVac Savant AES 2010 concentrator (Labconco, USA). Precipitate was dissolved in 2 ml of acetonitrile.

Artemisinin and its co-products (ART) analysis was performed using HPLC-MS system. Chromatographic analysis was conducted using equipment of Centre of collective usage of Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine (High-efficiency liquid chromatograph Agilent 1200, Agilent Technologies, USA). The separation was carried out by isocratic method using ZORBAX SB-C18 2.1 mm × 150 mm, 3.5 μ m (Agilent Technologies, USA) column with a 30 °C. Water with methanol and acetonitrile (30/20/50 v/v) were used as a mobile phase with 0.4 ml/min flow-rate. Diode array detector (DAD) wavelength used was set to 210, 280 and 216 nm respectively. The samples were analyzed separately according to their retention times. The spectrum of samples was compared with the spectrum of artemisinin standard (Sigma-Aldrich, catalog number 63968-64-9).

Statistical analysis was performed according to Student multiple range test. Differences from control values were significant at $p \leq 0.05$. Experiment was conducted in three replications.

Results and discussion

In our study flavonoids were found out both in the roots and leaves of non-transformed *Artemisia annua* plants. The amount of this compound was 19.4 ± 1.95 mg/g RE and 22.3 ± 0.83 mg/g RE in roots and leaves respectively.

Flavonoids content in *Artemisia annua* “hairy” root lines varied from 27.5 ± 0.53 mg/g RE to 35.6 ± 1.38 mg/g RE.

All transgenic root lines accumulated flavonoids in amount greater than roots and leaves of the control plants (1.8 times higher and 1.6 times higher respectively). So, the genetic transformation has led to the increase of flavonoids content in *Artemisia annua* “hairy” root lines compared to the wild-type plants.

Artemisia spp. plants are known to synthesize flavonoids. Accumulation of the latter in *Artemisia annua* was mostly studied in the aerial parts (leaves, inflorescence) of *in vivo* grown plants. It was shown, that total flavonoid content may vary in a vast range depending on various factors: part of plant, ontogenesis stage, growth conditions (Baraldi et al., 2008). For example, eupatin content varied in this study from 0.035 mg per 100 g DW at pre-flowering stage up to 0.69 mg per 100 g DW after flowering. According to Skowrya et al. (Skowrya et al., 2014) rutin concentration in *Artemisia annua* extract reached up to 0.765 μ g/g DW, that was much lower than reported in the literature.

Recently it was shown by Dilshad et al. (2016) that transgenic plants of *Artemisia annua* carrying *rol B* gene demonstrated threefold increase in rutin and caffeic acid, sixfold increase in isoquercetin, and fourfold increase in quercetin as compared to the wild-type plants. They suggested that flavonoids content increase was caused by altering the expression level of the genes of flavonoids biosynthetic pathway. In addition, in another study (Bulgakov, 2008), *rol* genes in plant-*Agrobacterium* interactions were shown as potential activators of secondary metabolism in transformed cells from different plant families.

Artemisia annua in vitro cultivated plants synthesized ART. These compounds were found in roots of the control plants. ART content in the roots of *Artemisia annua* wild-type was higher than in “hairy” roots and reached up to 6.5 mg/g DW. ART content in “hairy” roots varied in the range 0.43–1.64 mg/g DW. Thus, transgenic roots accumulated artemisinin and its co-products in lower concentration compared with the control roots.

Comparison of growth rate of transgenic root lines was the next step of our investigation. It appeared that mass increase of non-transformed roots and transgenic roots was 0.005 and 0.104–0.186 g respectively in 3 weeks of cultivation. Due to the differences in the growth rate and artemisinin content in transgenic and control roots, transgenic roots can accumulate 10 times more artemisinin than control roots (0.305 and 0.0325 mg respectively) after 3 weeks of cultivation. Thus, ART accumulation in “hairy” roots of *Artemisia annua* was more effective due to the higher growth rate than in roots of *in vitro* cultivated *Artemisia annua* plants. It is known that “hairy” root culture is unpretending to the growth conditions and doesn't require lighting and exogenous plant hormones, what makes it a potential system for BAS production, e.g. artemisinin.

Conclusions

Our investigation approved that transgenic roots of *Artemisia annua* obtained via *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation can accumulate flavonoids in more degree than non-transformed plants. Transgenic roots accumulated artemisinin and its co-products in lower concentration

compared with the roots of *in vitro* cultivated sweet wormwood, but owing to the higher growth rate they are more suitable for artemisinin production.

The data obtained suggest the possibility of using *Artemisia annua* “hairy” root culture as a source of antioxidants. However, despite the fact that Aluminium chloride colorimetric method is reliable and widely used to determine flavonoid content in the plant material, other antioxidant mechanisms are not captured by the method. Thus, there is an urge to apply several methods to estimate antioxidant potential of extracts.

Acknowledgments

Publication is based on the research provided by the grant support of the State Fund For Fundamental Research, Ukraine (No Ф73/2-2017).

References

- Baraldi, R., Isacchi, B., Predieri, S., Marconi, G., Vincieri, F.F., Bilia, A.R. 2008. Distribution of artemisinin and bioactive flavonoids from *Artemisia annua* L. during plant growth. *Biochem Syst Ecol*, vol. 36, no. 5, p. 340–348. DOI: [10.1016/j.bse.2007.11.002](https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.11.002)
- Boiko, A.V. 2013. Specific features of *Artemisia* L. species distribution of the flora of Ukraine. *Industrial Botany*, vol. 13, p. 73–79. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/67673>
- Bulgakov, V.P. 2008. Functions of rol genes in plant secondary metabolism. In *Biotechnol Adv*, vol. 26, no. 4, p. 318–324. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2008.03.001](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.03.001)
- Christey, M.C. 2001. Use of Ri-mediated transformation for production of transgenic plants. In *In Vitro Cell Dev*, vol. 37, no. 6, p. 687–700. DOI: [10.1007/s11627-001-0120-0](https://doi.org/10.1007/s11627-001-0120-0)
- Cotelle, N. 2001. Role of flavonoids in oxidative stress. In *Curr Top Med Chem*, 1(6), 569–590. DOI: [10.2174/1568026013394750](https://doi.org/10.2174/1568026013394750)
- Dilshad, E., Zafar, S., Ismail, H., Waheed, M.T., Cusido, R.M., Palazon, J., Mirza, B. 2016. Effect of Rol Genes on Polyphenols Biosynthesis in *Artemisia annua* and Their Effect on Antioxidant and Cytotoxic Potential of the Plant. In *Appl Biochem Biotechnol*, 179(8), 1456–1468. DOI: [10.1007/s12010-016-2077-9](https://doi.org/10.1007/s12010-016-2077-9)
- Ferreira, J.F.S., Luthria, D.L., Sasaki, T., Heyerick, A. 2010. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. In *Molecules*, 15, 3135–3170. DOI: [10.3390/molecules15053135](https://doi.org/10.3390/molecules15053135)
- Grech-Baran, M., Pietrosiuk, A. 2012. *Artemisia* species *in vitro* cultures for production of biologically active secondary metabolites. In *BioTechnologia*, 93(4), 371–380. DOI: [10.5114/bta.2012.46591](https://doi.org/10.5114/bta.2012.46591)
- Lobo, V., Phatak, A., Chandra, N. 2010. Free radicals and functional foods: impact on human health. In *Pharmacogn. Rev*, 4(1), 118–126. DOI: [10.4103/0973-7847.70902](https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902)
- Mueller, M.S., Karhagomba, I.B., Hirt, H.M., Wemakor, E. 2000. The potential of *Artemisia annua* as a locally produced remedy for malaria in the tropics, agricultural, chemical and clinical aspects. In *J Ethnopharmacol*, 73(3), 487–493. DOI: [10.1016/S0378-8741\(00\)00289-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00289-0)
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. In *Plant Physiology*, 15(3), 473–497. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)
- Pękal A., Pyrzynska, K. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. In *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782. DOI: [10.1007/s12161-014-9814-x](https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x)
- Skowrya, M., Gallego, M.G., Segovia, F., Almajano, M.P. 2014. Antioxidant Properties of *Artemisia annua* Extracts in Model Food Emulsions. In *Antioxidants (Basel)*, vol. 3(1), 116–128. DOI: [10.3390/antiox3010116](https://doi.org/10.3390/antiox3010116)
- Srivastava, S., Srivastava, A. K. 2007. “Hairy” root culture for massproduction of high-value secondary metabolites. In *Crit Rev Biotechnol*, vol. 27, p. 29–43. DOI: [10.1080/07388550601173918](https://doi.org/10.1080/07388550601173918)
- Tu, Y. 2011. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. In *Nature Medicine*, 17(10), 1217–1220. DOI: [10.1038/nm.2471](https://doi.org/10.1038/nm.2471)



REGULATORY AND MODIFYING ROLE OF NATURAL POPULATIONS OF ENTOMOPHAGES IN BIOCENOSES OF THE EXCLUSION ZONE OF THE CHERNOBYL NUCLEAR POWER PLANT

Drozda Valentin*, Bondarenko Ilona, Zagayko Olga

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 27. 11. 2017

The level of regulatory and modifying role was estimated on example of ecological and trophic interactions of population of aphids and their entomophages – Aphidiidae and Aphelinidae. Long-term researches (1986–2012 years) were conducted in biocenoses of the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. This is primarily, woody and shrub plants, including fruit crops. Seasonal monitoring of aphid populations was carried out by known methods in entomology and parasitology. Regular collections are provided for subsequent identification of aphid species. The level of infection of different stages by parasites was determined in laboratory conditions. The species composition and level of predation were established. The level of regulation of aphids from side of entomophages was determined. This process was evaluated on the basis of statistical materials and biocenotic role of zoophages. The life strategies of aphids and their entomophages were formulated. The researches were carried out by route surveys of habitats and ecosystems in spring, summer and autumn periods and regular observations and counts of entomological populations in nature, followed by laboratory and field experiments. As result of conducted researches were found 9 species of aphids on plants of Rosaceae family. We have established that most of them prone to r-selection with accent on tactics of reproduction and trophic connections. The character and specificity of settlement of aphids on plants were identified. Their trophic specialization with respect to different organs of plants was determined. The character of harmfulness of larvae and aphid adults was investigated in detail. We have established that significant quantity of entomophages with population of aphids ecologically and trophically are associated, mainly various predators: ladybird beetles (Coccinellidae), Syrphidae, gall midges (Cecidomyiidae) and Chrysopidae. The types of functional reaction in system «aphids-aphidophages» were investigated. Modifying role of aphidophages in dynamic of strength of population of aphids was shown. Authors of this article have established that Aphidiidae are manifesting elements of regulatory role sporadically, parasitizing on insignificant part of effective population of aphids.

Keywords: aphids of woody plantings; Aphidiidae; Aphelinidae; functional reaction; regulatory and modifying role

Introduction

The ecosystems and former agrocenoses of the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant function in regime of self-regulation for already more than 30 years. They are exchanging energy and information with various components of ecosystems as thermodynamically open systems. Essentially, it is gigantic natural laboratory for exploring many processes on population and organism levels.

*Corresponding author: Valentin Drozda, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ biomethod@quality.ua

In our view, especially valuable from theoretical and practical side is exploring of mechanisms of «succesio» with use most objective and informative test characteristics. We are talking about complex interactions in triotrophic system with key role of indicators of dynamic of strength of arthropod.

As it is known, the energy flow in trophic chain is directed on the gradient of her dispersion. This vector has clear orientation, from autotrophs to phytotrophs and from phytophages to entomophages. The energy losses on each link of her transmission are 90–99%. However, the most significant in this process and far from obvious is fact that the vector of management between components of ecosystem is similarly oriented (Стадницкий и Бортник, 1979; Дрозда и Гойчук, 2015; Дрозда, 2015a; Дрозда и Сагитов, 2015b).

This fundamental regularity has oriented the process of evolution of adaptations of living organisms to environmental factors. This means that from variety of scenarios the priority in strategy of development of adaptations between producents and consuments is owned by consuments, that is phytophages. Phytophages are controlled by plants completely, as trophic factor and also habitat for them in many cases.

Obviously, that such regularity has developed in the system of consuments of different level too. Judging by this logic, zoophages have developed adaptations not only to the hosts, but also to the fodder sources in process of evolution.

It is generally accepted in ecology that in systems «predator-prey» is observed cyclical process of mutual management of populations. They located on different levels of trophic chain. In this case, the homeostasis of system is supported alternating «inclusion» of positive and negative feedbacks. Such concept goes back to parasitic theory of the dynamic of populations. The outbreaks of mass reproduction occur due to «escape» of their populations out of control of entomophages.

Materials and methodology

Long-term researches (1986–2012 years) were conducted in biocenoses of the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. This is primarily woody and shrub plantings, including fruit crops. An essential feature was that all ecosystems were not subjected to any receptions of economic activity. Seasonal monitoring of aphid populations was conducted by known methods in entomology and parasitology. Regular collecting with following identification of aphid species was carried out. The level of infection by parasites of different stages was determined in laboratory conditions. The species composition and level of predation were established (Адашкевич, 1975; Дорохова и др., 1989). The level of regulation of aphids from side of entomophages was determined. This process was evaluated on basis of statistical materials and biocenotic role of zoophages. The life strategies of aphids and their entomophages were formulated (Яснош, 1975, 1975a, Варли и др., 1978).

The researches by way of route surveys of habitats and ecosystems in spring, summer and autumn periods, regular observations and accounts of entomological populations in nature and laboratory and field experiments were carried out. Identify of the species composition of entomofauna was implemented by way of manual collection on plants and entomological net. In each habitat were carried out 10 of mowing operations with 40 double swings, using entomological net. The species composition of parasites by collecting of mummified aphids and individually isolation of parasites from them in Florinsky test tubes was studied (Лахидов, 1978; Колесова, 1979). The exploring of ecology of aphids and aphidophages, biocenotic relationships between them was conducted traditional methodologies (Теленга, 1959; Скуфьин и др., 1962; Дядечко, 1978).

Results and discussion

On plants of family of Rosaceae with prevalence of pome cultures were identified 9 aphid species. These are such species as green apple aphid (*Aphis pomi* Deg.), apple-grass (oat-apple) aphid (*Rhopalosiphum insertum* Walk.), rosy (apple) aphid (*Dysaphis mali* Ferr.), *Ovatus insitus* Walk., *Dysaphis anthrisci* C. B., *Dysaphis reamuri* Mordv., *Schizaphis puri* Shap., woolly pear aphid (*Eriosoma lanuginosum* Hart.), pear-hogweed (parsnip root) aphid (*Anuraphis subterranea* Walk.), rosy leaf-curling aphid (*Dysaphis devector* Walk.). These species are biologically heterogeneous. As it is known, according to type of life cycle they are divided into species with full cycle of development (monoecious, dioecious) and incomplete cycle. The typical representatives with monoecious life cycle are green apple aphid and rosy leaf-curling aphid.

Most fruit aphids develop by type of dioecious cycle. In biology of aphids developing in ecosystems of the exclusion zone has been noted nothing significant. They hibernate in stage of egg on fruit crops. «The founders» from eggs appear early in spring. They are developing in 2–4 and more generations.

Let us dwell on aphid relationships with numerous natural populations of entomophages, in particular predators. Aphids are developing on all parts of fruit trees: on leaves, flowers, fruits, bark of trunks, branches and roots. Most species inhabit on leaves and young not stiff shoots. The leaves are twisting, deformed, changed colour, prematurely withered and showered in case of mass settlement. Damaged leaves lag behind in growth strongly. Often they are covering completely with sugar secretions and larval skin of aphids, on which developed sooty fungi. As result, the leaves lose their ability to assimilation.

Young not stiff shoots, which covered with colonies of aphid, develop abnormally and become curved. As result, their winter hardiness is decreasing. As our researches have shown, shoots are damaged especially strongly such species as *dysaphis reamuri*, green apple aphid and rosy (apple) aphid. We have established that the settlement by aphids on fruits of pome cultures in the exclusion zone was not observed. At that time such species as rosy (apple) aphid, rosy leaf-curling aphid and *dysaphis reamuri* are populated immature fruits in industrial gardens. Also in industrial gardens was noted intense colonization by *dysaphis reamuri*, apple-grass (oat-apple) aphid and rosy (apple) aphid on flowers and pedicels. Main factor preventing settlement of aphids on reproductive organs of pome fruit cultures is activity of population of entomophages, especially predators, which concentrated on flowers.

Condition of forage plant, weather conditions, activity of entomophages were affected on dynamic of strength of aphids. There are predators, parasites and entomopathogens among natural enemies of aphids. In ecosystems of the exclusion zone predatory insects dominated – Coccinellidae, Syrphidae, Cecidomyiidae and Chrysopidae. The parasites of aphids – Aphidiidae (aphidophages) were met sporadically. Long-term researches by authors showed that in spite of various synoptic anomalies and other stress factors were observed practically no mass outbreaks of aphids in perennial woody plants of the exclusion zone.

The process of asynchronous development of aphids and entomophages during the reactivation of entomocomplex in early spring was observed annually. Usually, the increase of strength of all aphid species, which inhabited on leaves and young shoots, was observed in spring. The quantity and species diversity of population of predatory insects was increased only after 10–13 days.

The well-known regularity about basic regulatory role of polyphagous entomophages at low strength of population of aphids was confirmed (Дорохова и др., 1989). The value of specialized

entomophages is increasing with strength of aphids. It is essential that the capacity of environment almost never was close to saturation in the exclusion zone. It means that mechanisms of intraspecific competition for feed were excluded. In period of increasing of strength of aphid populations were activated entomophage populations proportionally. In this case, the level of strength and intensity of parasitism and predation of entomophages was determined by functional and numerical reaction of parasites to growth of density of hosts. Functional reaction denotes increasing in the number of hosts, infected by one individual of parasite. Numerical reaction is concentration of parasites in places of accumulation of hosts, as well as the growth of strength of entomophages in subsequent generations (Solomon, 1949; Гурьянова, 1977, 1978, 1984; Дрозда, 2015a). The phenomenon of functional and aggregative reaction is determined genetically, but with significant reaction rate.

The researches of Holling (1959) were showed presence of three types of functional reaction. The first type is characterized that the quantity of victims with growth their density increases linearly, then breaks off abruptly and exits to plateau. The second type of functional reaction is curvilinear rapid increase by quantity of victims with gradual slowdown. The third regularity is manifested in sigmoid form. The second type of functional reaction is considered universal for parasitic species (Holling, 1959a). Practically all three types of functional reaction were confirmed experimentally by our researches in population of aphids and entomophages in ecosystems of the exclusion zone.

Ecological and physiological essence of this phenomenon determines level of regulatory and modifying role of entomophages. Significant is the fact that population and individual stability of aphids in relation to entomophages was shown distinctly. Usually, effective part is from 20.8 to 35.4% of aphid populations of the composition of each species.

These are highly viable individuals, which practically were not populated by entomophages. The trophic substrate of entomophages is physiologically weak part of aphids. This is pronounced in relation to predators especially distinctly. The predators destroy them almost completely. A somewhat different regularity is manifested in relationships of aphids and Aphidiidae, Aphelinidae. The females of these parasites, especially physiologically motivated, cut off 17.4–22.5% of effective part of population of aphids, while exhibiting elements of regulatory role.

Coccinellidae feed exclusively on aphids of Homoptera: *Adalia decempunctata* L., *Adalia bipunctata* L., *Calvia quatuordecimguttata* L., *Halyzia sedecimguttata* L., *Scymnus ater* Kug., *Scymnus auritus* Thund., *Scymnus rubromaculatus* Gz., *Scymnus subvillosus* Gz., *Synharmovia conglobata* L., *Synharmovia lyncea* A. Ol., *Coccinella septempunctata* L. and other. The ecosystems of the exclusion zone have visited more than 30 species of ladybirds facultatively or continuously.

Syrphidae (Diptera) are playing significant role in reducing strength of aphids. The speed of development, high voracity and great fertility makes it possible to attribute of Syrphidae with Coccinellidae to the number of very effective aphidophages. Among other predators should be noted gall midges (family Cecidomyiidae). Larvae of *Aphidoletes aphidimyza* R. are unspecialized aphidophages. They use more than 60 species of aphids, mostly fruit. One larva destroys from 35 to 90 aphid individuals during period of his development. The family of Chamaemyiidae was noted also. The larvae of this family feed on many aphids. Chamaemyiidae give 3 to 4 generations during year. Among the predators of garden phytophages differs family of Chrysopidae by strength and quantity of species. They occupy 3–4 places. The larvae were distinguished by polyphagia and voracity. The larva destroys 250 to 500 aphids during her development. *Chrysopa carnea* Steph. is received most widespread in ecosystems of the exclusion zone.

Conclusions

As result of experimental researches 9 species of aphids were identified on plants of family Rosáceae in the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. Most of them were exposed to r-selection and characterized by high strength and harmfulness. The character and specificity of plant colonization by aphids, their specialization in relation to different organs and high level of harmfulness were established. Ecologically and trophically with aphid populations is associated significant quantity of entomophages – parasites and predators: Aphelinidae and Aphidiidae. The character of trophic interactions between aphids and their entomophages was investigated. Three types of functional reaction in the «aphids–aphidophages» system were established. The modifying role of aphidophages in dynamic of strength of aphid populations was shown. Parasitic Aphidiidae is manifested elements of regulatory role sporadically, parasitizing on insignificant part of effective population of aphids. The most significant representatives of predatory arthropods, which ecologically and trophically associated with aphid populations on woody plants in the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant, were shown.

References

- Holling, C.S. 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Canad. Entomol.*, vol. 91, no. 7, p. 385–398.
- Holling, C.S. 1959a. The components of predation as revealed by a study of small mammal predation of the European pine sawfly. *Canad. Entomol.*, vol. 91, no. 7, p. 293–320.
- Solomon, M.E. 1949. The natural control of animal populations. *J. Anim. Ecol.*, vol. 18, no. 1, p. 1–35.
- Адашкевич, Б.П. 1975. *Энтомофаги вредителей овощных культур*. Афидофаги. М., Колос. 190 с.
- Варли, К., Градуэлл, Дж. Р., Хассел, М.П. 1978. *Экология популяций насекомых*. М., Колос. 222 с.
- Гурьянова, Т.М. 1977. Реакции *Nemosturmia atoeana* (Diptera, Tchinidae) на плотность популяции сосновой совки (*Panolis flammea*). *Зоол. журн.*, т. 56, № 1, с. 72–78.
- Гурьянова, Т.М. 1978. Адаптивное поведение *Exenterus abruptorius* Thunb. (Hymenoptera, Ichneumonidae) и ее функциональная реакция на плотность популяции хозяина *Neodipron sertifer* Geoffr. (Hymenoptera, Ichneumonidae). *ДАН СССР*, т. 240, № 6, с. 1493–1496.
- Гурьянова, Т.М. 1984. Поведенческие механизмы взаимоотношений у паразитов-энтомофагов с хозяевами и регуляция численности насекомых. *Сб. Поведение насекомых*. М., Наука. с. 95–118.
- Дорохова, Г.И., Карелин, В.Д., Кириак, И.Г. 1989. Полезная фауна плодового сада. *Справочник*. М., Агропромиздат, 319 с.
- Дрозда, В.Ф., Гойчук, А.Ф. 2015. Біорізноманіття лісових екосистем та біологічний захист дібров від лускокрилих фітофагів. *Міжнародна конференція «Інноваційний розвиток АПК України: проблеми та їх вирішення»*. Житомир. с. 201–205.
- Дрозда, В.Ф. 2015а. Біорізноманіття, як функція стійкості екосистем: теоретичні аспекти проблеми. *Міжнародна наукова конференція «Інтегрований захист та карантин рослин. Перспективи розвитку в ХХІ столітті»*. Київ, НУБіП, с. 198–200.
- Дрозда, В.Ф., Сагитов, А.О. 2015б. Характеристики жизненных стратегий карпофагов в контексте защиты садов в условиях Украины и Казахстана. *Международная научная конференция «Инновационные экологически безопасные технологии защиты растений»*. Казахстан, Алматы, с. 98–108.
- Дядечко, Н.П. 1978. Сохранение и использование энтомофагов в агроценозах. *Защита растений*, вып. 2, с. 22–23.
- Колесова, Д.А. 1979. *Борьба с тлями в плодовом саду*. Воронеж. ЦЧКИ. 52 с.
- Лахидов, А.И. 1978. Яблонные тли. *Обзор развития вредителей и болезней сельскохозяйственных*

культур в 1978 г. и прогноз их появления в 1979 г. в Воронежской области и меры борьбы с ними. Воронеж. с. 40–41.

Скуфьин, К.В., Зимина, Л.В., Переяславцева, А.Б. 1962. Материалы по фауне сирфид (Diptera, Syrphidae) Воронежской области в связи с их значением как ландшафтных насекомых. Воронеж. *Охрана природы ЦЧП*, т. 4, с. 165–173.

Стадницкий, Г.В., Бортник, А.М. 1979. Энтомологические проблемы защиты таежных лесов. Изд. вузов. *Лесн. журн.*, № 3, с. 5–13.

Теленга, Н.А. 1959. Пути реализации химической борьбы с вредителями в направлении сохранения полезных энтомофагов. Киев. *Науч. тр. Украинского НИИЗР*, т. 8, с. 87–96.

Яснош, В.А. 1975. Афелиниды. *Защита растений*, № 3, с. 40–42.

Яснош, В.А. 1975а. Трофические связи и поведение афелинид (Hymenoptera, Aphelinidae). *Сб. Поведение насекомых как основа для разработки мер борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства*. Институт зоологии АН УССР, с. 207–213.



THE LIFE STRATEGIES AND STRUCTURE OF POPULATIONS OF TORTRIX MOTHS (*LEPIDOPTERA*, *TORTRICIDAE*) IN ECOSYSTEMS OF THE EXCLUSION ZONE OF THE CHERNOBYL NUCLEAR POWER PLANT

Drozda Valentine

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ЖИЗНЕННЫЕ СТРАТЕГИИ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ЛИСТОВЕРТОК (*LEPIDOPTERA*, *TORTRICIDAE*) В ЭКОСИСТЕМАХ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС

Дрозда Валентин

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 27. 11. 2017

The results of long-term researches about features of formation of life strategies and tactics of the population of tortrix moths in ecosystems of the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant were presented. The factors are defining of character and specificity of life strategies of tortrix moths on an axis of r- and K-continuum were analyzed. We collected and identified 38 of tortrix moths of garden and forest ecosystems of the exclusion zone. The physiological monitoring of phytophages suggested determination of the mass of pupae, fecundity, and content of lipids in caterpillars of rose tortrix moth. The structure and character of oogenesis of females of rose tortrix moth were researches in detail. The obtained data were compared with similar indicators of tortrix moths of collected in industrial gardens. The level of vitality of tortrix moths of collected in the exclusion zone exceeds significantly indicators of insects from industrial gardens. The expressed activity of native populations of entomophagous, which develops in the exclusion zone with an insignificant manifestation of entomopathogens was noted. The entomopathogens infected more intensively pupae of industrial gardens. This is due to with the physiological condition of tortrix moths. The indicative were materials of physiological monitoring of populations of tortrix moths, which selecting in ecosystems of the exclusion zone. On indicators of the mass of pupae, of the fecundity of females and content of lipids in caterpillars of rose tortrix moth was observed a significant excess of them in comparison with populations, which developing in industrial gardens. The ecological and trophic conditions of ecosystems of the exclusion zone are optimizing vital parameters of tortrix moths, which have developed here.

Keywords: populations of Tortrix moths; the exclusion zone; entomophagous; entomopathogens; viability; fecundity of females; content of lipids

Введение

Один из возможных путей относящихся к рассматриваемой проблеме с экологических позиций – разработка и научные обоснования способов биоиндикации антропогенных

***Corresponding author:** Valentine Drozda, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ biomethod@quality.ua

воздействий на природные экосистемы и составляющие их компоненты. Биоиндикация – это обнаружение и определение биологически и экологически значимых антропогенных нагрузок на основе реакций на них живых организмов и их сообществ (Кривоуцкий, 1994). В полной мере это относится ко всем видам антропогенных загрязнений. Особое место среди специфических загрязнений занимают все формы радиационных воздействий.

Импактный мониторинг – наблюдение воздействий на природные среды, биологические объекты и экосистемы от определенного источника эмиссий. В представленных материалах речь идет о специфическом воздействии последствий Чернобыльской аварии на характер развития популяций садовых листоверток. Излагаются материалы исследований, полученных на протяжении 20-ти лет.

Системы импактного мониторинга для популяций листоверток включают в себя средства наблюдения факторов воздействия и состояния природных сред и объектов, попадающих в зону влияния рассматриваемого объекта. К факторам воздействия, наблюдения которых проводятся в рамках импактного мониторинга, относятся: ионизирующие излучения, обусловленные радиоактивным загрязнением природной среды.

Материалы и методы

Проведена серия полевых и лабораторных исследований с отбором проб различных стадий развития листоверток из садов зоны отчуждения ЧАЭС. Использовались традиционные визуальные и инструментальные методы мониторинга (Васильев и Лившиц, 1984). В древесных насаждениях зоны отчуждения, а это яблони, груши, смородина черная, дуб обыкновенный, собирали яйцекладки, гусениц и куколок листоверток-филлофагов и ксиллофагов. Отлавливали имаго с использованием феромонных ловушек с синтетическими диспенсерами (Кузнецов, 1972; Кузнецов и Севастьянов, 1983). В лабораторных условиях определяли их жизнеспособность. При этом устанавливали смертность и причины гибели – энтомофаги, энтомопатогены, другие факторы (Дорохова и др., 1989). Оценивали предикторы физиологического мониторинга (Дрозда, 2001, 2015). Определяли массу куколок, плодовитость и содержание липидов в гусеницах розанной листовертки (*Archips rosana* L.). Путем прижизненного препарирования гонад самок листоверток детально исследовали и характер оогенеза самок (Дрозда и Кочерга, 2015). Исследовали герминативную ткань гонад самок (Дрозда, 2001). Анализировали факторы, определяющие характер и специфику жизненных стратегий листоверток на оси r- и K-континуума (Macarthur and Wilson, 1963; Margalef, 1990).

Результаты и их обсуждение

В результате многолетнего изучения фауны листоверток садовых и лесных экосистем зоны отчуждения ЧАЭС выявлено 38 видов семейства Tortricidae. Из этого числа 22 вида экологически и трофически связаны с яблоней. Это розанная (*Archips rosana* L.), всеядная (*A. podana* Sc.), пестрозолотистая (*A. xylosteana* L.), боярышниковая (*A. crataegana* Hb.), листовертка-толстушка яркая (*A. decretana* Tr.), листовертка-толстушка сосновая (*A. piceana* L.), сетчатая (*Adoxophyes orana* F.R.), свинцовополосая (*Ptycholoma lecheana* L.), ранневесенняя (*Tortricodes tortricella* Hb.), заморозковая (*Exapate congelatella* Cl.), дубовая палевая (*Aleimma loeflingiana* L.), дубовая зеленая (*Tortrix viridana* L.), плоская-дубовая (*Acleris guercinana* Z.), пугливая (*Ancyliis achatana* Den. u. Schiff.), смородинная (*Pandemis cerasana* Hb.), ивовая кривоусая (*P. hepatana* Denn. et. Schiff.), дымчатая (*Choristoneura diversana* Hb.), подкорковая (*Enarmonia formosana* Sc.), почковая (*Spilonota ocellana* F.), плоская-сетчатая (*Acleris rhombana* Denn. et. Schiff.), плоская трехточечная (*A. sparsana* Denn. et. Schiff.), разноцветная плодовая (*A. variegana* Den. u. Schiff.), расписная (*Apotomis linana* Den. u. Schiff.), лобезия обыкновенная (*Lobesia reliquana* Hb.), изменчивая (*Epipotia solangiana* L.), почкоед-березовая, дубовая серая (*Zeiraphera diniana* Gn.), почковая осиновая (*Gibberifera simplana* F.), золотисто-буряя (*Eucosmomorbha albersana* Hb.), яблонная

(*Laspeyresia pononella* L.), грушевая (*L. pyrivora* Danil.) и сливовая (*Grapholitha funebrana* Fr.) плодожорки. Видовую идентификацию проводили согласно наиболее авторитетным публикациям (Маркелова, 1957; Данилевский и Кузнецов, 1968; Костюк, 1968; Кузнецов, 1972; Лившиц, Петрушова, 1979; Николаева, 1999; Бичина и Гончаренко, 1981; Audemard, 1976).

Среди комплекса листоверток наиболее многочисленна группа филлофагов, объединяющая 22 вида. В насаждениях зоны отчуждения все они моноцикличны (Дрозда и Сагитов, 2015; Дрозда, 2016). Гусеницы питаются листьями и поверхностной тканью плодов. Часть из них зимует в стадии яйца (розанная, сетчатая, пестрозолотистая, разноцветная плодовая, боярышниковая, заморозковая). Остальные – в стадии гусениц. Детально исследована фенология листоверток в зоне отчуждения. В этом отношении нет принципиальной разницы в сроках развития листоверток в зоне отчуждения и за ее пределами (Дрозда и Ющенко, 2010; Дрозда и др., 2015).

Особенности их развития зависят от природно-климатических условий. В то же время детальное изучение экологических и физиологических характеристик листоверток в этих экосистемах позволили выявить особенности в индивидуальном и популяционном уровнях.

Материалы таблицы 1 иллюстрируют эти закономерности. Исследовались показатели жизненной стратегии розанной листовертки в экосистемах зоны отчуждения и за ее пределами, в промышленных садах.

Таблица 1 Экологические и физиологические характеристики популяций розанной листовертки

Table 1 The ecological and physiological characteristics of populations of rose tortrix moth

Трофический ресурс гусениц листоверток	Оценочные предикторы, смертность, %						
	Выживаемость гусениц, %	энтомофаги	энтомопатогены	другие причины	масса куколок, мг	плодовитость самок, экз.	содержание липидов, % на сухую массу
Зона отчуждения ЧАЭС							
Яблоня	68,9	20,2	5,9	5,0	32,4	141,4	25,7
Груша	59,6	24,4	13,0	3,0	29,2	130,7	21,8
Смородина черная	63,7	27,6	3,4	5,3	30,7	134,6	23,8
Дуб обыкновенный	70,2	19,8	3,6	6,4	33,1	144,5	25,4
Промышленные сады за пределами зоны отчуждения							
Яблоня	59,2	11,3	14,6	17,9	28,9	128,3	21,2
Груша	50,6	14,6	15,7	19,1	26,7	119,8	19,8
Смородина черная	57,3	14,8	11,7	16,2	26,4	120,2	20,9
Дуб обыкновенный	67,7	16,7	4,5	11,1	30,5	131,4	24,7

Исходные данные – четыре различных трофических источника – древесные и кустарниковые растения. Установлено, что уровень жизнеспособности популяций розанной листовертки, развивавшейся в экосистемах зоны отчуждения существенно превосходил показатели

популяций, которые развивались за пределами зоны отчуждения. Основная причина смертности листоверток в период диапаузирования и зимовки – деятельность энтомофагов, энтомопатогенов и температурных аномалий. Существенным при этом было то, что уровень заражения энтомофагами разных стадий листоверток в экосистемах зоны отчуждения был в 1,5 – 2,0 раза выше, чем за пределами зоны. В то же время, энтомопатогены, в свою очередь, были причиной гибели значительной части популяций в промышленных садах. Это свидетельствует о том, что популяции розанной листовертки в зоне отчуждения характеризовались довольно высоким уровнем жизнеспособности. Их гусеницы и куколки характеризовались выраженными физиологическими и биохимическими показателями.

Достаточно сказать, что уровень содержания липидов в гусеницах розанной листовертки развивающихся в зоне ЧАЭС, на 10,1 – 21,2 % превышал аналогичный показатель популяций листоверток промышленных садов. Существенно возростала масса куколок листовертки в зоне ЧАЭС по сравнению с популяциями промышленных садов. Показатель превышения массы куколок увеличивался на 8,5 – 16,2 %. Различия статистически достоверны. Как результат, самки, развивающиеся в экосистемах зоны отчуждения, характеризовались значительным репродуктивным потенциалом. Реальная их плодовитость на 9,1 – 12,2 % превышала аналогичные показатели самок, чье развитие происходило в промышленных садах.

Проведенные исследования показали, что уровень заражения листоверток (яйца, гусеницы и куколки) энтомофагами, отобранных из зоны отчуждения, на 18,5 – 89,5 % превосходил показатель плодовитости самок, отобранных из промышленных садов. В то же время, по показателям заражения разных стадий развития розанной листовертки различными энтомопатогенами, выявлена противоположная закономерность. Гусеницы и куколки листовертки, собранные в промышленных садах, были значительно более восприимчивы к действию нативных популяций энтомопатогенов. Объясняется этот феномен тем, что физиологически ослабленные популяции, а это те, которые развивались в промышленных садах, гораздо интенсивнее заражались энтомопатогенами. Разнообразные стрессовые факторы, преимущественно антропогенного характера – агротехнические приемы, обрезка деревьев и, главное, многократное использование пестицидов – факторы, дестабилизирующие популяционную структуру листоверток промышленных садов. Значительная их часть – физиологически неполноценная и восприимчива к заболеваниям. В то же время популяции энтомофагов в зоне отчуждения имеют хороший трофический ресурс, в виде физиологически полноценных яиц, гусениц и куколок, заражая их при этом от 19,8 до 27,6 %.

Однако, роль энтомофагов и энтомопатогенов в сравниваемых экосистемах, как природного регуляторного фактора, только модифицирующая. Это означает, что ни энтомофаги, ни энтомопатогены не способны существенно снизить общую численность листоверток. Трофический ресурс зоны отчуждения, безусловно близкий к оптимальному, по отношению к популяциям листоверток, чем тот, который формируется в промышленных садах.

Таким образом, многолетний мониторинг комплекса листоверток экосистем зоны отчуждения ЧАЭС свидетельствует об их динамической, волновой структуре, исключающий резкие всплески их численности и внезапные затухания. Они лишь только утилизируют определенную часть фитомассы растений, которая восстанавливается компенсаторными механизмами экосистем.

Выводы

На основании многолетних исследований установлен видовой состав комплекса листоверток экосистем зоны отчуждения ЧАЭС. При этом выявлено 38 видов листоверток, из которых 22 вида экологически и трофически связаны с яблоней.

Установлено, что среди комплекса листоверток наиболее многочисленна группа филлофагов, объединяющая 22 вида. По характеру сезонного развития все они моноциклические и подвержены

преимущественно К-отбору. На основании результатов экологических и физиологических исследований показано, что популяция розанной листовертки, развивающаяся в экосистемах зоны отчуждения по всем тестовым характеристикам превосходят популяции розанной листовертки, которые развивались в промышленных садах.

Установлено также, что уровень заражения энтомофагами разных стадий листоверток в экосистемах зоны отчуждения был в 1,5 – 2,0 раза выше, чем за пределами зоны. Причиной смертности листоверток в промышленных садах были в основном энтомопатогены. Акцентируется внимание на том, что роль энтомофагов и энтомопатогенов в сравниваемых экосистемах, как природного регуляторного фактора, только модифицирующая.

Литература

- Audemard, H. 1976. Etude demoecologique de *Carpocapsa pomonella* L. en verger de pommiers de bosse. Vallée du Rhône. Possibilités d'organisation d'une lutte intégrée. Tours (France), 365 p.
- Mac Arthur, R.N., Wilson, E.D. 1963. An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution*, vol. 17, p. 373–378.
- Margalef, R. 1990. *La Biosfera entre la termodinámica y el juego*. Barcelona: Omega, 236 p.
- Бичина, Т.И., Гончаренко, Э.Г. 1981. *Садовые листовертки и их энтомофаги*. Кишинев, Изд.: «Карта Молдавии», 150 с.
- Васильев, В.П., Лившиц, И.З. 1984. *Вредители плодовых культур*. М.: Колос, 399 с.
- Данилевский, А.С., Кузнецов, В.И. 1968. Листовертки Tortricidae, триба плодожорки Laspeyresini. *Фауна СССР. Л.: Изд. Наука*, вып. 1, 635 с.
- Дорохова, Г.И., Карелин, В.Д., Кириак, И.Г. 1989. Полезная фауна плодового сада. *Справочник*. М.: Агропромиздат, 319 с.
- Дрозда, В.Ф. 2001. Биоценологические обоснования интегрированной защиты плодовых насаждений от фитофагов в Лисостепи Украины: дисс. доктора с.-х. наук, Киев, 405 с.
- Дрозда, В.Ф. 2015. Континуальная структура популяций яблонной плодожорки *Laspeyresia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). *Материалы Всероссийской конференции «Биогеосистемная экология и эволюционная биогеография»*, г. Новосибирск, с. 56–58.
- Дрозда, В.Ф. 2016. Сукцессионные адаптации популяций яблонной плодожорки (*Laspeyresia pomonella* L.) в садах зоны отчуждения ЧАЭС. *Biodiversity after the Chernobyl accident*, Part 2, p. 74–78.
- Дрозда, В.Ф., Кочерга, М.О. 2015. Концептуальні проблеми технологій захисту ягідників та алгоритм їх реалізації в системі органічного садівництва в Україні. *Науковий журнал НУБіП України «Біоресурси та природокористування»*. Київ, т. 7, № 1-2, с. 67–76.
- Дрозда, В.Ф., Сагитов, А.О. 2015. Характеристики жизненных стратегий карпофагов в контексте защиты садов в условиях Украины и Казахстана. *Международная научная конференция «Инновационный экологически безопасные технологии защиты растений»*. Казахстан, г. Алматы, с. 98–108.
- Дрозда, В.Ф., Гойчук, А.Ф., Брайко, В.Б. 2015. Особливості технологій захисту лісопаркових насаджень від листокруток (Lepidoptera, Tortricidae). *Міжнародна конференція «Екологічний стан лісових насаджень України»*, м. Харків, с. 103–104.
- Дрозда, В.Ф., Ющенко, Л.П. 2010. Сливовая плодожорка. *Біологія, екологія, контроль чисельності*. Київ, 152 с.
- Костюк, Ю.А. 1968. Листовертки (Lepidoptera, Tortricidae) Украины. Видовой состав, распространение, особенности экологии: автореф. дисс. канд. биол. наук, Киев, 23 с.
- Кривоуцкий, Д.А. 1994. *Почвенная фауна в экологическом контроле*. М.: Наука. 272 с.
- Кузнецов, В.И. 1972. Листовертки (Lepidoptera, Tortricidae) юга Дальнего Востока их экология и значение: автореф. дисс. доктора биол. наук, Л. 29 с.

- Кузнецов, Н.Н., Севастьянов, И.Н. 1983. *Методические рекомендации по определению и учету численности плодовых листоверток*. Ялта, Государственный Никитский ботсад, 25 с.
- Лившиц, И.З., Петрушова, Н.И. 1979. *Рекомендации по учету численности вредителей яблони и прогнозу необходимости борьбы с ними*. М.: Колос. 64 с.
- Маркелова, В.П. 1957. Розанная, заморозковая и другие виды листоверток как вредители плодовых культур и разработка химических мер борьбы с ними в условиях Ленинградской области: автореф. дисс. канд. с-х. наук. Л. 16 с.
- Николаева, З.В. 1992. Садовые листовертки северозападной части Нечерноземной зоны РСФСР и биологическое обоснование мер борьбы с ними: автореф. дисс. канд. биол. наук. Ленинград – Пушкин, 17 с.



EXTRACTION THE ESSENTIAL OIL FROM *JUNIPERUS SABINA* L. GROWING IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA

Elisovetcaia Dina

Institute of Genetics, physiology and plant protection ASM, Chisinau, Republic of Moldova

ЭКСТРАКЦИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА ИЗ *JUNIPERUS SABINA* L., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА

Елисовецкая Дина

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Juniperus sabina L. (Cupressaceae Gray), savin juniper or savin, is a perennial shrub, native to the mountains of central and southern Europe and western and central Asia, from Spain to eastern Siberia. The extracts and essential oil from *Juniperus sabina* find application in the different directions, including medicine, food industry and agriculture. In the Republic of Moldova the species *Juniperus sabina* is widely cultivated and used for the landscape gardening and planting of greenery. As a result of annual green pruning of existing in the republic juniper plantations, it is possible to obtain at least 2–3 tons of raw material, extracts of which possess biological activity. The biological activity of essential oil from species of *Juniperus sabina* growing in Moldova has not been sufficiently studied at the present time, and, moreover, there are no data on the quantitative content of essential oil in it. Therefore, the aim of the study was a comparative analysis of the quantitative content of essential oil in fresh and dried plant materials of the *Juniperus sabina*, growing in the conditions of the Republic of Moldova. Extraction oil from plant raw materials was performed according to a hydrodistillation method (HD) in which the essential oils are evaporated by heating a mixture of water and plant materials at atmospheric pressure, followed by the liquefaction of the vapors in a condenser (reflux) and collection in receiving vessel Ginsberg. It has been found that the amount of essential oil extracted from the plant *J. sabina* significantly depended on the extraction time ($p \leq 0.05$) and was average from 1.47 ml for 1 hour of extraction to 2.16 ml for 2.5 hours (from 100 g dried plant materials in the recount of the absolutely dry weight of the raw materials). In the fresh plant materials of the *Juniperus sabina* amount of essential oil also significantly depended on the extraction time ($p \leq 0.05$) and reached from 1.0 to 2.86 ml (from 100 g fresh plant materials in the recount of the absolutely dry weight of the raw materials). As a result, in the needles (acerouse leaf) of *Juniperus sabina*, growing in the Republic of Moldova, contains not less than 1.1% of essential oil, which is fullest extracted both from fresh and from dried raw materials, during 2.5 hours.

Keywords: essential oil; *Juniperus sabina*; Savin juniper; extraction time; plant extract; dried and fresh plant material

*Corresponding author: Dina Elisovetcaia, Institute of Genetics, physiology and plant protection ASM, Chisinau, Republic of Moldova, ✉ ira_golubkova@mail.ru

Введение

Родиной можжевельника казацкого (*Juniperus sabina* L. (Cupressaceae Gray)) считается горный массив Центральной и Южной Европы, восточная и центральная Азия, Сибирь и Кавказ. Растение предпочитает каменистые склоны, скалы в степном и лесостепном поясах гор.

В настоящее время вид *Juniperus sabina* натурализовался в Юго-Западной, Центральной и Юго-Восточной Европе (кроме Севера), Северной Африке, в Крыму, на Кавказе, в России на Алтае и Урале, в Иране, Казахстане, Кыргызстане, Турции, Монголии, Северном и Северо-Западном Китае (Farjon, 2013; Adams, 2014; Аёшина и Величко, 2004; Щербаков и др., 2014).

Можжевельник казацкий широко культивируется как в декоративных целях, так и в качестве почвопокровного и укрепляющего растения. Среди культивируемых сортов наиболее распространены Blue Danube, Erecta, Mas, Rockery Gem, Tamariscifolia, Variegata, Arcadia, Thomsen и др. Это естественно редкий вид, приуроченный к биотопам с эдафической сухостью. Размножается семенами и вегетативно укоренением ветвей.

Обычно *Juniperus sabina* – низкорослый, стелющийся кустарник от 1,5 до 3,5 м высоты с часто расположенными простертыми ветвями до 1,5 м длины. В природе может произрастать в жизненной форме дерева с изогнутыми стволами и достигать 4 м в высоту. Двудомное, реже однодомное, многолетнее растение (Farjon, 2013). Хвоя у можжевельника казацкого двух типов: у молодых растений и на затенённых ветвях игловидная, прямостоячая, заострённая, 4 – 6 мм длиной, сверху синевато-зелёная, мягкая, с чётко выделяющейся срединной жилкой; у взрослых растений хвоя чешуевидная, расположенная черепитчато. Хвоинки 1,5 – 2(3) мм длиной, 0,5 – 1 мм шириной, эллиптические, заостренные, почти до 2/3 длины, сросшиеся со стеблем. Молодые стебли обычно тоньше 1 мм. Кора: красно-коричневая отслаивающаяся. Микростробилы (мужские шишечки) 2 – 3 мм длиной, 1,5 – 2 мм шириной, овальные, одиночные на концах веточек. Макростробилы (женские шишечки) шаровидные или яйцевидные, более 5 мм длиной, плодоножка изогнутая. Семеношение начинается с 8 лет, нерегулярное. Шишкоягоды поникающие, мелкие (5 – 7 мм), буро-чёрные с сизым налётом, округло-овальные, большей частью двусемянные (могут содержать от 1 до 6 семян). Семена: без заметного хилума, продолговато-трехгранные, желто-бурые до 5 мм длиной (2 – 4,5 мм в ширину) с очень твердой скорлупой (Schulz et al., 2005; Medicinal plants in Mongolia, 2013; Farjon, 2013; Adams, 2008, 2014; Семенютина, 2014; Брагинец, 2016).

Начало вегетации – март-апрель; начало цветения – апрель-май, начало роста побегов – первая декада апреля, фаза активного вегетативного роста июнь – июль; созревание шишко-ягод – вторая половина октября или весна следующего года; окончание роста хвой и побегов (окончание вегетационного периода) – вторая половина – конец октября (Козак, 1993; Семенютина и др., 2014; Брагинец, 2016). Можжевельник казацкий быстро разрастается в ширину, благодаря укоренению горизонтальных, лежащих на поверхности почвы ветвей и образует кусты до 5 – 7 м диаметром (Farjon, 2013). Благодаря этому свойству он подвергается в декоративных целях ежегодной обрезке боковых ветвей. Ранее нами было установлено, что в условиях Республики Молдова при ежегодной обрезке с 1 куста возможно получение минимум до 0,5 кг зеленой массы, а с 1 га возможно получение примерно 150 – 300 кг сухой массы растения для экстракции из нее биологически активных веществ (Елисовецкая и др., 2014).

Можжевельник с давних времен используется в народной медицине, ароматерапии, парфюмерии и пр. Из шишко-ягод изготавливают вино, водку, коньяк, пиво и джин. Из коры и плодов получают красители – зеленовато желтые и цвета хаки. Древесина идет на изготовление мебели, столярных изделий и высокопрочных нитей, из веток вяжут банные веники, а масло можжевельника служит в качестве иммерсионного, а также является главным компонентом лака для изготовления музыкальных инструментов. Благодаря богатому химическому составу из можжевельника получают препараты как медицинского назначения,

обладающие, например, антисептической, цитостатической и противовирусной активностью, так и средства для борьбы с различными вредными видами насекомых (Носов, 2001; Аёшина и Величко, 2004; Farjon, 2005, 2013; Семенютина и др., 2014; Zhao et al., 2016; Nikolic et al., 2016).

Основные действующие вещества хвои и плодов можжевельника казацкого это эфирное масло сабиноль (2,5 – 4,8 %), состоящее из третичного спирта сабинола (от 10 до 50 % состава) и различных терпеновых соединений (до 30 % состава).

Плоды, кроме эфирного масла, содержат до 40% сахаров. В состав *Juniperus sabina* входят также горький гликозид пинопикрин, галловая кислота (которая превращается в пирогаллол), дубильные вещества, флавоноиды, смола, воск, витамин С, органические кислоты, кумарины, флавоноиды (до 2,13 %), лигнаны (Аёшина и Величко, 2004; Мырзагалиева, Медеубаева, 2014; Новиков и др., 2014).

В настоящее время в медицине, пищевой и ликероводочной промышленности наиболее широкое применение нашли плоды можжевельника. По этим причинам количественное содержание и качественный состав эфирных масел из плодов растений *Juniperus sabina* достаточно детально изучаются во всем мире (Писарев, 2005; Мырзагалиева и др., 2014; Щербаков и др., 2014; Hesham et. al., 2016). Однако ежегодно собираемый урожай плодов с имеющихся посадок и природных плантаций не покрывает растущей потребности в эфирном масле, а также других биологически активных веществах из можжевельника. Кроме того, известно, что количественный и качественный состав растений существенно зависит от мест и условий произрастания. Поэтому цель настоящих исследований состояла в сравнительном анализе количественного извлечения эфирного масла из свежего и высушенного растительного материала *Juniperus sabina*, произрастающего на территории Республики Молдова.

Материалы и методы

Объектами исследований служили растения вида *Juniperus sabina*, произрастающие в Центральной зоне Республики Молдова (рис. 1). Растения были собраны во второй декаде мая (координаты сбора 46° 57' 44.3" N 28° 53' 16.9" E) путем обрезки 30 – 50 см отросших боковых ветвей. Идентификация растения *Juniperus sabina* была проведена с помощью специалистов Института Ботанического сада АНМ и Института Исследований и менеджмента лесных насаждений, Кишинэу (Elisovetskaya et. al., 2014).



Рисунок 1 *Juniperus sabina* L., произрастающий в Республике Молдова (май 2017)
А – цветение; В – созревание плодов

Figure 1 *Juniperus sabina* L., growing in the Republic of Moldova (May 2017)
A – flowering; B – fruit ripening

После сбора часть растений измельчали секатором до частиц длиной примерно 2 – 5 мм и использовали в свежем виде. Влажность собранного сырья составляла 65 %. Остальные растения взвешивали и тонким слоем сушили (до достижения влажности 12 %) в хорошо проветриваемом помещении вдали от источников тепла и прямых солнечных лучей при комнатной температуре в течение примерно двух недель. Сухое сырье измельчали на электрической лабораторной мельнице (Тип МРП-1, асинхронный двигатель, МСХ СССР НПО «Агроприбор», 1987). в течение 1 – 2 мин и просеивали на сите с размером отверстий 2 мм. Влажность (W) растительного сырья определяли согласно стандартной методике (ОФС.1.5.3.0007.15) и вычисляли в процентах по формуле 1:

$$W = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m} \quad (1)$$

где: W – влажность растительного сырья в процентах; m – масса до высушивания, г;
 m_1 – масса после высушивания, г

Извлечение эфирного масла проводили методом гидродистилляции (Hesham et.al., 2016) путем перегонки навески сырья (200 г для свежего и 100 г для сухого растения) с очищенной водой (воду добавляли в соотношении сырье : растворитель 1 : 6) в 1 – 2 литровой колбе с обратным холодильником (рис. 2). Эфирное масло собирали в подвешенный свободно в колбе приемник Гинсберга. Так как приемник не был откалиброван, его после перегонки извлекали, охлаждали на воздухе до комнатной температуры, отделяли эфирное масло с помощью микропипеток и количественно переносили его в мерные пробирки с ценой деления 0,02 мл Колбу с содержимым нагревали на газовой электроплитке или электроплитке с закрытой спиралью и регулятором мощности нагрева и кипятили в течение одного часа, двух часов, трех часов и более (до прекращения увеличения объема эфирного масла, определяемого визуально).



Рисунок 2 Экстракция эфирного масла из веточек и листьев *Juniperus sabina* L. (сухое растение)
Figure 2 Extraction essential oil from twigs and leaves of *Juniperus sabina* L. (from dry row materials)

Содержание эфирного масла в массо-объемных процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле 2:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{\alpha(100 - W)} \quad (2)$$

где: V – объем эфирного масла, мл; α – навеска сырья или лекарственного растительного препарата, в граммах; W – влажность, %

Математическую обработку полученных данных проводили согласно методу однофакторного дисперсионного анализа и расчету стандартного отклонения с использованием компьютерных методов обработки данных: пакет программ Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

В результате сравнительного анализа полученных данных по экстракции эфирного масла из сухого и свежего растительного сырья при увеличении времени экстракции с часа до 2,5 часов (пошагово с интервалом в 30 минут) были получены статистически достоверные результаты. Обнаружено, что при экстрагировании из сухого сырья в течение часа, полутора и двух часов количество извлекаемого эфирного масла несущественно отличалось между собой – $p > 0,05$ (табл. 1). В тоже время для свежего растения разница в извлеченной сумме через один час, полтора и два часа была существенна ($p \leq 0,05$).

Таблица 1 Количество экстрагируемого эфирного масла из хвои – веточек и листьев *Juniperus sabina* L. в зависимости от продолжительности экстракции и влажности растительного материала

Table 1 The amount of extracted essential oil from needles – twigs and leaves (acerouse leaf) of *Juniperus sabina* L., depending on the duration of extraction and moisture of plant material

Вариант	Количество эфирного масла в зависимости от времени экстракции в пересчете на 100 г навески			
	1 час	1,5 часа	2 часа	2,5 часа
I. Высушенное растение $W = 12\%$	1,30 ± 0,06	1,40 ± 0,07	1,45 ± 0,07	1,9 ± 0,06
	HCP _{0,05} = 0,094 $p > 0,05$		HCP _{0,05} = 0,094 $p \leq 0,05$	
II. Свежее растение $W = 65\%$	0,35 ± 0,02	0,50 ± 0,07	0,71 ± 0,01	1,00 ± 0,07
	HCP _{0,05} = 0,075 $p \leq 0,05$			

* разница существенна при $p \leq 0,05$; * differences are significant with $p \leq 0,05$

Установлено, что разница в количестве экстрагируемого эфирного масла (в массо-объемных процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье) в первом варианте с высушенным растением между интервалами в один час и 1,5 часа составляет всего 7,7 %, а между 1,5 и 2,0 часами – 10,5 %. Тогда как во втором варианте со свежим растением эта же разница достигает 42,8 и 41,9 % соответственно. Однако, при увеличении времени экстракции до 2,5 часов разница в количестве извлеченного масла существенна ($p \leq 0,05$) как для свежего, так и для сухого растения. При этом в первом варианте при 2,5 часовой экстракции увеличение суммы экстрагированного эфирного масла по сравнению с 2,0 часами произошло на 31,0%, а во втором варианте – на 40,9 % (рис. 3).

Анализ полученных данных показал, что в течение первых полутора часов скорость экстракции выше в первом варианте с сухим сырьем по сравнению с экстракцией из свежего сырья (табл. 1, рис. 3).

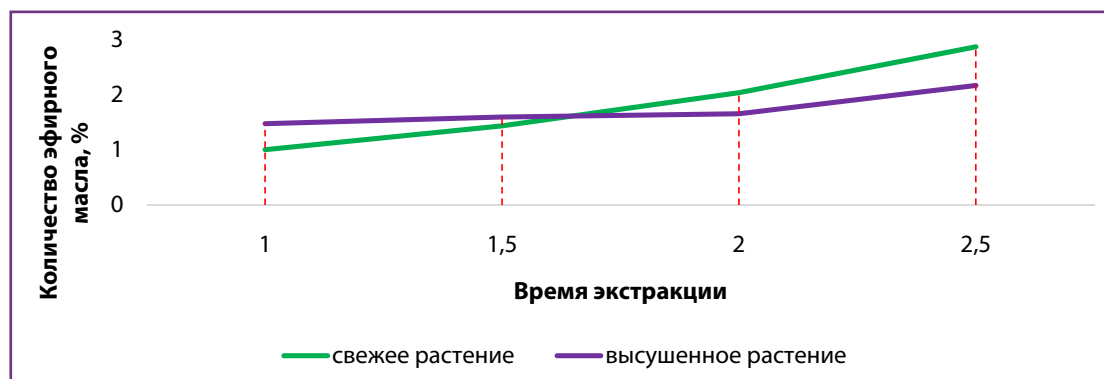


Рисунок 3 Количество экстрагируемого эфирного масла из свежего и высушенного растения *Juniperus sabina* L. (хвой), произрастающего в Республике Молдова, в пересчете на абсолютно сухой вес растения, в зависимости от продолжительности экстракции и влажности растительного материала (2017)

Figure 3 The amount of extracted essential oil from twigs and leaves of (needles) plant *Juniperus sabina* L. growing in the conditions of the Republic of Moldova, in terms of the absolutely dry weight of the plant, depending on the duration of extraction and moisture of the plant material (2017)

Согласно литературным данным экстракцию эфирного масла из можжевельника методом гидродистилляции рекомендуется проводить не менее, чем в течение двух часов (Новиков и др., 2014). Некоторые авторы (Уваровская, 2008) рекомендуют доводить время экстракции даже до 9 часов. Наши экспериментальные данные показали, что увеличение времени экстракции на каждые полчаса в течение первых двух часов дает существенную прибавку суммы экстрагируемого масла только в варианте со свежим материалом. В тоже время, в обоих вариантах количество эфирного масла существенно увеличилось через 2,5 часа от момента закипания смеси (рис. 3).

Статистический анализ данных показал, что из свежего растительного материала удастся получить на 11,1 – 32,4 % эфирного масла больше, чем из сухого сырья (в зависимости от продолжительности экстракции). В тоже время, следует отметить, что использование сухого сырья имеет ряд преимуществ. Во-первых, сушка дает возможность заготовить большое количество хорошо сохраняемого при комнатной температуре растительного сырья. Во-вторых, значительно облегчается процесс измельчения, потому что сухое сырье достаточно легко подвергается измельчению на различных мельницах (лабораторных, промышленных). Процесс измельчения свежего сырья до необходимых размеров вручную достаточно трудоемок и возможен не на всех типах мельниц, что существенно увеличивает себестоимость конечного продукта. По описанным выше причинам, считаем, что целесообразно все же в лабораторных условиях получение эфирного масла из сухого сырья методом гидродистилляции как минимум в течение 2,5 часов. Вопрос о том, насколько увеличивается выход масла при дальнейшем увеличении времени экстракции нуждается в дополнительной проверке. В результате из можжевельника казацкого, произрастающего в Молдове, нам удалось максимально извлечь до 1,1 % эфирного масла в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Выводы

Таким образом установлено, что наименьшее рекомендуемое время для экстракции составляет 2,5 часа. Целесообразно после сбора проводить сушку растения для удешевления и автоматизации процесса измельчения материала. Конечный выход эфирного масла из растений вида *Juniperus sabina* произрастающего в условиях Республики Молдова, методом гидродистилляции при кипячении смеси в течение 2,5 часов составляет в среднем порядка 1,0 – 1,1 %.

Благодарность

Автор выражает благодарность сотрудникам и дирекции Института генетики, физиологии и защиты растений АНМ (Кишинев) за поддержку и неоценимую помощь в проведении научно-исследовательской работы; сотрудникам Ботанического сада АНМ, Института исследований и менеджмента лесных насаждений за помощь в идентификации растения *Juniperus sabina* L.; доценту, инженеру Яну Бриндзе и коллективу Института сохранения биоразнообразия и биологической безопасности Словацкого аграрного университета в Нитре за научную поддержку и предоставленную экспериментальную базу. Работа выполнена в рамках научной стажировки (application/contract number 51700164), поддержанной Международным Вышеградским Фондом (Братислава) – The International Visegrad Fund.

Литература

- Adams, R.P. 2008. *Junipers of the World: The genus Juniperus*. 2nd ed., Vancouver : Trafford Publ., 472 p. ISBN 978-1-4251-6879-7, 1425168795.
- Adams, R.P. 2014. *Junipers of the World: The Genus Juniperus*. 4th ed., Trafford Publishing. 415 p. ISBN-13 978-1490723259. ISBN-10 1490723250.
- Elisovetskaya, D., Nastas, T., Bucatel, V., Galupa, D. 2014. Natural crop protection based on plant resources of the *Juniperus sabina* L. in the Republic of Moldova. *Conservation of Plant diversity. Int.Sc.Simp., ASM, Botanical Garden, UnASM*. Chisinau: S.n., p. 88–89. ISBN 978-9975-62-370-4.
- Farjon, A. 2005. *A monograph of Cupressaceae and Sciadopitys*. Kew Publishing, UK : Royal Botanic Gardens, Kew. ISBN 9781842460689.
- Farjon, A. 2013. *Juniperus sabina*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T42249A2966599. [online] 2017-08-05 [cit. 2017-08-05] Available at: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T42249A2966599.en>
- Hesham, H. A. Rassem, Abdurahman, H. Nour, Rosli, M. Yunus. 2016. Techniques for extraction of essential oils from plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 10, no. 16, p. 117–127. ISSN1991-8178, EISSN 2309-8414.
- Medicinal plants in Mongolia. 2013. © World Health Organization. Western Pacific Region. ISBN 978 92 9061 632 0 (NLM Classification: QV 770 JM6). P. 95–96. [online] 2017-09-11 [cit. 2017-09-11] Available at: http://iris.wpro.who.int/bitstream/handle/10665.1/7839/9789290616320_eng.pdf
- Nikolić, B., Vasiljević, B.; Mitić-Ćulafić, D., Lesjak, M., Vuković-Gačić, B., Mimica Dukić, N., Knežević-Vukčević, J. 2016. Screening of the antibacterial effect of *Juniperus sibirica* and *Juniperus sabina* essential oils in a microtitre platebased MIC assay. *Botanica Serbica*, vol. 40, no. 1, p. 43–48. DOI: [10.5281/zenodo.488858](https://doi.org/10.5281/zenodo.488858).
- Schulz, C., Knopf, P., Stützel, T.H. 2005. *Identification key to the Cypress family (Cupressaceae)*. Feddes Repertorium 116, Weinheim, 1–2, p. 96–146. DOI: [10.1002/fedr.200411062](https://doi.org/10.1002/fedr.200411062)
- Zhao, J., Liu T., Xu F., You S., Xu F., Li, C., Gu, Z. 2016. Anti-arthritis Effects of Total Flavonoids from *Juniperus sabina* on Complete Freund's Adjuvant Induced Arthritis in Rats. *Pharmacogn Mag.*, vol. 12, no. 47, p. 178–183. DOI: [10.4103/0973-1296.186346](https://doi.org/10.4103/0973-1296.186346)

- Аёшина, Е.Н., Величко, Н.А. 2004. Исследования особенностей химического состава эфирных масел двух видов рода *Juniperus*. *Химия растительного сырья*. №4, 35–37. ISSN 1029-5143 (online).
- Брагинец, Л.А. 2016. Интродукция некоторых древесных пород родов *Thuja* и *Juniperus* в дендрофлоре г. Костаная и его окрестностей. *Электронный архив УГЛТУ. Леса России и хозяйство в них*, № 1 (56), с. 40–47. ISSN 2218-7545.
- Елисовецкая, Д.С., Настас, Т.Н., Одобеску, В.А. 2014. Возможность применения экстрактов из *Juniperus sabina* для защиты картофеля от колорадского жука. «Introduction, conversation and monitoring of plant diversity», *Proceedings of the Intern. Scientific Conference for the 175th anniversary of O.V.Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv*. Kyiv: Palivoda A.V., p. 240. ISBN 978-966-437-390-3.
- Козак, Т.А. 1993. Биологические особенности видов рода можжевельник (*Juniperus* L.) в связи с использованием в декоративных насаждениях в Лесостепи Украины: дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: НАН України. Центр. ботан. сад ім. М.М. Гришка: К., 173 с.
- Мырзагалиева, А.Б., Медеубаева, Б.З. 2014. Кизучению эфирномасличности представителей семейства Cupressaceae Bartl. флоры Восточного Казахстана. *Фундаментальные Исследования (Fundamental Research, The Publishing House «Academy of Natural History»)*, ИД «Академия Естествознания», № 5, часть 5, с. 1021–1024. ISSN 1812-7339.
- Новиков, О.О., Писарев, Д.И., Жиякова, Е.Т., Трифонов, Б.В. 2014. *Можжевельник: фитохимия и фармакология рода Juniperus L.* Москва : Издательство РАМН. 177 с. ISBN 978-5-7901-0132-8.
- Носов, А.М. 2001. *Лекарственные растения*. М.: Эксмо-Пресс. 350 с. ISBN 5040023146.
- ОФС.1.5.3.0007.15 Определение влажности лекарственного растительного сырья. Министерство Здравоохранения Российской Федерации.
- Писарев, Д.И. 2005. Фармакогностическое изучение можжевельника длиннохвойного и можжевельника казацкого : автореф. диссерт. на соиск. уч. степ. кандидат фармацевтических наук. Пятигорск. 146 с.
- Семенютина, А.В., Свинцов, И.П., Хужатметова, А.Ш., Семенютина, В.А. 2014. Экологические аспекты культивирования и многоцелевого использования редких и исчезающих древесных видов природной флоры. *Современная наука: Актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и Технические науки»*, № 11–12. [online] 2017-03-20 [cit. 2017-09-05] Available at: <http://www.vipstd.ru/nauteh/index.php/ru/---etn14-11/1341-a>
- Уваровская, Д.К. 2008. Эфирные масла дальневосточных видов рода *Juniperus* L. (содержание, состав, использование) : автореф. дисс. на соиск. уч. степени к.б.н. Владивосток: ФГУ «ДальНИИЛХ». 34 с.
- Щербаков, А.В., Усманов, И.Ю., Суюндуков, Я.Т. 2014. Популяционная изменчивость биосинтеза флавоноидов в лекарственных растениях Южного Урала. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, т. 16, № 1, с. 274–280. ISSN 1990-5378 (print).



THE ANALYSIS OF LIFE STRATEGIES OF POPULATIONS OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI IN GARDENS OF EXCLUSION ZONE OF THE CHERNOBYL NUCLEAR POWER PLANT

Drozda Valentin

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 27. 11. 2017

The aim of researches was study the species composition, life strategies, spreading, ecology and biology of entomopathogenic fungi in gardens of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant in context of the Chernobyl disaster, associated with the biodiversity of not only plants, animals, but also microorganisms. The analysis of some aspects of relationship between entomopathogenic fungi and various stages of development of the codling moth (*Laspeyresia pomonella* L.) was carried out, also investigated their saprophyte strategy. A row of key provisions that has relevant to theoretical and applied issues, including the specific factor of long-acting effect of ionizing radiations was allocated. The entomopathogenic fungi, as typical r-strategists, are characterized by signs of K-selection, develop in mature, climax microbial system on the biomass of caterpillars and pupae of the codling moth were shown. In addition, these entomopathogens can to develop in saprophytic conditions. The problems, associated with the implementation of tactics of reproduction, survival and trophic connections by fungi were discussed. The life strategy of the fungus – *Paecilomyces farinosus* A.H.S.Br. & G.Sm. was described in detail. The attention was focused on his dominance among other fungi with pronounced trophic expansion. The ecological adaptation and plasticity of *Paecilomyces farinosus* in saprophytic conditions are manifested clearly in spreading of pathogen in ecosystems of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. It is emphasized that one of the vectors of spreading of fungus is insects. The status of entomopathogenic fungi in ecosystems of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant is determined by the balance of biomass and trophic resources, also the information role in this specific biocenotic structure.

Keywords: entomopathogenic fungi; R- and K-selection; the codling moth; life strategies; saprophytes; caterpillars; pupae

Introduction

An important problem of modern ecology is studing of the microflora, especially natural ecosystems. The urgency of this problem consists of not only in the definition their species identification, but also with the search and isolation of highly virulent entomopathogenic forms, which associated trophically with certain complex of insect-phytophages, inhabiting in different biogeocenoses. As we see it, researches, conducting in ecosystems of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant have a big interest. The unique combinations of various factors with specific radiation background are main reason for formation of the species diversity of entomopathogenic fungi with original metabolic and trophic characteristics.

*Corresponding author: Valentin Drozda, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ biomethod@quality.ua

The fungi are represented widely systematically as pathogens of insects and mites – from primitive water forms to highly organized terrestrial (Evlaxova, 1974). Currently, parasites of insects and mites are known in all four classes (of phycomycetes to imperfect ones). The greatest quantity of entomopathogenic fungi belongs to the ancestors of *Entomophthorales*, *Monilialis* and *Fungi imperfecti*. The total quantity of entomopathogenic fungi reaches of 530 (Ignoffo, 1967; Ferron, 1967).

It is substantially that they can become the members of the biocenosis, in which they are included, and also reproduce independently. The fungi can to infect to insects in various ways, namely contact through surface, by absorbing spore and vegetative mass with food. It is increase the chances of infection.

The fungi can preserve in various forms under adverse habitat conditions as sporangia, resting spores, sclerotia and fruiting bodies, compact mass of intertwined vegetative hyphae of pseudosclerotic type, and also in the saprophytic state (Fassatiowa, 1957; Androsov, 1986). The fungi infect relatively small quantity of useful insect species, which makes it possible to use them widely in the practice of protecting plants from insect-phytophages (Drozda, 2009; Drozda et al., 2014). The most of entomopathogenic fungi are succumb to cultivation on nutrient media and can be prepared in the form of biological preparations. It is an essential feature of entomopathogenic fungi (Drozda, 2009).

The aim of researches was study the species composition, life strategies, spreading, ecology and biocenology of entomopathogenic fungi in gardens of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant in context of the Chernobyl phenomenon in solving theoretical problems, associated with the biodiversity of not only plants, animals, but also microorganisms. The conducting of thorough monitoring of entomopathogens, trophically and ecologically related with populations of the codling moth (*Laspeyresia pomonella* L.) (Lepidoptera, Tortricidae), was one of the aims.

Material and methodology

During ten years ecological and physiological monitoring of populations of the codling moth in gardens of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant was conducted. The collections of various stages of the phytophage (eggs, diapausing caterpillars and pupae) using known developments were carried out (Jagues, Mac Lellan, 1965; Gafurova, 1971; Ferro et al., 1975; Labanowski, 1981; Drozda, 2009, 2014, 2016).

The microflora of eggs of the codling moth was studied by way of sowing of the homogenome on nutrient media. The sowing was included 80–100 eggs simultaneously. The fungal microflora of caterpillars of younger, middle and older ages and pupae of the codling moth was investigated (Krasil'nikov, 1958; Weiser, 1972).

The experimental researches were carried out in the Ukrainian laboratory of quality and safety of products of the agro-industrial complex of Ukraine. Behind stages of development in ontogenesis the microflora of the codling moth was studied. The large quantity of material was investigated: healthy, infected, dead caterpillars, pupae and adults of the codling moth. The sowings were produced from leaves and bark of apple, soil of root zone and fruits for establishing of connection between the microflora of phytophage and the microflora of habitat. The isolated entomopathogenic fungi were grouped according to morphological and cultural-biochemical features. All cultures and strains of fungi were determined up to the species. The outer integuments of the caterpillars and their internal contents were examined under sterile conditions. Mummified corpses of caterpillars and pupae after

preliminary flame treatment were placed in moist chambers. The fungi were isolated to pure culture after the appearance of aerial mycelium on the surface of corpses (Evlaxova and Shveczova, 1966).

The life strategies of entomopathogenic fungi were investigated on the basis of analysis of twelve original test characteristics by example of populations of the codling moth (Macarthur and Wilson, 1963; Pianka, 1972; Chulkina, 1991; Drozda, 2015; Drozda and Sagitov, 2015; Drozda and Gojchuk, 2015).

Results and discussion

The long-term experiments made possible to distinguish and identify practically whole fund of entomopathogenic fungi, which related ecologically and trophically with the codling moth. These are parasitic forms, developing mainly on caterpillars and pupae of phytophage. In addition, the certain part of fungal populations existed and functioned in the saprophytic state, utilizing dead organic substrate.

The results of researches were showed, that in most cases the isolated strains of fungi from healthy caterpillars are soil saprophytes or phytopathogens. From of 263 the examined healthy caterpillars of the codling moth were found fungi in 21, which is 7.9%.

The sick and deceased caterpillars are more susceptible to fungal infections, as shown by analysis of the microflora. 91.6% of all fungal pathogens were accounted on them, on stage of pupa – 6.2%, adult – 2.2%. The virulence level of fungi depends on many factors. We have established (Drozda and Sagitov, 2015), that the determining factor of stability of caterpillars of the codling moth and other species with family Tortricidae depends on the titer of tannin in composition of cocoons. Tannin is strongest fungistatik, ensuring the viability of physiologically full-fledged part of populations of the codling moth. As researches were shown, synoptic anomalies perform only modifying role among factors of mortality of the codling moth. They cut off preferentially the physiologically defective part of the population.

The materials of Table 1 illustrate quantity of species of entomopathogenic fungi and the degree of their dominance. The overwhelming dominance of fungi with spore mycelium was established. Only 6.3% of fungi with non-spore mycelium from whole fund were allocated. Obvious overwhelming dominance of fungus – *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. was observed. From total stock of infected and dead caterpillars and pupae of the codling moth (1286 individuals), 47.9% was assigned to *B. bassiana* (Bals.) Vuill. Among other species, between 7.4 and 12.6% were noted *Mucor hiemalis*, *Paecilomyces farinosus* and species from row of *Penicillium*. These representatives were characterized by pronounced mixed life strategy. The niches inhabited by them are caterpillars and pupae of the codling moth for parasitic forms, plant organic substrate for saprophytic forms.

It should be noted, that similar analysis of populations of entomopathogenic fungi, isolated from the targeted substrates of industrial gardens – of populations of the codling moth outside exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant was shown significant differences in them. Only eleven species of fungi were in industrial gardens. Some regularities of catalytic functions of fungi were studied from the point of view of ecological adaptation that allows considering their substrate specialization (Kozhevin, 2004; Vinogradova and Kozhevin 2011). In first time, this phenomenon was studied in forest biogeocenoses (Androsof et al., 1981). Our researches have shown that the transition of some entomopathogenic fungi to saprophytes allows increasing significantly the ecological niches, approached to fundamental. Also the metabolic phenomenon of synthesis of cellulose, pectinase

and amylase was confirmed. They are characterized by mixed life strategy with accent on parasitism, in the case of high strength of populations of the codling moth. The ontogenesis of the codling moth is accompanied by variety of stressful situations. Its life strategy is destabilized by feed deficit and synoptic anomalies.

Table 1 The species composition of fungi, isolated from dead caterpillars and pupae of the codling moth, which collected in gardens of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant

The species of entomopathogenic fungi	The individuals infected with fungi were detected				
	2012	2013	2014	total	%
<i>Alternaria tenuis</i> Nees.	7	16	14	37	2.8
<i>Aspergillus niger</i> v. Teigh.	5	4	4	13	1.0
<i>Aspergillus flavus</i> Link.	2	1	3	6	0.5
<i>A. parasiticus</i> Speare.	14	11	9	34	2.9
<i>Aspergillus</i> sp.	6	3	7	16	1.2
<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.	156	234	219	609	47.9
<i>Cladosporium elegantulum</i> Link ex Fr.	9	11	13	33	2.6
<i>Cladosporium</i> sp.	7	4	6	17	1.3
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	4	9	11	24	1.9
<i>Fusarium</i> sp.	3	4	6	13	1.0
<i>Metarrhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok.	3	7	3	13	1.0
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer.	27	31	36	94	7.4
<i>Mucor</i> sp.	4	9	10	23	1.8
<i>Paecilomyces farinosus</i> Brown and Smith	37	24	47	108	8.6
<i>Penicillium</i> sp.	48	39	62	149	12.6
<i>Stemphylium</i> sp.	4	3	9	16	1.2
The species of fungi with non-spore mycelium	11	32	38	81	6.3
Total	347	442	497	1286	100.0

After results of the physiological monitoring, from 36.8 to 65.4% of diapausing caterpillars of the codling moth were infected fungal pathogens of different etiology in consequence of these anomalies. The tactic of reproduction is implemented most fully among of three tactics: reproduction (R), survival (S) and trophic connections (T). The characteristic of life strategies of fungi in the structure of r- and K-continuum showed that tactic of reproduction with typical features of the K-strategist provided most fully in parasitic form, in period of epizootics. The tactics of survival and of trophic connections are characteristic for r-strategy. The dynamic of epizootic process is limited in time and manifests monocyclic character with pronounced seasonal manifestation.

The features of development of fungus *Paecilomyces farinosus* (Dicks. Ex Fr.) Brown et Smith in saprotrophic conditions were studied in more detail. Its development on dead organic substrate

(leaves of fruit crops, diverse forest plantations and dead roots) was noted. The saprotrophic strategy of development of *Paecilomyces farinosus* involves the formation of diverse microbial associations with other microorganisms.

As shown earlier (Pleshanova, 1970), the dominant type of relationships between muscardine fungi and soil microflora is fungistatic alimentary antagonism, in the process of which occurs trophic and ecological expansion of one species in relation to another. Based on the conducted researches was established, that muscardine fungi are characterized by signs of K-selection, suppressing the spread of other fungal entomopathogens. The phenomenon of expansion is manifested most fully in *Paecilomyces farinosus*. The test characteristics of tactics of reproduction and trophic connections showed distinct tendency to K-selection that acts only through differential success in reproduction (Pianka, 1972).

The ecological adaptation and plasticity of *Paecilomyces farinosus* in saprophytic conditions is manifested clearly in spreading of the pathogen in ecosystems of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. It promotes growth of conidiophores on surface of the organic substrate with positive reaction to light.

As vector of the pathogen in ecosystems is wind and rain. A special role in the spreading of fungal infection belongs to insects. The role of certain entomophages, in particular larva and adult of the ectoparasite *Habrobracon hebetor* Say., larvae of *Chrysopa carnea* L., which transfer spores, was installed. At the same time, in the presence of competition was seen pronounced specialization to trophic substrate. This channeled the vector transition to saprophytes (on plant residues).

The analysis of life strategies and tactics of entomopathogenic fungi, trophically and ecologically related to the codling moth, shown that in process their growth formed regular outbreaks. They are characteristic for opportunistic species. The maximum contribution of matter and energy to the process of reproduction are considered best reproductive strategy. The conducted research gives the opportunity to affirm that for entomopathogenic fungi are characterized by mixed strategies of selection in ecosystems of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. In such conditions, the best life strategy is maximum contribution of matter and energy to reproduction for production large quality of biomass in short time. However, the optimal strategy is transformation more quality of energy on overcoming competition in the most saturated habitat with pronounced competition.

Conclusions

The entomopathogenic fungi, which associated ecologically and trophically with populations of the codling moth in ecosystems of exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant are characterized by the significant species diversity and exposed mainly to r-selection on the axis of r- and K-continuum. Among the entire fund of entomopathogens dominates *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., with specific weight of 47.9% in relation to other fungi. The vector orientation of entomopathogens to saprophyticism allows increasing ecological niches, approaching the fundamental. Among three tactics (reproduction, survival and trophic connections) was implemented most fully tactic of reproduction. The dynamic of epizootic process are limited in time and manifests monocyclic character with pronounced seasonal manifestation.

References

- Drozda, V.F. 2016. Successional adaptation of codling moth (*Laspeyresia pomonella* L.) populations in the orchards of the Chernobyl Exclusion Zone. Biodiversity after the Chernobyl Accident. *The scientific proceedings of the International network Agro Bio Net. Slovak University of Agriculture in Nitra*, Part II, p. 74–78.
- Drozda, V.F. 2009. Receipt of ecologically clean harvest of apples by means of optimization of technologies of fruit planting integrated protection in Ukraine (O11). «*Opportunities for increased processed fruit consumption through innovative processing and quality management*». 17 p.
- Fassatiova, O. 1957. Laboratorni pokusy s umelon infekci mandelinky hlavackove (*Entomoscelis adonidis* Pall.) pomoci cutomofaguich hub. *Univ. Carol. Biologica*, vol. 3, № 3, ss. 269–292.
- Ferro, D.N., Sluss, R.R., Bogyo, T.P. 1975. Factors contributing to the biotic potential of the codling moth (*Laspeyresia pomonella* L.), in Washington. *Environmental Entomology*, vol. 4, no. 3, p. 385–391.
- Ferron, P. 1967. Les champignons entomopathogenes. *Ann. Epiphytes*, vol. 18, № 3, p. 361–382.
- Ignoffo, C. 1967. Possibilities of mass-producing insect pathogens. *Insect pathology and microbial control*. North-Holland Publish. Co. Amsterdam, p. 91–117.
- Jagues, R.P., Mac Lellan, C.R. 1965. Fungal mortality of overwintering larvae of the codling moth in apple orchards in Nova Scotia. *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 7, no. 3, p. 291–296.
- Labonowski, G.S. 1981. Pathogens and parasites recovered from the hibernating larvae of the codling moth *Laspeyresia pomonella* L. *Polskie pismo entomologiczne*, vol. 51, p. 163–170.
- Macarthur, R.N., Wilson, E.D. 1963. An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution*, vol. 17, p. 373–378.
- Pianka, E.R. 1972. r- and K selection or b and d selection? *Amer. Natur.*, vol. 106, p. 581–588.
- Андросов, Г.К. 1986. Энтомопатогенные грибы таежных биогеоценозов как агенты биологической борьбы с вредными насекомыми: автореф. дисс. доктора биол. наук. М. 45 с.
- Андросов, Г.К., Андросова, Л.Н., Соболева, Л.А. 1981. Экология энтомопатогенных микроорганизмов таежной зоны Европейского Северо-востока. *Использование микроорганизмов для борьбы с вредными насекомыми*. Иркутск, с. 139–151.
- Вейзер, Я. 1972. *Микробиологический метод борьбы с вредными насекомыми*. М. 576 с.
- Виноградова, К.А., Кожевин, П.А. 2011. Взаимоотношения актиномицетов с почвенными грибами и их использование для биологического контроля фитопатогенов. *Микология и фитопатология*, том 45, вып. 4, с. 289–302.
- Гафурова, В.Л. 1971. Микрофлора яблонной плодовой гнили и перспективы использования патогенных форм в борьбе с этим вредителем: автореф. дисс. канд. биол. наук. Душанбе. 24 с.
- Дрозда, В.Ф., Гойчук, А.Ф. 2015. Біорізноманіття лісових екосистем та біологічний захист дібров від лускокрилих фітофагів. *Міжнародна конференція «Інноваційний розвиток АПК України: проблеми та їх вирішення»*. Житомир, с. 201–205.
- Дрозда, В.Ф. 2015. Біорізноманіття, як функція стійкості екосистем: теоретичні аспекти проблеми. *Міжнародна наукова конференція «Інтегрований захист та карантин рослин. Перспективи розвитку в XXI столітті»*. НУБіП, м. Київ, с. 198–200.
- Дрозда, В.Ф. 2015. Континуальная структура популяций яблонной плодовой гнили *Laspeyresia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). *Материалы Всероссийской конференции «Биогеосистемная экология и эволюционная биогеография»*. Новосибирск, с. 56–58.
- Дрозда, В.Ф., Сагитов, А.О., Кочерга, М.А., Копжасаров, Б.К. 2014. Технологические особенности защиты яблоневых садов от яблонной плодовой гнили *Laspeyresia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae) в садах Украины и Казахстана. *Казахский НИИ защиты растений. ВПРС МОББ*.

Материалы международной научной конференции. В сб. «Защита растений и экологическая устойчивость агробиоценозов». Алматы, с. 65–67.

Дрозда, В.Ф., Сагитов, А.О. 2015. Характеристики жизненных стратегий карпофагов в контексте защиты садов в условиях Украины и Казахстана. *Международная научная конференция «Инновационные экологически безопасные технологии защиты растений»*. Казахстан. Алматы, с. 98–108.

Евлахова, А.А. 1974. Энтомопатогенные грибы. *Систематика, биология, практическое значение*. Л.: Изд-во «Наука». 260 с.

Евлахова, А.А., Швецова, О.И. 1966. Задачи исследований по микробиологическому методу борьбы с вредными насекомыми. *Журнал общ. биол.*, т. 27, № 4, с. 448–456.

Кожевин, П.А. 2004. Экология почвенных микроорганизмов. *Экология микроорганизмов*. М.: Академия. 273 с.

Красильников, Н.А. 1958. *Микроорганизмы почвы и высшие растения*. М.: Изд-во АН СССР. 463 с.

Плешанова, Г.И. 1970. Энтомопатогенный гриб *Paecilomyces farinosus* Dicks. ex Fr. Brown et Smith и возможности использования его против вредителей леса: автореф. дисс. канд. биол. наук. Иркутск. 26 с.

Чулкина, В.А. 1991. *Биологические основы эпифитотиологии*. М.: Агропромиздат. 278 с.



FEATURES OF MICROBAL CENOSIS FORMING OF *ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN. ROOT SOIL

Ellanskaya Nataliia*, Gorelov Alexei

M.M. Gryshko National Botanical Garden, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБНОГО ЦЕНОЗА ПРИКОРНЕВОЙ ПОЧВЫ *ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN.

Элланская Наталия, Горелов Алексей

Received 17. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

This article gives the results of microbiological and mycological researches of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. root soil. The purpose of this study was to investigate the characteristics of microbial communities and their biological activity in the *Alnus glutinosa* plant's root zone. The *Alnus glutinosa* 10 years age plants were studied in the experimental fields of the NSC Panfil Experimental Station. Microbiological investigations were carried out by conventional methods – seeding of certain dilutions of soil suspension on selective cultural medium. The allelopathic activity was analyzed by bioassays method. The comparative characteristic of microbial groups and allelopathic activity were investigated dynamically according to the *Alnus glutinosa* plants development phases. A quantity of actinomycetes gradual increases in spring and reduction in summer and autumn. The actinomycetes development depended on soil hydrothermal conditions. The micromycetes and ammonifiers number in the *Alnus glutinosa* root zone were much higher than control variation. The largest quantity of soil nitrogen consumption microorganisms was observed in summer. The soil organic matter accumulation dominated at the beginning and the end of vegetation period, whereas activation of mineralization processes occurred in summer. The number of cellulolytic microorganisms increased in the autumn, which is due to the introduction of plant residues into the soil. Cellulolytic activity rate correlated to cellulolytic microorganisms' number but were significantly low. We observed the intensive growth of *Azotobacter chroococcum* in the root zone. It was shown that the root secretion of test plants had a small allelopathic activity. Thus, the intensity of microbiological processes depends on the season, environmental conditions and plant metabolites.

Keywords: *Alnus glutinosa*; microbial communities; cellulolytic activity; root soil

Введение

Хозяйственное значение ольхи черной (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) очень большое. Прежде всего, она является лесообразующей и мелиорирующей породой на труднодоступных и неиспользуемых человеком заболочивающихся участках, трясинах, мочажниках и прочих неудобных землях. Ольха скрепляет почву своей обильно разрастающейся корневой системой, обогащает ее азотом, улучшает структуру и повышает плодородие, создавая тем самым условия для произрастания здесь других пород.

*Corresponding author: Nataliia Ellanskaya, M.M. Gryshko National Botanical Garden, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ n.ellanska@gmail.com

Одним из консортов фитоценозов являются микроорганизмы, находящиеся в тесных взаимоотношениях с почвой и растениям. Они выполняют важную функцию в круговороте веществ в биосфере – разлагают и минерализуют органические вещества и синтезируют азотные соединения (Волкогонов та ін., 2010).

Предыдущие наши исследования охватывали проблему имматурных растений ольхи разных видов (Елланська і Горелов, 2012; Елланська та ін., 2013). Поскольку именно *Alnus glutinosa* оказалась довольно аллелопатически активным видом, а ее ризосфера отличалась самым большим количеством микроорганизмов всех эколого-трофических групп, это и побудило нас провести дальнейшие работы уже со взрослыми растениями.

Цель работы – изучение микробных сообществ прикорневой почвы и ее биологической активности под растениями ольхи черной.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на осушаемых органогенных почвах Панфильской опытной станции ННЦ «Институт земледелия НААН» в заплаве р. Супой, левобережной Лесостепи Киевской области. Почвы карбонатные (37 – 49 %), pH 7,3 – 7,8, глубина залегания торфа 3 – 4 м, его разложение в пахотном слое составляет 65 – 70 %. Образцы почвы для исследований отбирали в прикорневой зоне 10-ти летних растений ольхи черной по фазам развития: начало формирования ассимиляционной системы и линейного роста побегов (апрель), завершение формирования побеговой системы (июль), конец вегетации (октябрь).

Выделение микроорганизмов из свежесобранных образцов почвы осуществляли методом посева почвенных суспензий соответствующих разведений на селективные агаризованные питательные среды по общепринятым в почвенной микробиологии методикам (Теппер, 2005). Направленность микробиологических процессов, целлюлозолитическую и аллелопатическую активность определяли соответственно описанному ранее (Елланська та ін., 2013). Как контроль была использована почва, не подвергающаяся аллелопатическому влиянию растений ольхи. Статистическая обработка данных проведена при помощи пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований выявлено, что максимальное количество актиномицетов в корневой зоне *Alnus glutinosa* отмечено в весенний период, а снижение их численности летом и осенью, вероятно, связано с недостатком влаги в почве (засушливый период длился 3 месяца) (рис. 1, А). Количество микромицетов (рис. 1, Б), также как и аммонификаторов (рис. 1, В), намного превышает контрольные значения во все сроки отбора, что свидетельствует об обогащении почвы органическим веществом растительного происхождения. Динамика численности микроорганизмов-иммобилизаторов минерального азота в корневой зоне *Alnus glutinosa* имеет значительную амплитуду колебаний – весной их количество было минимальным, летом значительно возрастало, а к осени возвращалось почти к исходным данным (рис. 1, Г). Такой летний «пик» позволяет судить об ускоренном процессе минерализации свежего органического вещества, что и подтвердилось показателем коэффициента минерализации (если весной его значения были невысоки – 0,4, то летом составили 1,6) (рис. 1, Д). Динамика показателей трансформации органического вещества почвы имела обратную закономерность относительно коэффициента минерализации (рис. 1, Ж).

Следует отметить значительное увеличение количества целлюлозолитических микроорганизмов осенью, что связано с поступлением в почву растительных остатков (рис. 1, З). Поскольку целлюлоза является основным компонентом растительных остатков, интенсивность разложения клетчатки зависит от численности и активности целлюлозолитических микроорганизмов и служит важным показателем биологической активности почвы (Головки и др., 1982).

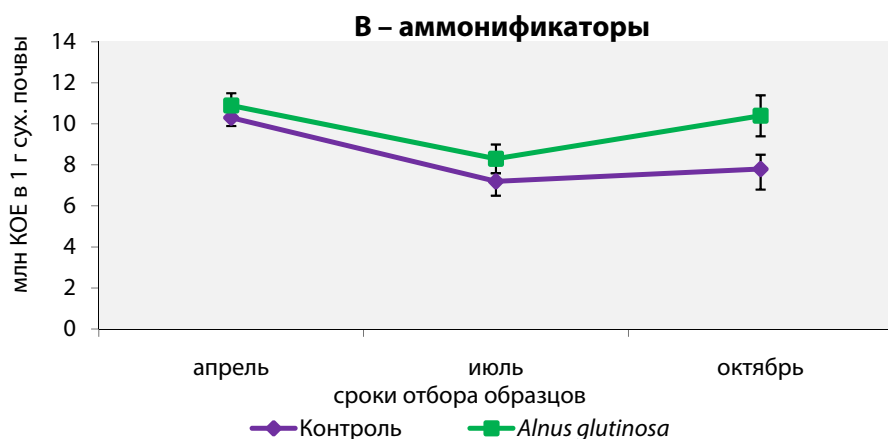
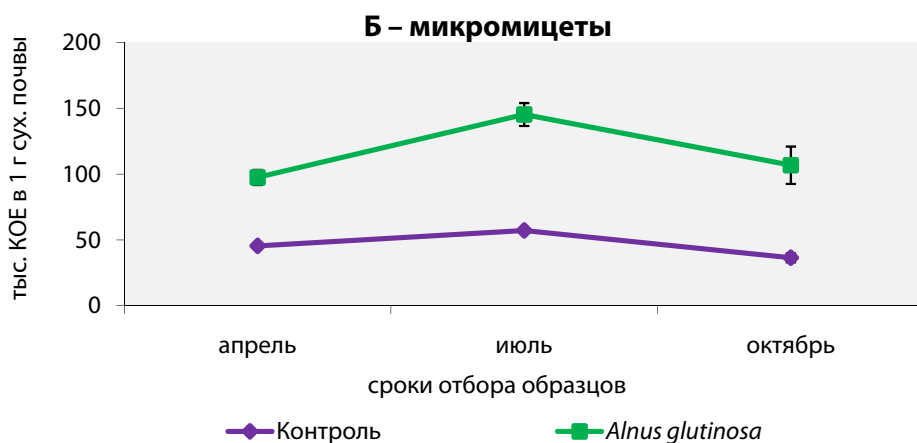
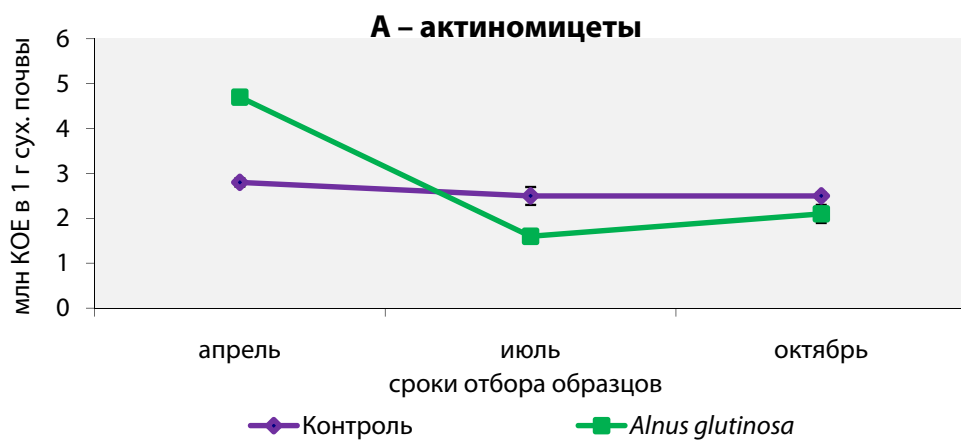


Рисунок 1 А – В Численность микроорганизмов основных таксономических и эколого-трофических групп, направленность микробиологических процессов в почве под ольхой
Figure 1 А – В The main microorganisms taxonomic and ecological-trophic groups number, the orientation of microbiological processes in the soil under alder

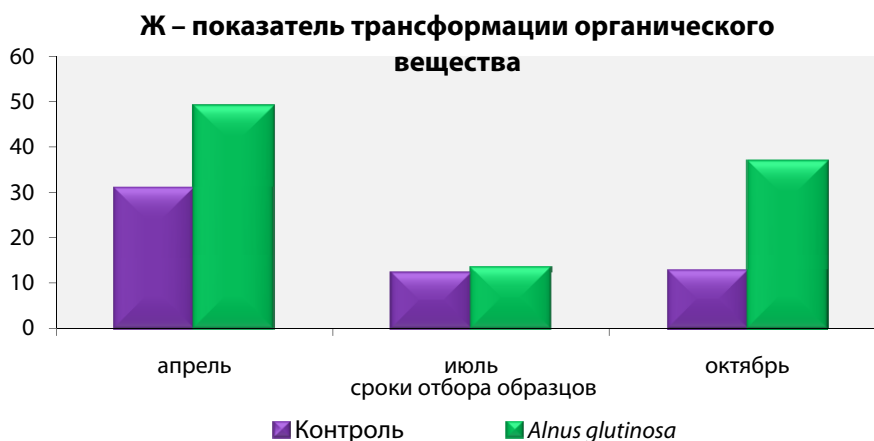
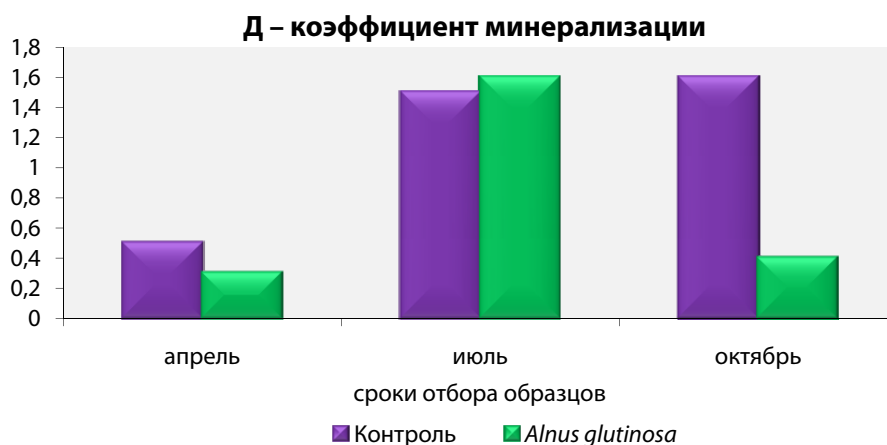
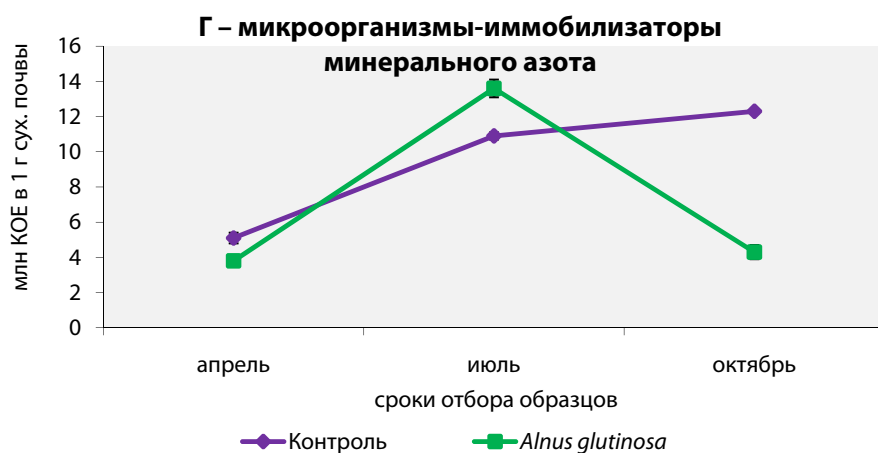


Рисунок 1 Г – Ж Численность микроорганизмов основных таксономических и эколого-трофических групп, направленность микробиологических процессов в почве под ольхой
Figure 1 Г – Ж The main microorganisms taxonomic and ecological-trophic groups number, the orientation of microbiological processes in the soil under alder

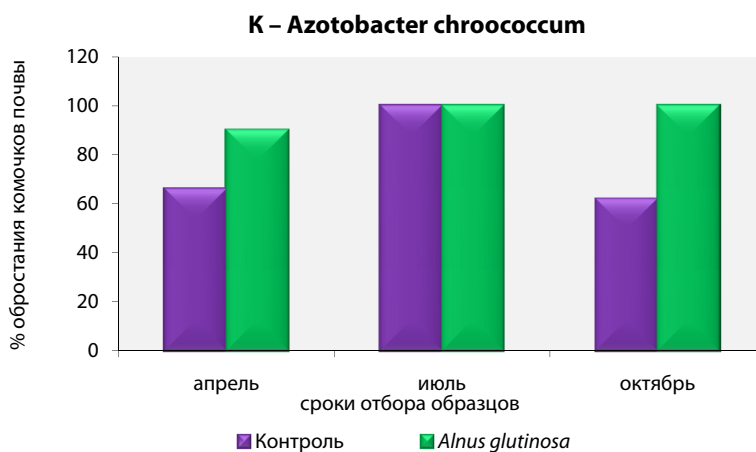
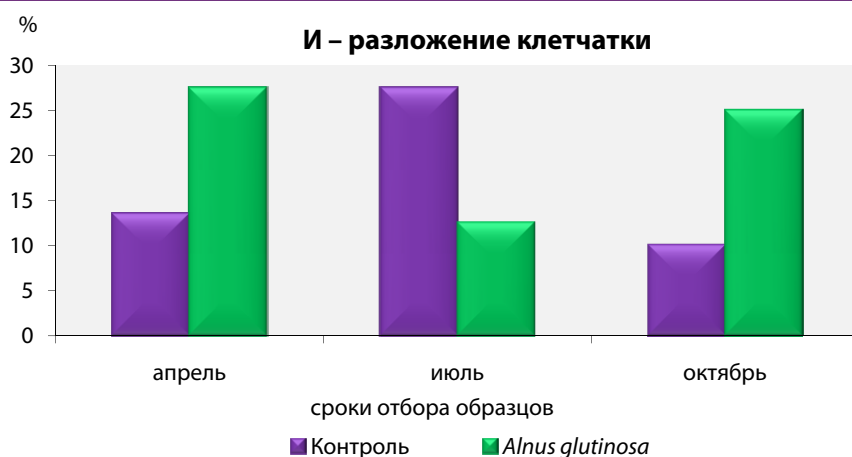
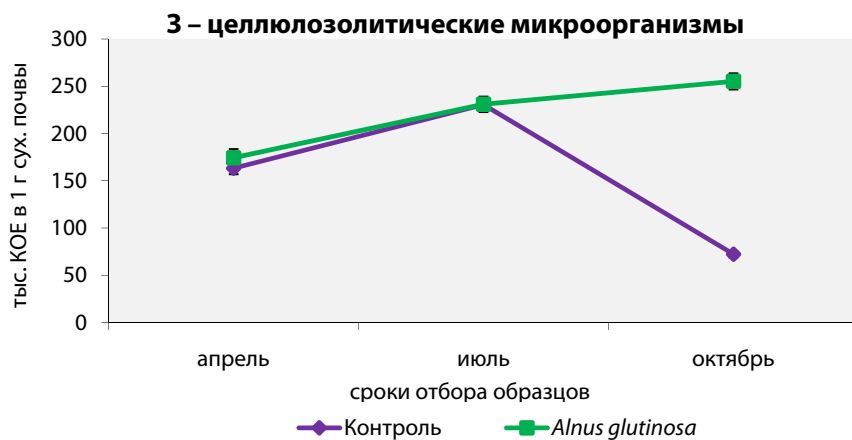


Рисунок 1 З – К Численность микроорганизмов основных таксономических и эколого-трофических групп, направленность микробиологических процессов в почве под ольхой
Figure 1 З – К The main microorganisms taxonomic and ecological-trophic groups number, the orientation of microbiological processes in the soil under alder

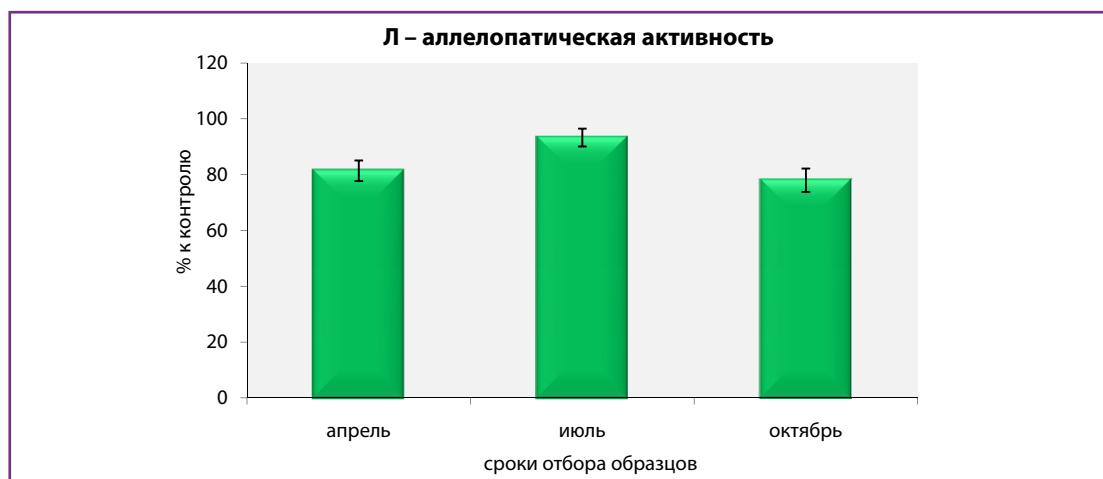


Рисунок 1 Л Численность микроорганизмов основных таксономических и эколого-трофических групп, направленность микробиологических процессов в почве под ольхой

Figure 1 Л The main microorganisms taxonomic and ecological-trophic groups number, the orientation of microbiological processes in the soil under alder

В опыте целлюлозолитическую активность оценивали по степени разложения фильтровальной бумаги на среде Гетчинсона. Ее значения коррелировали с численностью целлюлозолитических микроорганизмов (за исключением летнего отбора), но были довольно низки и не превышали 27,5 % (рис. 1, И).

В отличие от контрольной почвы, негативного влияния экзометаболитов растений ольхи на рост свободноживущей азотфиксирующей бактерии *Azotobacter chroococcum* не отмечено (рис. 1, К). Также почва под ольхой не проявила значительной аллелопатической активности (рис. 1, Л).

Выводы

Микробиологический и аллелопатический анализы почвы под *Alnus glutinosa* свидетельствует о том, что корневые выделения растения создают благоприятные условия для жизнедеятельности микроорганизмов. Интенсивность микробиологических процессов зависит от сезона, метеорологических условий и экзометаболитов растений.

Литература

- Волгонов, В.В., Надкреничная, О.В., Толмакова, Л.М., Мельничук, Т.М., Чайковська, Л.О. 2010. *Експериментальна ґрунтова мікробіологія*. К.: Аграрна наук. 464 с.
- Головко, Э.А. Элланская, Н.А. Кострома, Е.Ю. 1982. Аллелопатическое почвоутомление и фитотоксические свойства почвенных микроскопических грибов. *Аллелопатия в естественных и искусственных фитоценозах*. К.: Наук. думка. с. 86–95.
- Елланська, Н.Е., Горелов, О.О. 2012. Ґрунтова мікробіота представників роду Вільха (*Alnus* Mill.) *Вісник прикарпатського нац. ун-ту ім. Василя Стефаника. Серія Біологія*, Вип. XVI, с. 46–51.
- Елланська, Н.Е., Горелов, О.О. Дзюба, О.І. 2013. Алеллопатична характеристика деяких видів роду *Alnus* Mill. *Інтродукція рослин*, № 4, с. 104–108.
- Елланська, Н.Е. Левчик, Н.Я. Юношева, О.П. 2013. Мікробні угруповання прикореневого ґрунту представників роду *Vitex* L. *Ґрунтознавство. Soil science*, т. 14, № 1–2 (22), с. 61–69.
- Теппер Е.З. Шильникова, В.К. Переверзева, Г.И. 2005. *Практикум по микробиологии*. М.: Дрофа. 256 с.



OUTCOMES OF *CALYCANTHUS* L. INTRODUCTION INTO THE CONDITIONS OF VOLYN UPLAND AND POSSIBILITIES OF ITS USAGE IN THE GREENERY PLANTING

Gavrylyuk Olga

Lesya Ukrainka Eastern European National University, Lutsk, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The paper presents results of researching of the bioecological features of three *Calycanthus* L. species, introduced into the conditions of the Volyn Upland. It is proved that the rhythm of seasonal development of the studied species in the conditions of introduction is stable, regardless of the temperature fluctuations the plant bloom and fruit annually. It has been proved, that under the conditions of introduction the plants have passed a complete cycle of growth and development, which is evidence of their adaptation to the regional conditions. The study of the ability of introduced species to seed and vegetative reproduction showed that first one is more promising. The success of introduction and their future usage in greenery plantings have been evaluated. These plants are characterized by high and average adaptation – IV–II and high and satisfactory acclimatization – 68–91 points. According to the assessment of their viability, it should be noted that the first group of perspective should include species of *Calycanthus fertilis* Walter, which plants have a higher score of the winter resistance. Ecological plasticity is a key factor of introduction success for North America plant species under introduction into the conditions of the Volyn Upland. North-American woody plants can be widely used not only at the locations of natural growing, but also in conditions of introduction. The evaluation of prospects of these species has a great significance for their wide distribution and introduction into the culture. Based on our observations, all species of *Calycanthus* L. deserve attention and a score of 4 was obtained on the decorative scale.

Keywords: introduction; *Calycanthus* L.; adaptation; development cycle; acclimatization; Volyn Upland

Introduction

Critical to the success of introductions is the selection of the most appropriate genetic forms in the species range and the maternal population that is as close as possible to the ecological conditions of growth to the site of introduction. The introduction of plants in most aspects of their activities is a regional phenomenon, and its application is largely determined by the possibilities of the localization where plants are introduced into the culture. The introductory opportunities of open ground are a combination of all climatic and soil factors in the area where the introduction is located, taking into account the factors of the anthropogenic impact and other factors of biotic and abiotic influence (Базилевская, 1964).

The long experience of introduction in the botanical gardens of our country allows us to consider the North America to be the largest source of introduction for the biological enrichment of

*Corresponding author: Olga Gavrylyuk, Lesya Ukrainka Eastern European National University, Lutsk, Ukraine, ✉ volyn garden@ukr.net

dendroflora (Гупский, 1957.). Of great interest in this respect are species of the genus *Calycanthus* L., which are a promising decorative culture for the conditions of the Volyn Upland. It is difficult to say why these plants are still rare: they are more enduring than many common heat-loving shrubs (Хессайон, 2006).

Species of the genus *Calycanthus* can be used as the ornamental and beautiful flowering plants for use in various types of landscape compositions. The creation of plantings of such plants is of particular interest since they have a long-life cycle and landscape solutions of them are not time-consuming, but durable.

The objective of the work is based on the comprehensive study of introduced species of the genus *Calycanthus* to assess the prospects of their introduction into the culture in the conditions of the Volyn Upland, to determine the success of the introduction of these species, depending on the ecological and biological features and to allocate a promising assortment for use in picturesque landscapes.

Materials and methodology

The objects of study were 3 species of the genus *Calycanthus* spp.: *Calycanthus fertilis* Walt., *Calycanthus floridus* L. and *Calycanthus occidentalis* Hook. et Arn., which are on an introductory test at an agrobiological station within the botanical garden of the Lesya Ukrainka East European University.

For the successful introduction of plants, it is important to study the rhythm of development, since the features of the passage of the phenological phases reflect the process of introductory adaptation of plants (Ворошилов, 1960) Regular passage of the introductent all phases of development, annual flowering, the formation of quality seeds are the signs of the success of adaptation to new environmental conditions (Мамаев, 1991).

Phenological observations were carried out by the method of phenological observations in the botanical gardens of the USSR. The method of R.H. Turetskaya was used in studies on vegetative reproduction. The method of integral digital assessment of the success of the introduction of S.V. Sidneva and P.I. Lapin (Лопин и Сиднева, 1973) was used to assess the success of the introduction of species of the genus *Calycanthus*. Seven main indicators were selected: the degree of annual ripening of shoots, winter hardiness, the conservation of plant habit, the ability to shoot, the regularity of shoot growth, the capacity for generative development, the methods of reproduction of the plants were under the study in the region of introduction.

To assess the adaptation the determination of acclimatization number proposed by Kohno was taken into constant conditions of the Volyn Upland. The method developed by M.A. Kokhno (Кохно и Курдюк, 1994) and A.A. Kalinichenko (Калиниченко, 1978) were conducted to assess the success of adaptation. On adaptive indicator was used to evaluate the level of adaptation. It is the result of multiplying winter hardiness, drought resistance, reproductive capacity. The estimation of plant drought resistance was determined by a six-point scale S.S. Pyatnitsky (Пятницкий, 1961); Winter hardiness – according to the five-point freezing scale of M.K. Vekhov (Вехов, 1957). Estimation of decorativeness was determined according to the A.A. Kalinichenko scale (Калініченко, 2003).

Results and discussion

Species of the genus *Calycanthus* grow naturally in the southeast (*Calycanthus fertilis*, *Calycanthus floridus*) and in the west (*Calycanthus occidentalis*) of North America. Deciduous shrubs are 2–3 m high, sometimes up to 6 m. The plants have a rounded crown, single dark purple flowers 2–7 cm in diameter, which mainly appear before the leaves bloom (Морщина, 1980).

An essential indicator of the adaptive capabilities of plants under the conditions of introduction is the completeness of their passage of phenological phases. As a result of the analysis of the data of phenological observations, it has been established that all the species we studied under the conditions of the Volyn Upland undergo a full cycle of seasonal growth and development. It is established that the beginning of vegetation of plants is determined by the sum of effective temperatures and the average daily air temperature. To start the *Calycanthus* growth process, it is necessary that the average daily air temperature reaches 4.9–12.9 °C, and the sum of effective temperatures is 59–86 °C. The vegetative period of species of the genus *Calycanthus* is quite long and was 179 ± 7.73 days in *Calycanthus floridus*, 189 ± 5.72 in *Calycanthus occidentalis* and 197.2 ± 5.38 days in *Calycanthus fertilis*.

The average growth of the shoots and the growth of the leaves depends on the amount of rainfall and the average daily a temperature of the air. The plants of *Calycanthus* species have only one growth period.

The intensive growth was recorded in the third decade of May. In the period of complete fruiting of shrubs, the average growth of shoots directly depends on the intensity of flowering and the intensity of fruiting. It was revealed that in the conditions of the Volyn Forest-steppe the longest flowering period was observed in *Calycanthus floridus* – 79.8 ± 3.0 days; *Calycanthus fertilis* – 70.4 ± 5.13 days; *Calycanthus occidentalis* – 64 ± 3.76 days. Thus, it is proved that the rhythm of seasonal development of the studied species in the conditions of introduction is stable, regardless of the temperature fluctuations the plant bloom and fruit annually.

The necessary condition for the introduction and cultivation of plants is the study of the characteristics of their reproduction. The study of the ability of introduced species to seed and vegetative reproduction showed an average real seed production (10–15 seeds per fetus). Nevertheless, we consider the seed method of reproduction of these species to be the most promising for these species, since a high laboratory (up to 90%) and field (85%) germination is observed. As a result of the study of the ability of species to vegetative reproduction, it was established that for *Calycanthus* plants the characteristic average value of rooting of green cuttings is *Calycanthus fertilis* (29–32%), *Calycanthus floridus* (29–31%), *Calycanthus occidentalis* (20–23%). When using a growth stimulant, the number of rooted cuttings increase by 14–25%. Experiments on vegetative reproduction with lignified cuttings also showed no significant differences, although the survival rates were slightly higher: *Calycanthus fertilis* (35–42%), *Calycanthus floridus* (33–41%), *Calycanthus occidentalis* (22–25%).

The change in the rhythm of the vital activity of plants is adaptive, and the more similar the new conditions of existence with the conditions of the natural range, the less noticeable the changes are and vice versa, the differences can be so significant that changes not only the rhythm of development, but also the life span of plants, their life form. Therefore, for the successful introduction of plants, it is important to have an objective assessment of their introductory possibilities, for which the method of climatic analogs is used. For the number of days with an air temperature above 5 °C, the forest steppe of Ukraine is similar to the Atlantic region of North America and certain regions of Transcaucasia; on the sum of average monthly positive temperatures – the north-eastern part of the Atlantic region of North America; on the humidity of the climate and the winter regime – the northern part of the Atlantic region of North America, Northeast China, Korea, the mountains of Central Asia. The established climatic analogs do not serve as absolute criteria for the species selection of woody plants for an introduction. The experience shows the possibility of increasing the adaptation of plants to the new conditions using various agrotechnical methods (artificial irrigation, shelter of the root system). This allows successfully to introduce species from the other regions, including the Pacific region of

North America, under the conditions of the Forest-Steppe of Ukraine. The zone of the Forest-Steppe, to which the Volyn Upland belongs, is a zone of wide introduction (Кохно и Курдюк, 1994).

According to the assessment of the viability of species of the genus *Calycanthus*, the first group of prospects for further introduction includes plants of the type *Calycanthus fertilis*, the second group – *Calycanthus floridus*, to the third – *Calycanthus occidentalis* (Table 1).

Table 1 Assessment of the viability of species of the genus *Calycanthus* L.

Species	Viability, ball							Total score	
	Rsh	Wh	H	Fsh	Gsh	GD	R	Σ	Gr
<i>C. fertilis</i>	20	25	10	3	5	25	7	95	I
<i>C. floridus</i>	20	20	10	3	5	25	7	90	II
<i>C. occidentalis</i>	15	15	5	3	5	25	7	75	III

Rsh – the degree of annual ripening of shoots, Wh – winter hardiness, H – the conservation of plant habit, Fsh – the formation of shoots, Gsh – the regularity of shoot growth, GD – the capacity for generative development, Σ – the sum of balls, Gr – perspective group

The success of acclimatization was assessed by determining the acclimatization number (A). It is the sum of indicators of growth, generative development, winter hardiness and drought resistance of woody plants. The obtained acclimatization number showed that the high rate of acclimatization is characteristic for *Calycanthus fertilis* species (A = 91) and *Calycanthus floridus* (A = 81) and satisfactory for *Calycanthus occidentalis* (A = 68).

The reliable information in the analysis of adaptation of introduced plants is based on the fact that external seasonal changes that occur in plants integrally reflect complex qualitative processes in their organisms (Колісніченко, 2004).

Our scale for assessing the success of adaptation of woody plants testifies the dependence of the reproductive capacity of plants on winter hardiness and drought resistance and proves the significant role of these abiotic factors in the process of adaptation (Table 2).

Table 2 Success of adaptation of species of the genus *Calycanthus* L.

Species	Wh	Dr	R	Ad. ind., %	Ad.
<i>C. fertilis</i>	4	5	4	80	IV
<i>C. floridus</i>	4	5	4	80	IV
<i>C. occidentalis</i>	3	4	4	48	II

Wh – winter hardiness, Dr – drought resistance, R – reproductive capacity, Ad. ind. – adaptive indicator, Ad. – adaptation level

As a result of the study, it was established that all species of the genus *Calycanthus* were adapted to the new conditions of the secondary range. A high level of adaptation (IV) was found in *Calycanthus fertilis* and *Calycanthus floridus* plants. *Calycanthus occidentalis* – medium level (II), but it should be noted that the adaptive indicator of this species is on the border of the indicators of the average and good level of adaptation.

It is known that for the creation of new landscaping facilities, modern highly abiotic and biotic resistant plants are needed. Particular preference is given to species that exhibit decorative for a long

time. Species of the genus *Calycanthus* correspond to these requirements. The difference in plant their habitus, flowering and its duration, the shape and color of flowers, the shape and length of the leaves, provide an opportunity to create highly artistic compositions. The decorative properties of the species studied vary not only because of seasonal changes, but also in age. They essentially depend on the skillful composite application of woody vegetation in a certain landscape and on the characteristics of growing conditions. On the basis of our observations, investigated species of *Calycanthus* deserve attention and a score of 4 was obtained on the decorative scale, and therefore the decorative qualities are obvious, there is a clear preference for plants among ornamental plantations.

Conclusions

When summarizing the introduction, it was noted that the investigated species are winter-hardy and drought-resistant, regularly bloom and bear fruit, form full-fledged seeds. The assessment of the success of the adaptation of the studied species was IV and II points, which indicates the high and average degree of adaptability of the introduced plants to the new conditions of existence and the prospects of cultivating them in the conditions of the Volyn Upland.

The assessment of the success of the adaptation of the studied species was IV and II points, which indicates the high and average degree of adaptability of the introduced plants to the new conditions of existence and the prospects of their cultivation in the conditions of the Volyn Upland.

References

- Базилевская, Н. 1964. *Об основах теории адаптации растений при интродукции*. Москва: Наука. 132 с.
- Вехов, Н. 1957. Методы интродукции и акклиматизации древесных растений. *Интродукция растений и зеленое строительство*. Вып. 5. М. Л.: Наука, с. 93–107.
- Ворошилов, В. 1960. *Ритм развития у растений*. Москва: Изд-во АН СССР. 136 с.
- Гурский, А. 1957. *Основные итоги интродукции древесных растений в СССР*. М. Л.: Изд-во АН СССР. 301 с.
- Калиниченко, А. 1978. Оценка адаптации и целесообразности интродукции древесных растений. *Бюллетень ГБС*, № 108. с. 3–8. ISSN 0366-502X.
- Калініченко, О. 2003. *Декоративна дендрологія: навч. посібник*. Київ: Вища школа. 199 с. ISBN 966-642-145-3.
- Колісніченко, О. 2004. *Сезонні біоритми та зимостійкість деревних рослин*. Київ: Фітосоціоцентр, с. 86–87. ISBN 966-306-056-7.
- Кохно, Н., Курдюк, А. 1994. *Теоретические основы и опыт интродукции древесных растений в Украине*. Киев: Наукова думка. 185 с. ISBN 5-12-003567-1.
- Лапин, П., Сиднева, С. 1973. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений. *Опыт интродукции древесных растений*. Москва: Изд-во Главн. Ботан. сада АН СССР, с. 7–67.
- Мамаев, С. 1991. Экологические аспекты интродукции растений. *Экология и интродукция растений на Урале*. Свердловск. с. 3–6.
- Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР*. 1975. Москва. 27 с.
- Морщицина, С. 1980. Семейство каликантовые (*Calycanthaеae*). Под ред. Тахтаджяна, А. *Жизнь растений*. Т.5 (1). Москва: Просвещение, с. 156–158. ISBN 978-5-458-27267-4.
- Пятницкий, С. 1961. *Практикум по лесной селекции*. Москва: Сельхоз. литер., журн. и плакаты. 148 с.
- Турецкая, Р. 1949. *Приёмы ускоренного размножения растений путём черенкования*. Москва: Изд-во АН СССР. 167 с.
- Хессайон, Д. 2006. *Всё о декоративноцветущих кустарниках*. Перевод с англ. Романовой, О. Изд. 2-е. Москва: Кладезь-Букс. с. 19. ISBN 5-93395-033-5.



DETOX EFFECT FROM SI-K FOLIAR TOP-DRESSING IN GREEN URBAN PLANTATIONS OF *AÉSCULUS HIPPOCÁSTANUM* L. AND *TILIA CORDATA* MILL.

Gololobova Olena*, Telegina Natalia, Tolstyakova Valentina

V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

ДЕТОКС-ЕФЕКТ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КРЕМНІЄВО-КАЛІЙНОГО ЛИСТОВОГО ПІДЖИВЛЕННЯ В МІСЬКИХ ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕННЯХ *AÉSCULUS HIPPOCÁSTANUM* L. AND *TILIA CORDATA* MILL.

Гололобова Олена, Телегіна Наталія, Толстякова Валентина

Received 18. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Modern studies emphasize the extraordinary importance of silicon nutrition of plants in the formation of plant resistance to biotic and abiotic stress. The aim of the research is to evaluate mineral nutrition and detox effect from Si-K foliar top-dressing, which was tested for urban plants *Aësculus hippocástanum* L. and *Tilia cordata* Mill. The paper contains data describing that foliar top-dressing with Si-K concentrate causes better detox effect from Pb and Cd. In *Aësculus hippocástanum* foliage: Pb concentration was 14 times reduced and Cd concentration was 2 times reduced. In *Tilia cordata* foliage the Cd concentration was 2 times reduced and Pb concentration was 1.9 times reduced. In *Tilia cordata* flowers the Cd concentration was 2.5 times reduced. It was noted increasing in biogenic elements: zinc in *Aësculus hippocástanum* foliage, copper – in *Tilia cordata* foliage. It's can be explained by the genetically determined needs of these plants and the ability of silicon to contribute to meeting these needs.

Keywords: Si-K foliar top-dressing; heavy metals; detox-effect; green urban plants; biogenic elements

Вступ

В теперішній час все більше уваги необхідно приділяти проблемі покращення стійкості рослин до абіотичних та біотичних стресів, які вони зазнають в міських умовах (Башаркевич та ін., 1998; Нефедов, 2002; Тюльдюков та ін., 2002). Актуальним є пошук ефективних, але безпечних для мешканців населених пунктів, агроекологічних прийомів покращення умов росту і розвитку міських насаджень та можливість їх регулярного застосування. Дослідження провідних світових вчених останніх років підкреслюють надзвичайну важливість кремнієвого живлення рослин в формуванні стійкості рослин до біотичних та абіотичних стресів (Матыченков, 2008; Бочарникова, 2011; Матыченков, 2014).

На сучасному етапі з'явилася значна кількість робіт, в яких вчені показали, що кремній є надзвичайно важливим та необхідним елементом для виживання рослин. Вагомий внесок

***Corresponding author:** Olena Gololobova, V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine,
✉ valeo.elena@gmail.com

у дослідження теоретичного плану по впливу кремнію на поведінку інших елементів у рослинах і системах рослин – ґрунт внесли роботи В. В. Матиченкова, І.В. Матиченкова, А.Х. Куликової.

Використання кремнієвих добрив і меліорантів для відновлення природного балансу поживних елементів у системі ґрунт–рослина, зниження швидкості деградаційних процесів та одержання стабільних урожаїв високої якості, такі наукові інтереси І.В. Матиченкова (Матиченков, 2014). Розробка високоінформативних і простих у виконанні методів визначення розчинних форм кремнію в рослинах, ґрунтах, природних водах, систематизація природних закономірностей біогеохімічного кругообігу основних розчинних форм кремнію у рослинних асоціаціях різних кліматичних зон і виявлення ролі антропогенного чинника у перерозподілі і трансформації розчинних форм кремнію в системі ґрунт–рослина – наукові інтереси В.В. Матиченкова (Матиченков, 2008). В роботах А.Х. Куликової наведені результати використання висококременистих порід діатоміту, опоки як добрива для сільськогосподарських культур. Встановлена їх висока ефективність при вирощуванні овочевих, зернових та просапних культур (Куликова, 2010).

Таким чином, рішення таких завдань, як розвиток екологічно чистого рослинництва, а також забезпечення продовольчої незалежності утруднено без широкого застосування кремнієвих добрив і ґрунтових меліорантів. Сьогодні щорічне виробництво кремнієвих добрив у світі становить приблизно 4 млн. т. В той же час річні потреби для стійкого ведення сільського господарства складають 700 млн. т. (Матиченков, 2014). Сучасне прагнення до екологічно чистих агротехнологій дає шанс для активного використання цього типу добрив.

Матеріали та методи

З метою вивчення ефективності застосування кремнієво-калійного позакореневого підживлення на надходження елементів мінерального живлення та детокс-дії в зелених насадженнях каштану і липи нами було проведено ряд польових та лабораторних досліджень. Для кремнієво-калійного листового підживлення ми використовували інноваційний препарат «Квантум-АКВАСИЛ», який містить 10 % калію, 20 % кремнію, а також 1 % гумінових речовин для покращення засвоєння і проникнення та виробляється в Україні науково-виробничою компанією «Квадрат» [Квантум. Хелатні добрива]. Дослідження проводили у 2015 – 2016 рр. на зелених алейних насадженнях низькорослих форм каштану кінського звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) та липи дрібнолистої (*Tilia cordata* Mill.) висотою до 4 м, розташованих на території смт. Докучаєвське Харківського району Харківської області. Засвоєння кремнію кореневою системою рослин досягає максимум 1 – 5 % від наявної кількості доступних форм у ґрунтового розчину. При обприскуванні вегетуючих рослин водним розчином кремнію, рівень його поглинання листям складає 30 – 40 % [Квантум. Хелатні добрива]. Тому агроприйомом нашого вибору стало листове підживлення насаджень каштану та липи, яке проводили 0,5 % розчином препарату стандартним обприскуванням у вечірній час. Проводили дві обробки. Перша з них була проведена у фазі початку цвітіння для каштану та у фазі формування повного листа липи. Друга проводилася через 19 днів після першої у фазі формування бутонів цвіту липи та у фазі повного цвітіння каштану. Через 23 дні після проведення другої обробки були відібрані зразки листя каштану, листя і квітів липи. Другий відбір листя відбувся через 43 дні після проведення другої обробки дерев. Аналіз листя каштану та липи, а також квіток липи проводився на вміст загального азоту, фосфору, калію та важких металів спільно з аналітичною лабораторією відділку агрохімії ННЦ ІГА імені О.Н. Соколовського.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження вмісту елементів живлення в листі дерев каштану представлені в таблиці 1, липи – у таблиці 2.

Таблиця 1 Вміст NPK у повітряно-сухій масі листя *Aesculus hippocastanum* L., %, середнє за 2015 – 2016 рр.

Table 1 NPK content in air-dry mass of leaves *Aesculus hippocastanum* L., %, average for 2015–2016

Варіант	Загальний азот	Загальний фосфор	Загальний калій
I відбір			
Контроль	1,56	0,38	1,04
Обробка	1,87	0,42	1,24
II відбір			
Контроль	1,77	0,32	0,94
Обробка	1,87	0,42	1,25

Таблиця 2 Вміст NPK у повітряно-сухій масі листя *Tilia cordata* Mill., %, середнє за 2015 – 2016 рр.

Table 2 NPK content in air-dry mass of leaves *Tilia cordata* Mill., %, average for 2015–2016

Варіант	Загальний азот	Загальний фосфор	Загальний калій
I відбір			
Контроль	2,53	0,35	1,38
Обробка	2,69	0,46	1,56
II відбір			
Контроль	2,50	0,37	1,45
Обробка	2,76	0,47	1,57

Результати свідчать, що запропоноване підживлення сприяло оптимізації азотного, фосфорного та калійного режимів.

Результати аналізу вмісту важких металів у рослинних зразках наведені в таблицях 3 та 4. З отриманих результатів ми можемо зробити висновок, що після обробки кремнієво-калійним концентратом вміст небезпечних важких металів в листі каштану зменшився (табл. 2). Так, концентрація небезпечного свинцю зменшується в 14 разів та кадмію в 2 рази. Також зменшилась концентрація таких елементів, мг/кг: нікелю (Ni) з 1,44 до 1,26; кобальту (Co) з 0,08 до 0,005; марганцю (Mn) з 105,6 до 76,45; купруму (Cu) з 4,82 до 4,49.

Таблиця 3 Вміст важких металів у листках *Aesculus hippocastanum* L., мг/кг п. с. м., 2015 р.

Table 3 The content of heavy metals in the leaves *Aesculus hippocastanum* L., mg/kg of air-dry mass, 2015

Варіант	Zn	Cd	Ni	Co	Fe	Mn	Pb	Cu	Cr
Контроль	8,83	0,18	1,44	0,08	102,41	105,6	1,42	4,82	0,34
Підживлення	11,105	0,09	1,26	0,005	102,72	76,45	0,10	4,49	1,15

Вміст концентрації таких металів, як цинк та хром зросли, але ці елементи виконують біогенну функцію, також потрібно враховувати, що сучасні ґрунти мають дефіцит цинку, тому це можливо відповідає вимогам рослин.

Схожа тенденція спостерігається і для липи (табл. 4). Концентрація кадмію в листі липи зменшилася в 2 рази, свинцю в 1,9 рази. Зменшується концентрація, мг/кг: цинку з 20,12 до 17,46; нікелю з 0,81 до 0,715; заліза з 122,61 до 115,94; мангану з 69,99 до 60,55; хрому з 0,62 до 0,56. Збільшилася концентрація міді в 1,22 рази, це можна прийняти як позитивний результат, оскільки мідь має біогенні властивості і бере участь в живленні рослин.

Таблиця 4 Вміст важких металів у листках та квітках *Tilia cordata* Mill., мг/кг, 2015 р.
Table 4 The content of heavy metals in leaves and flowers *Tilia cordata* Mill., mg/kg, 2015

Варіант	Zn	Cd	Ni	Co	Fe	Mn	Pb	Cu	Cr
Контроль, листя	20,12	0,03	0,81	0,005	122,61	69,99	2,67	3,59	0,62
Підживлення, листя	17,46	0,015	0,715	0,005	115,94	60,55	1,42	4,405	0,56
Контроль, квіти	18,76	0,21	0,715	0,005	43,99	24,79	2,25	4,68	0,67
Підживлення, квіти	21,36	0,09	0,285	0,005	78,77	58,63	2,15	6,083	0,42

В квітках липи спостерігається підвищення вмісту таких металів, як цинк, нікель, залізо, манган, мідь. Концентрація кадмію зменшується в 2,3 рази. Також зменшується вміст хрому. Враховуючи те, що при приготуванні чаїв та напоїв з квіток липи кадмій переходить у водну фазу, позитивним фактором є його зменшення в рослинній сировині майже в 2,3 рази.

Вміст свинцю в квітках липи, що оброблялися, також знизився, але тільки на 4,5 %. Це очікуваний результат. Алейні насадження розташовані вздовж автомобільного шляху, тому свинець, котрий потрапляє до квіток аеральним шляхом, завдяки самій морфології квіточок, а саме, наявності великої кількості тичинок, добре затримується. В той самий час, кремній, який концентрується в епідермальних тканинах листя, захищає його від аеральних емісій свинцю.

За даними ННЦ ІГА імені О.Н. Соколовського більшість ґрунтів, в тому числі і чорноземні ґрунти, мають низький рівень вмісту цинку <0,20 мг/кг, міді <1,5 – 2,0 мг/кг ґрунту (Концепція агрохімічного забезпечення землеробства України на період до 2015 року, 2009). Тому збільшення біогенних елементів: цинку – у каштані, міді – в липі можливо пояснити генетично обумовленими потребами цих рослин і здатністю кремнію покращувати надходження елементів живлення й тим самим сприяти забезпеченню цих потреб.

Висновки

Вивчення детокс-дії показує високу ефективність листового кремнієво-калійного підживлення. Концентрація свинцю зменшилася в листі каштану в 14 разів, кадмію в 2 рази. Концентрація кадмію в листі липи зменшилася в 2 рази, свинцю в 1,9 рази. В квітках липи концентрація кадмію зменшилася в 2,3 рази. Збільшення біогенних елементів: цинку – у каштані, міді – в липі можливо пояснити генетично обумовленими потребами цих рослин і здатністю кремнію сприяти забезпеченню цих потреб.

Література

- Башаркевич, И.Л., Морозова, И.А., Самаев, С.Б. 1998. Влияние химического состава городских почв на состояние древесных насаждений. Экология большого города. М.: Прима-Пресс. Вып. 3: Проблемы содержания зеленых насаждений в условиях Москвы, с. 62–73.
- Бочарникова, Е.А., Матыченков, В.В., Матыченков, И.В. 2011. Кремниевые удобрения и мелиоранты: история изучения, теория и практика применения. *Агрохимия*, № 7, с. 84–96.
- Квантум. Хелатні добрива [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://quantum.ua/ru/>

- Концепція агрохімічного забезпечення землеробства України на період до 2015 року. 2009. За ред. академіка УААН С. А. Балюка, д. с.- г. н. М. В. Лісового. Харків: Міськдрук, 37 с.
- Куликова, А.Х. 2010. Влияние высококремнистых пород как удобрений сельскохозяйственных культур на урожайность и качество продукции. *Агрохимия*, № 7, с. 18–25.
- Матыченков, В.В. 2008. Роль подвижных соединений кремния в растениях и системе почва растение : автореф. Пушино. 34 с.
- Матыченков, И.В. 2014. Взаимное влияние кремниевых, фосфорных и азотных удобрений в системе почва-растение : диссертация канд. биол. наук. Москва. 136 с.
- Нефедов, В.А. 2002. *Ландшафтный дизайн и устойчивость среды*. СПб. : Полиграфист. 295 с.
- Тюльдюков, В.А., Парахин, Н.В. 2002. *Газоноведение и озеленение населенных территорий*. М. : Колос. 146 с.



CHARACTERISTIC OF HYBRIDS OF *PERSICA VULGARIS* MILL. OF THE COLLECTION OF M.M. GRYSHKO NATIONAL BOTANICAL GARDEN OF NAS OF UKRAINE

Golubkova Irina*, Neminushchy Vladimir

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ХАРАКТЕРИСТИКА ГИБРИДОВ *PERSICA VULGARIS* MILL. КОЛЛЕКЦИИ НАЦИОНАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА ИМЕНИ Н.Н. ГРИШКО НАН УКРАИНЫ

Голубкова Ирина, Неминуший Владимир

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

In the article, an important role of creation of genetic collections of fruit crops which are a basis for selection work is noted. An introduction of new highly productive grades of the peach meeting modern requirements of the market and the consumer, with a high level of adaptation to ecological conditions is necessary. Descriptions of eight hybrids of peach of the M.M. Gryshko National Botanical Garden are resulted. With the work, purpose was to allocate the perspective economic-valuable hybrids adapted for conditions of Forest-Steppe of Ukraine. As a result of supervision, these hybrids can be related to group of middle-ripening sorts. They differ with coloring, pulp density, weight of a fruit and force of growth. Plants basically average with a sprawling crone. Also in article prospects of further use of the allocated genotypes of a peach in selection work are considered. New hybrids will expand zoned and perspective assortment drupaceous cultures of domestic selection and will give the chance to create adaptive and stably fructifying plantings drupaceous crops in northern areas of Ukraine.

Keywords: peach; hybrids; plants; fruits; pulp

Введение

Коллекции плодовых культур ботанических садов и научно-исследовательских учреждений являются базой для селекционной работы по созданию новых сортов, выделению, сохранению доноров и источников ценных генетических признаков, расширению регионального промышленного сортимента за счет новых, перспективных сортов отечественной селекции (Голубкова, 2016).

За период формирования и развития Национального ботанического сада им. Н.Н. Гришко учеными-селекционерами М.Ф. Кащенко, И.М. Шайтаном и его последователями была проделана огромная работа по возрождению культуры персика, созданию его генофонда, главным образом, на генетической основе из семян и сортов *Persica vulgaris* Mill. китайского происхождения.

*Corresponding author: Irina Golubkova, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ ira_golubkova@mail.ru

Такая практика показала, что растения унаследовали крупноплодность и стрессоустойчивость к экологическим факторам среды. Сейчас гибридный генофонд коллекции НБС составляет около 60 % от общего сортимента, представленного в коллекции. Поэтому одним из приоритетных направлений в селекционной практике современного садоводства остается выведение высокопродуктивных сортов персика адаптированных, устойчивых к неблагоприятным факторам среды, заболеваниям и обладающих хорошими пищевыми качествами.

Материалы и методы

Наблюдения проводилась в отделе акклиматизации плодовых растений Национального ботанического сада им. Н.Н. Гришко (НБС). Целью работы было выделить перспективные гибриды с хозяйственно-ценными признаками и биологически адаптированными к абиотическим и биотическим факторам. Комплексную оценку гибридов проводили в соответствии со стандартными методами и методиками (Методика .., 1961; Программа .., 1973).

Результаты и их обсуждение

В результате наблюдений и изучения морфометрических параметров плодов персика, из основного числа растений по комплексу признаков мы выделили минимальное число перспективных гибридных форм, подготовленных к сортоиспытанию. Ниже приведено их краткое описание и иллюстрированное изображение.

Сеянец Румяного. Дерево среднерослое с раскидистой кроной. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды созревают во второй – начале третьей декады июля. Средняя масса – 155 г, форма плода округлая с выраженным брюшным швом, и розовым штриховым румянцем. Мякоть плодов кремовая, хрящеватая, сочная, средне-плотная, кисло-сладкая. Косточка отделяется от мякоти.

Сеянец Ташкентский. Дерево сильнорослое с раскидистой кроной. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды созревают во второй-третьей декаде июля. Средняя масса – 160 г, форма плода округлая, плод с розовым размытым румянцем. Мякоть плодов желтая, хрящеватая, волокнистая, средне-плотная, сладкая. Косточка плохо отделяется от мякоти.

Гибрид 5-1. Дерево слаборослое. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды созревают в первой – второй декаде июля. Средняя масса – 145 г, форма плода округлая, плод почти без румянца. Мякоть плода беловато-кремовая, нежная, сладкая. Плод слегка опушенный. Косточка хорошо отделяется от мякоти.

Гибрид 16-5. Дерево среднерослое с раскидистой кроной. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды созревают в первой декаде августа. Средняя масса – 162 г, форма плода округлая с выраженным швом и ярким розовым румянцем на трети плода. Мякоть оранжево-желтая слегка хрящеватая, сочная, кисло-сладкая. Косточка хорошо отделяется от мякоти.

Гибрид 610. Дерево среднерослое. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды средней величины созревают в третьей декаде июля, первой декаде августа. Средняя масса – 112 г, форма плода округлая, брюшной шов слегка заметный. Окраска плода желтая с почти незаметным румянцем. Мякоть оранжево-желтая, нежная, сочная. Косточка хорошо отделяется от мякоти.

Гибрид 810. Дерево среднерослое. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды средней величины, созревают в первой декаде августа. Масса – 130 г, форма плода округлая брюшной шов слегка заметный. Окраска плода кремовая с легким румянцем. Мякоть кремовая очень нежная, сочная. Косточка хорошо отделяется от мякоти.

Гибрид 122 Гл. Дерево среднерослое. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды крупные, созревают в первой – второй декаде июля. Масса – 175 г, округлой формы, плод почти без румянца. Мякоть беловато-кремовая, нежная, сочная. Плод слегка опушенный. Косточка отделяется от мякоти.

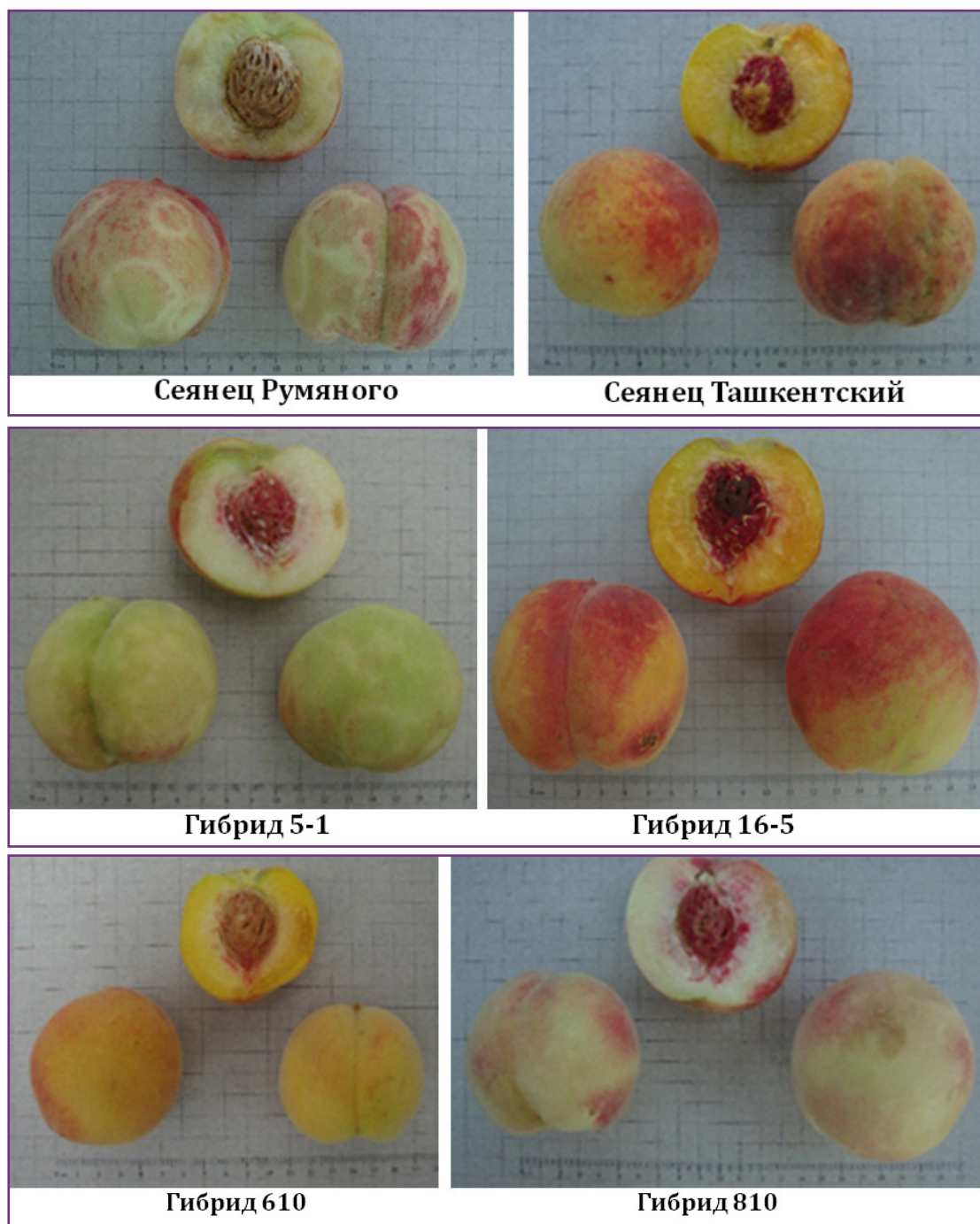


Рисунок 1а Форма и окраска плодов гибридов *Persica vulgaris* Mill.
Figure 1a Form and color of fruits of hybrids of *Persica vulgaris* Mill.

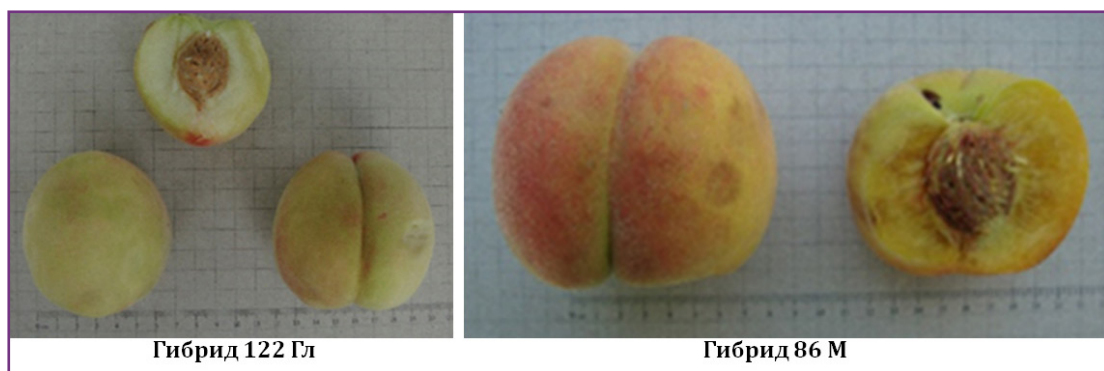


Рисунок 16 Форма и окраска плодов гибридов *Persica vulgaris* Mill.

Figure 16 Form and color of fruits of hybrids of *Persica vulgaris* Mill.

Гибрид 86 М. Дерево средней силы роста. Зимостойкость 2 – 3 балла. Плоды созревают во второй-третьей декаде августа. Плод округлой формы с размытым румянцем на половину его площади, средняя масса – 170 г, вершина слегка вдавленная, брюшной шов сильно выражен. Мякоть желтая, волокнистая, сочная. Косточка отделяется от мякоти.

Выводы

Таким образом, выделенные гибриды характеризуются средними сроками созревания и округлой формой плодов. Окраска и величина плода варьирует в пределах от 110 до 180 г. Дегустационная оценка плодов составляет от 4,0 до 4,5 балла (по 5-ти балльной шкале). Основное преимущество этих гибридов – повышенная морозоустойчивость, что в свою очередь, обеспечивает стабильные урожаи. Выделенные перспективные гибриды позволят существенно расширить ареал возделывания персика в северных регионах Украины, а также послужат исходным материалом для дальнейших селекционных исследований.

Литература

- Голубкова, І.М. 2016. Генофонд та перспективи селекції *Persica* Mill. у НБС ім. Гришка НАН України. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, т. 18, с. 77–80.
- Методика государственного сортоиспытания плодовых, ягодных культур и винограда*. 1961. Москва. 97 с.
- Программа и методика селекции плодовых ягодных и орехоплодных культур*. 1973. Мичуринск. 491 с.



INCUBATIONAL QUALITY OF EGGS AND EMBRYONAL DEVELOPMENT OF CHICKENS DEPENDING ON THE STORAGE TIMES

Goncharyk Olga

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ІНКУБАЦІЙНІ ЯКОСТІ ЯЄЦЬ ТА ЕМБРІОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК КУРЧАТ ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕРМІНІВ ЗБЕРІГАННЯ

Гончарик Ольга

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The article presents the results of evaluation of the effects of storage periods (1, 5, 8, 11 days) on incubation eggs of chickens of modern specialized egg crosses on their incubation qualities and embryonic development of chickens. The significant influence of the storage period and age of the parent herd on the investigated parameters is established. On the basis of biological control, it was found that the highest number of eggs with a "blood ring" (6.6 and 8.8%) was observed during the incubation of chicken eggs of "white" and "brown" cross, respectively, at the age of 80 weeks for lengthening the storage period until 8 weeks, as well as for eggs, obtained from birds of both crosses for 11-day storage (2.9–5.1%). The largest number of "dysfunctions" compared to other experimental groups of eggs was found for chicken eggs of the Hayes brown class at the age of 28 and 60–80 weeks, for the Hayes white cross – at the age of 28–34 and 80 weeks of all storage periods. For the studied crosses, a sharp increase in the yield of weak chicks (up to 1.5–2.2%) was found during the incubation of eggs from poultry 42–60 weeks of age for storage of 8 days and more, as well as 80-week old birds. Thus, qualitative indices of the incubation eggs of chickens of modern specialized crosses are largely determined both by the age of the bird of the parent flock and the duration of the pre-incubation storage of eggs. At acceptable fertility rates of 80-week-old eggs, the level of withdrawability is significantly lower by increasing the number of dead embryos and weak chickens. Extension of the shelf life of incubation eggs leads to an increase in the number of frozen embryos and "dysfunctions". In order to increase the profitability of the technological process in the incubator, it is necessary to carry out a comprehensive analysis of the expediency of incubating poultry eggs for a different storage period.

Keywords: incubation; egg incubation; shelf life; embryonal development

Вступ

Отримання максимальної кількості молодняку високої якості – основне завдання племінних птахівничих господарств і, зокрема, інкубаторів. Якість молодняку визначається ще у період ембріонального розвитку і залежить від генетичних факторів, умов утримання та годівлі батьківського поголів'я, біологічної повноцінності яєць, умов їх зберігання після знесення, технології інкубації та умов, в яких він знаходиться після виводу до передачі на вирощування

*Corresponding author: Olga Goncharyk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ honcharykolga@gmail.com

(Ткаченко та ін., 2009; Гончарик та Пономаренко, 2015). Часто за об'єктивних причин внаслідок варіабельності замовлень і обсягів, сезонних коливань попиту на добовий молодняк практикують подовження термінів зберігання яєць перед інкубацією.

Пролонговане зберігання інкубаційних яєць загалом має негативний вплив на результати інкубації – зі збільшенням термінів зберігання внутрішня якість яєць знижується, що виражається як у зниженні якості білка, так і цілісності вітелінової оболонки; спостерігається також і відмирання клітин ембріону. Крім того, спостерігається подовження строків інкубації яєць, тобто збільшується «вікно виводимості», що впливає на якісні показники отримуваних курчат (Бурдашкіна, 2012). Для зниження негативного впливу тривалого зберігання інкубаційних яєць на їх якісні показники запропоновано певні технологічні прийоми, які використовуються у практичній роботі в інкубаторіях (Дядичкіна, 2008; Бурдашкіна, 2012).

Нині у птахівничих господарствах терміни використання птиці батьківського стада збільшуються, що є економічно вигідним, при цьому накопичення яєць для формування партії для інкубації є загальноприйнятим явищем. За таких умов вивчення впливу тривалості зберігання інкубаційних яєць птиці різного віку на їх якісні показники є актуальним. Тому метою нашої роботи було визначити вплив термінів зберігання інкубаційних яєць курей спеціалізованих яєчних кросів впродовж всього періоду використання на їх якісні показники.

Матеріали та методи

Дослідження проведені в умовах племінного птахівничого підприємства з розведення курей яєчних кросів «Хайсекс білий» і «Хайсекс коричневий». Для дослідження відбирали яйця, отримані від курей у віці 28, 34, 42, 60, 80 тижнів. Закладання яєць на інкубацію здійснювали на 1-й, 5-й, 8-й, 11-й день після знесення. Умови зберігання яєць перед інкубацією і технологія інкубації яєць у господарстві відповідали існуючим вимогам. Впродовж інкубації проводили біологічний контроль, після виводу – оцінку інкубаційних якостей яєць і молодняку птиці.

Результати та їх обговорення

За результатами проведених досліджень (табл. 1) відзначимо загалом високий рівень заплідненості яєць. Значення цього показника коливалися в межах 87,5 – 97,8 % і 80,14 – 98,57 % для курей «коричневого» і «білого» кросу відповідно. Щодо курей кросу «Хайсекс коричневий» – найвищий рівень цього показника спостерігали у птиці 34 – 42-тижневого віку, надалі – поступове зниження, але і у віці 80 тижнів цей показник становив 90,44 – 97,8, що є доволі високого рівня. Для курей кросу «Хайсекс білий» спостерігали подібну тенденцію, але при цьому зниження рівня показника наприкінці продуктивного використання птиці є значно більшим – до 80,14 – 88,97 %.

Аналіз показника виводимості яєць є основним при визначенні впливу термінів зберігання інкубаційних яєць на їх якість. Загалом рівень виводимості яєць курей «коричневого» кросу варіює в межах 75,4 – 90,5 %, «білого» кросу – 74,3 – 93,5 %, при цьому чітко простежується тенденція до зниження виводимості залежно від терміну зберігання. Виводимість яєць знижується зі збільшенням терміну зберігання – на 4,5 – 8,2 % для «коричневого» кросу, на 2,7 – 5,4 % – для «білого» кросу. Так, виводимість яєць курей кросу «Хайсекс коричневий» за мінімального терміну зберігання становить 80,6 – 90,5 %, за зберігання впродовж 8 діб – показник виводимості знижується і становить 77,0 – 87,0 %. Для яєць курей кросу «Хайсекс білий» ці значення становили 80,0 – 93,5 та 74,3 – 89,1%. Відзначимо, що найменше зниження виводимості яєць спостерігали при інкубації яєць, отриманих від курей віком 34 – 60 тижнів для обох досліджуваних кросів.

Таблиця 1 Результати інкубації яєць за різних термінів їх зберігання
Table 1 Results of incubation of eggs for different storage periods

Показник	Термін зберігання яєць, дів	Крос «Хайсекс коричневий» вік птиці, тижні					Крос «Хайсекс білий» вік птиці, тижні				
		28	34	42	60	80	28	34	42	60	80
Заплідненість, %	1	97,14	97,86	95,72	92,14	97,80	96,0	97,24	98,57	94,85	88,24
	5	94,50	96,43	90,72	87,50	91,18	96,0	97,24	98,53	95,59	88,97
	8	89,66	91,90	96,31	89,71	90,44	96,71	96,43	98,57	91,91	80,14
	11	–	97,14	95,72	86,76	91,91	97,06	95,59	–	–	–
Виводимість, %	1	85,3	90,5	88,8	80,6	85,0	81,9	87,2	93,5	89,1	80,0
	5	83,2	87,4	86,6	78,2	82,3	81,9	85,8	90,3	86,9	76,9
	8	79,2	86,4	87,0	77,0	77,2	77,2	85,2	89,1	86,4	74,3
	11	–	86,8	84,3	75,4	76,8	85,6	87,7	–	–	–
Вивід, %	1	82,9	88,6	85,0	74,3	83,1	78,7	84,8	92,1	84,6	70,6
	5	78,6	84,3	78,6	68,4	75,0	78,7	83,4	89,0	83,1	68,4
	8	71,0	79,4	83,8	69,1	69,9	74,7	82,1	87,9	79,4	59,6
	11	–	84,3	80,7	65,4	70,6	83,1	83,8	–	–	–
«Кров'яне кільце», %	1	2,1	2,1	1,4	3,6	2,2	2,7	1,4	0,7	1,5	1,5
	5	2,1	1,4	2,9	3,7	5,1	2,7	2,8	2,9	2,9	2,9
	8	2,8	2,2	2,9	3,7	8,8	3,3	2,9	3,6	2,9	6,6
	11	–	5,0	3,6	3,7	2,9	5,1	3,7	–	–	–
«Задохлики», %	1	9,3	5,7	8,6	10,7	8,8	8,0	7,6	4,3	8,1	14,0
	5	11,7	8,6	7,1	15,4	6,6	10,0	8,3	4,4	6,6	11,0
	8	13,8	7,4	6,6	15,4	9,6	12,7	9,3	4,3	5,1	11,8
	11	–	5,7	7,1	15,4	15,4	6,6	5,1	–	–	–
Усушка, %	1	4,0	4,2	4,5	5,6	5,3	4,2	3,2	3,6	3,4	3,7
	5	4,4	5,1	4,4	5,1	6,4	4,4	3,6	5,1	4,1	4,8
	8	4,5	4,1	5,0	5,1	5,5	4,5	3,8	2,8	4,2	4,5
	11	–	4,9	3,4	7,4	5,9	4,5	3,4	–	–	–
Слабі курчата, каліки, %	1	0,7	0,0	0,0	2,1	1,5	2,7	1,4	0,7	0,7	2,2
	5	0,7	0,7	0,7	0,0	2,2	2,0	1,4	0,7	1,5	2,2
	8	0,7	0,7	1,5	0,7	1,5	2,7	0,7	2,1	2,2	2,2
	11	–	0,0	2,1	0,7	1,5	1,5	1,5	–	–	–

Враховуючи вищезазначене, зрозумілим є нижчий рівень цього показника за тривалого зберігання яєць, особливо щодо яєць, які отримані від птиці у молодому і старшому віці – у 28 і 80 тижнів, що свідчить про нижчий рівень їх якості.

На основі проведеного біологічного контролю встановлено, що найвища кількість яєць з «кров'яним кільцем» (6,6 та 8,8 %) відзначена при інкубації яєць курей «білого» і «коричневого» кросу відповідно віком 80 тижнів за подовження термінів зберігання до 8 тижнів, а також для яєць, отриманих від птиці обох кросів за 11-добового їх зберігання (2,9 – 5,1 %).

Найбільша кількість «задохликів» порівняно з іншими дослідними групами яєць встановлена для груп яєць курей кросу «Хайсекс коричневий» у віці 28 та 60 – 80 тижнів, для кросу «Хайсекс білий» – у віці 28 – 34 та 80 тижнів всіх термінів зберігання.

Для досліджуваних кросів виявилось характерним різке збільшення виходу слабких курчат (до 1,5 – 2,2 %) при інкубації яєць, отриманих від птиці 42 – 60-тижневого віку за зберігання 8 діб і вище, а також птиці 80-тижневого віку.

Висновки

Якісні показники інкубаційних яєць курей сучасних спеціалізованих кросів значною мірою визначаються як віком птиці батьківського стада, так і тривалістю передінкубаційного зберігання яєць. За прийнятних показників заплідненості яєць птиці 80-тижневого віку рівень виводимості є значно нижчим за рахунок підвищення кількості загиблих ембріонів та слабких курчат. Подовження термінів зберігання інкубаційних яєць призводить до збільшення кількості завмерлих ембріонів та «задохликів». Для підвищення показників рентабельності технологічного процесу в інкубаторії необхідним є проведення комплексного аналізу доцільності інкубації яєць птиці за різного терміну зберігання яєць.

Література

- Бурдашкіна, В. 2012. Возраст родительского стада и инкубационные качества яйца [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://webpticeprom.ru/ru/articles-pedigree.html?pageID=1328276678>
- Гончарик, О.А., Пономаренко, Н.П. 2015. Оцінювання якості інкубаційних яєць курей за різних термінів їх зберігання. *Сучасне птахівництво*, №10 (155), с. 19–20.
- Дядичкіна, Л. 2008. Возраст кур и сроки хранения яйца. *Животноводство России*, № 5, с. 21.
- Ткаченко, С.М., Шоміна, Н.В., Тагіров, М.Т., Терещенко, О.В. 2009. Вплив довготривалого зберігання яєць на якість добового молодняку. *Птахівництво: міжвідомчий тематичний науковий збірник*. Харків, вип. 64, с. 174–182.



OLD PEONY CULTIVARS IN THE COLLECTION OF THE M.M. GRYSHKO NATIONAL BOTANICAL GARDEN OF NAS OF UKRAINE

Gorobets Vasyl*, Scherbacova Tatiana

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

СТАРОВИННІ СОРТИ ПІВОНІЙ В КОЛЕКЦІЇ НАЦІОНАЛЬНОГО БОТАНІЧНОГО САДУ ІМ. М.М. ГРИШКА НАН УКРАЇНИ

Горобець Василь, Щербакова Тетяна

Received 23. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The collections of living plants of Botanical Gardens are created for decades and reflect the cultivars and species diversity of culture, the history of its development, the orientation and efficiency of breeding. The gene pool of collections is the basis for the emergence of the new domestic cultivars, their comparative study, testing and evaluation. Collection of the Peony of the M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine (NBS) is one of the richest among the countries of the near abroad and Eastern Europe. The gene pool of collection today has 10 species and 650 cultivars. It presents the varieties of all existing garden groups at the level of the most advanced achievements of the world breeding. In addition, the collection serves as the basis for preserving an entire group of historically valuable peony. The purpose of the work was to study the peony collection and to analyze cultivars of old selection breeds of XIX and the beginning of the XX century which were mobilized in the NBS. Morphological, phenological methods and methods of analytical and synthetic selection have been applied. The analysis of the collection has shown that the old varieties are represented by 82 cultivars that were created by breeders of Europe and the USA in the XIX and the beginning of the XX century. It was found that the NBS collection of old peony cultivars reflects the initial stages of breeding experiments with these ornamental plants in the world. The most complete (63 cultivars) are varieties of French selection mainly in the 1820–1890. It was found that the old varieties are characterized by a high abundance of flowering, a vivid coloration of various colored groups from pure white to pink and dark red, a pleasant scent, a long period of flowering, resistance to diseases and pests. These cultivars are successfully used in ornamental gardening, garden design of landscaped areas and floristry today. Historically valuable cultivars served as the basis for the creation of the first domestic varieties and the development of Ukrainian breeding. On the basis of old cultivars in the NBS, 29 cultivars were received, which were entered into the State Register and are now successfully applied in ornamental horticulture and landscaping.

Keywords: collection of peonies; old cultivar; breeding

Вступ

Для охорони біорізноманіття культурної флори сьогодні велике значення має збереження вітчизняних селекційних досягнень та старовинних сортів світової селекції. Такі сорти є не

*Corresponding author: Vasyl Gorobets, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ passer-w@ukr.net

тільки джерелом генетичного різноманіття, але й елементом національного надбання, який відображає тривалий період історичного розвитку культури. Завдяки інтенсифікації селекційного процесу в світі спостерігається швидка зміна та постійне оновлення сортименту культурних рослин. При цьому старовинні та історично цінні сорти втрачаються безповоротно.

Оскільки старі сорти не викликають суттєвого комерційного інтересу, то головними центрами їх збереження були і залишаються ботанічні сади. Колекції живих рослин ботанічних садів створюються десятиліттями та відображають сортове та видове різноманіття культури, історію її розвитку, спрямованість і результативність селекції. Генофонд колекцій є базою для виведення нових вітчизняних сортів, їх порівняльного вивчення, випробування та оцінки.

Колекція півоній Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України (НБС) є найбільшою в Україні та однією з найбагатших серед країн ближнього зарубіжжя та Східної Європи. У ній представлені сорти всіх існуючих сьогодні садових груп півоній на рівні найсучасніших досягнень світової селекції. Крім того колекція служить основою збереження цілої групи історично цінних півоній (Горобець, 2014, 2015).

Метою роботи було вивчення колекційного фонду півоній та аналіз старовинних сортів селекції XIX-го – початку XX-го століття, мобілізованих та використаних в селекційній роботі НБС.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були сорти півоній колекції НБС. Застосовували порівняльно-морфологічні, фенологічні методи, а також методи аналітичної та синтетичної селекції з використанням віддаленої гібридизації (Горобець, 2015). Проводили аналіз схрещувань, до яких було залучено старовинні сорти.

Результати та їх обговорення

В Україну старовинні сорти півоній завозились для оформлення палаців, замків та маєтків. Вони висаджувалися колоритними групами на партерах або ж безпосередньо перед маєтками та господарськими будівлями. Поряд з великими садово-парковими ансамблями існували численні відносно скромні сади в маєтках українських поміщиків. На початку XX століття колекції півоній були зібрані в приватних розсадниках, які отримували сорти з-за кордону для розмноження та поширення. Їх сортимент був досить обмеженим.

В колекцію півоній НБС старовинні сорти почали залучати після Другої світової війни. В 1947 році було розпочато формування колекційного фонду півоній, коли було отримано біля 30 сортів від німецької фірми 'Lange'. В подальшому колекція поповнювалась сортами із інших ботанічних садів, дослідних станцій та наукових установ, а в 2006 році отримала статус національного надбання (Горобець, 2014).

Генофонд колекції півоній НБС сьогодні нараховує 10 видів та 650 сортів. Його аналіз показав, що старовинні сорти репрезентовані 82 сортами, які були створені селекціонерами Європи і США в XIX та на початку XX століття. Причому найповніше (63 сортами) представлені сорти французької селекції в основному 1820-х – 1890-х років. Найбільш рання селекція репрезентована сортами: *Edulis Superba* (Lemon, 1824), *Modeste Guering* (Guering, 1845), *General Bertrand* (Guerin, 1846), *Beaute Francaise* (Guerin, 1850), *Due de Wellington* (Guerin, 1850), *Triumphe du Nord* (Miellez, 1850), *Festiva Maxima* (Miellez, 1851), *Rubens* (Delache, 1854), *Rubra Triumphans* (Delache, 1854), *Zie Calot* (Miellez, 1855).

Значний вклад в селекцію півоній вніс французький селекціонер F. Crousse (Halda, 2004; *Peonies*, 2008). В кінці XIX століття ним було створено групу сортів, представлених сьогодні в колекції НБС: *Livingstone*, *Van Dyck* (1879), *Madame Emile Galle*, *Madame Forel*, *Madame Marine* (1881), *Madame de Verneville*, *Albatre*, *Clementine Gillot* (1885), *Asa Gray*, *Claire Dubois* (1886), *Mons. Jules*

Elie (1888), Margaurite Gerard (1892), Albert Crousse (1893), Gismonda (1895). Більшість його сортів характеризуються раннім періодом цвітіння та сильним ароматом.

В цей час селекція півоній виходить за межі Франції. З'являються англійські та німецькі сорти. В колекції присутні сорти відомого англійського селекціонера J. Kelway: Agnes Mary Kelway, Venus (1888), Baroness Schroeder (1889), Phyllis Kelway (1908). Сорти німецьких селекціонерів належать до початку XX століття і репрезентовані такими культиварами: Princess Juliana (Krelage, 1910), Cretchen (Goos-Koenemann, 1911), Wiesbaden (Goos-Koenemann, 1911).

Початок селекційної роботи з півоніями в США припадає на 1900 – 1915 роки. В колекції представлено дев'ять сортів ранньої американської селекції, серед яких слід відмітити: Longfellow, Frances Willard (Brand, 1907), Karl Rosenfield (Rosenfield, 1908), Georgiana Shaylor (Shaylor, 1908), Cherry Hill (Thurlov, 1905). Сорти американської селекції вирізняються яскравим забарвленням та формою квітки, яка має більш широкі центральні пелюстки, поряд з цим їх аромат менш виражений.

Багаторічні дослідження показали, що незважаючи на своє раннє походження старовинні сорти мають цінні декоративні ознаки, що не поступаються селекційним новинкам. Вони відрізняються високою яскравістю цвітіння, яскравим забарвленням різних кольорових груп від чисто-білого тону до рожевого та темно-червоного, приємним ароматом, тривалим періодом цвітіння, стійкістю до хвороб та шкідників. Тому з успіхом і сьогодні застосовуються у декоративному садівництві, квітниковому оформленні ландшафтних територій (монокультурних садах, міксбордерах, садах весняного та безперервного цвітіння, поодиноких посадках) та флористиці.

Сорти півоній з особливо цінними декоративними та господарськими ознаками успішно використовувались і у вітчизняній селекційній роботі. Так, в 1963-1966 рр. в НБС канд. біол. наук К.Д. Харченко на основі півонії молочноквіткової (*Paeonia lactiflora*) були проведені перші схрещування, де в якості батьківських компонентів виступали ранні сорти французької селекції: ♀ M-me de Verneville × ♂ Adolphe Rousseau; ♀ M-me de Verneville × ♂ President Taft; ♀ Modeste Guerin × ♂ Adolphe Rousseau; ♀ Modeste Guerin × ♂ President Taft; ♀ Modeste Guerin вільне запилення; ♀ Albrecht Durer × ♂ President Taft; ♀ Mons. Jules Elie × ♂ President Taft; ♀ Lord Kitchener × ♂ Edouard Andre; ♀ Rosea Elegans × ♂ Adolphe Rousseau.

На основі таких схрещувань було отримано сорти: Антарктида (Antarktida), Берегиня (Berehynia), Либідь (Lybid), Дар Победі (Dar Pobede), Исполин (Ispolin), Киевская Русь (Kievskaiia Rus), Любимец Парков (Liubimiets Parkov), Морозко (Morozko), Мрія (Mriia), Освободителям Києва (Osvoboditeliam Kiieva), Полярная Звезда (Poliarnaia Zvezda), Талисман (Talisman) (Дудик, Харченко, 1987).

Історично цінні культивари півоній були використані на другому етапі селекційної роботи. Він був спрямований на створення сортів з раннім і надраннім строками цвітіння та базувався на застосуванні методів віддаленої гібридизації (Горобець, 2015). В селекційний процес були залучені дикорослі види трав'янистих півоній та сорти півонії молочноквіткової ранньої селекції з колекційних фондів НБС (табл. 1).

Програма, за якою проводилася селекційна робота, передбачала виведення сортів з такими властивостями: ранній та надранній строки цвітіння, оригінальна форма та забарвлення квітки, придатність для ландшафтного оформлення та аранжування, високий коефіцієнт розмноження та висока продуктивність цвітіння, стійкість до вірусних, бактеріальних і грибних хвороб. Результатом зазначеного селекційного процесу стало отримання подвійних та потрійних міжвидових гібридів, з яких 17 пройшли успішне сортовипробування та отримали державну реєстрацію.

Таблиця 1 Генезис сортів півоній селекції НБС, створених з використанням історичних сортів
Table 1 Genesis of peony varieties breeding of NBS created using historical varieties

Сорти	Рік пріоритету сорту	Комбінації схрещувань
Подвійні міжвидові гібриди		
Бенефіс (Benefis)	2003	♀ <i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'President Taft'
Кокетка (Koketka)	2011	♀ <i>P. officinalis</i> var. <i>banatica</i> × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'President Taft'
Корифей (Koryfei)	2003	♀ <i>P. peregrina</i> × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'President Taft'
Малинова Ватра (Malynova Vatra)	2010	♀ <i>P. peregrina</i> × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'La Pionce'
Офелія (Ofeliia)	1998	♀ <i>P. officinalis</i> var. <i>banatica</i> × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'President Taft'
Фаворит (Favoryt)	2009	♀ <i>P. peregrina</i> × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'President Taft'
Червоний Оксамит (Chervonyi Oksamyt)	1984	♀ <i>P. peregrina</i> × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'President Taft'
Чумацький Шлях (Chumatskyi Shliakh)	2010	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Lord Kitchener' × ♂ <i>P. arietina</i>
Ювілей Києва (Yuvilei Kyieva)	2003	♀ <i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × ♂ <i>P. lactiflora</i> 'Adolphe Rousseau'
Потрійні міжвидові гібриди		
Геркулес (Hercules)	2010	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Adolphe Rousseau' × ♂ (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × <i>P. peregrina</i>)
Героям Небесної Сотні (Heroiam Nebesnoi Sotny)	2014	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Lord Kitchener' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × <i>P. peregrina</i>)
Квазімодо (Kvasimodo)	2010	♀ <i>P. lactiflora</i> 'M-Ile Janne Riviere' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × <i>P. peregrina</i>)
Писанка Коломиї (Pysanka Kolomyi)	2010	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Adolphe Rousseau' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × <i>P. peregrina</i>)
Чемпіон (Chempion)	2009	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Adolphe Rousseau' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × ♂ <i>P. peregrina</i>)
Червона Вежа (Chervona Vezha)	2009	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Adolphe Rousseau' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × ♂ <i>P. peregrina</i>)
Ірокез (Irokez)	2007	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Lord Kitchener' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × <i>P. officinalis</i> var. <i>banatica</i>)
Метелик (Metelyk)	2009	♀ <i>P. lactiflora</i> 'Lord Kitchener' × ♂ F1 (<i>P. officinalis</i> 'Rubra Plena' × ♂ <i>P. officinalis</i> var. <i>banatica</i>)

Висновки

Колекція старовинних сортів півоній НБС відображає початкові етапи становлення селекційної роботи з цією культурою не лише в Європі, але й у світі. Історично цінні сорти послугували основою для створення перших вітчизняних сортів та розвитку української селекції.

Встановлено, що генофонд колекції півоній НБС сьогодні нараховує 82 старовинні сорти, створені селекціонерами Європи та США в XIX та на початку XX століття. Найповніше (63 сортами) представлені сорти французької селекції 1820-х – 1890-х років. За участі старовинних культиварів в НБС було отримано 29 сортів, які внесені до Державного реєстру і сьогодні успішно використовуються в декоративному садівництві.

Література

- Halda, J. 2004. *The genus Paeonia*. Portland: Timber Press. 227 p. ISBN 978-1-60469-246-4.
- Peonies 1997–2007: Registered peony cultivars, with a checklist of peony names, references and originators. 2008. American Peony Society. 213 p.
- Горобець, В.Ф. 2014. *Каталог сортів трав'янистих пионов селекції Національного ботанічного саду ім. Н.Н. Гришко*. Справочник. Київ: Велес. 62 с. ISBN 978-966-02-7643-1.
- Горобець, В.Ф. 2015. *Пионы (биология, селекция, сорта)*. Київ: Велес. 160 с. ISBN: 978-966-02-7643-7.
- Дудик, Н.М., Харченко, Е.Д. 1987. *Пионы: Каталог-справочник*. Київ: Наук. Думка. 128 с.



POLLEN GRAIN MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF AMERICAN PERSIMMON (*DIOSPYROS VIRGINIANA* L.)

Grygorieva Olga^{1*}, Motuleva Svetlana², Nikolaieva Nataliia³,
Klymenko Svitlana¹, Schubertová Zuzana³, Brindza Jan³

¹M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

²Federal State Budgetary Scientific Institution All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Moscow, Russia

³Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Morphology of pollen grain was described for nine American persimmons (*Diospyros virginiana* L.) genotypes (DV-01 – DV-09) at the Institute of Biodiversity and Biological Safety of Slovak Agricultural University in Nitra using an electron microscope Carl Zeiss LS 15, and the microphotographs were taken. The measurement of morphometric parameters was carried out on 50 pollen grains from each genotype using the AxioVision Rel. 4.8.2.0 program. The measurements were made in micrometer (μm). The length of polar axis (*P*) and the equatorial diameter (*E*) of grain, *P/E* ratio were measured and their variation was compared among studied genotypes. The polar axis and equatorial diameter of pollen grains values were varied from 51.94 to 78.60 μm and from 23.00 μm to 42.71 μm, respectively. This study showed that there were significant differences among the genotypes in all measured factors. Pollen grains are radial-symmetrical, isopolar, tricolpate (with three sulcus). Exine surface is a bicomponent sculptural type with small perforate-undulate or wrinkled weakly perforate. Percentages of abnormal pollen grains ranged from 2.0 to 19.3% among the genotypes. It was noted that diversity of surface sculpturing of pollen grains in combination with shape and sizes of them enables to use complex of thin morphologic signs for *Diospyros virginiana* pollen identification.

Keywords: American persimmon; genotypes; pollen; SEM; morphology

Introduction

The American persimmon (*Diospyros virginiana* L.) is of great practical interest for fruit growing. In addition, the *Diospyros virginiana* is a valuable decorative and medicinal plant. For the last years was derived good cultivars of *Diospyros virginiana* and some of them are superior the best cultivars of *Diospyros kaki* (Spongberg, 1979; Grygorieva et al., 2011). Today more than 200 cultivars of *Diospyros virginiana* exist and their fruits have differences in fruits shape, size, color and ripening (Hague, 1911; Spongberg, 1979; Goodell, 1982; Zohary, 2004).

The investigations of the morphological peculiarities of pollen grains from specific genotypes and cultivars are important and useful for taxonomy, phylogeny, palaeobotany, breeding programmes, e.g., pear (Westwood and Challice, 1978), grape (Ahmedullah, 1983), sweet cherry (Miaja et al., 2000), apricot (Arzani et al., 2005), cornelian cherry (Mert, C. 2009), persimmon (Grygorieva et al., 2011),

***Corresponding author:** Olga Grygorieva, M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine, ✉ olgrygorieva@gmail.com

hazelnut (Nikolaieva et al., 2014), jujube (Rouhakhsh, et al., 2014), and chestnut (Grygorieva et al., 2015).

Shape, size, surface morphology, and ultrastructure of pollen grains are of great importance in the characterization of the pollen grains (Fogle, 1977; Martens and Fretz, 1980; Jiang et al., 2004; Grygorieva et al., 2010; Brindza and Brovarskyi, 2013; Dyakova, 2014).

The morphology of common persimmon pollen was not investigated under conditions of Ukraine. The knowledge of pollen morphological characteristics can be an adequate method for identification and the newly-developed genotypes of *Diospyros virginiana*.

Materials and methodology

Locating trees and data collection. The pollen of 9 *Diospyros virginiana* genotypes (DV-01 – DV-09) from the collection of M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine (NBG) was investigated.

Pollen grains collection. Freshly flowers (not opened) were collected randomly from the different genotypes at the balloon stage (June 2015). Pollen samples released from dry male flowers were further dried under laboratory conditions. The dry pollen was used for a microscopic study of morphological characteristics. The samples of pollen grains were applied to double-tape, fastened to metal object tables with 10 mm diameter.

Scanning electron microscopy (SEM). The pollen grains were studied at the Institute of Biodiversity and Biological Safety of Slovak Agricultural University in Nitra using an electron microscope Carl Zeiss LS 15, and the microphotographs were taken.

Typical exine patterns, shape, size and the dimensions of pollen grains for each *Diospyros virginiana* genotypes were determined by using a scanning electron micrograph (SEM).

Morphometric characteristics. The measurement of morphometric parameters was carried out on 50 pollen grains from each genotype using the AxioVision Rel. 4.8.2.0 program. The measurements were made in micrometers (μm). The characterization of pollen grains was calculated by taking the following parameters: the polar axis (P-line connecting the proximal and distal pole), the equatorial axis (E-a line perpendicular to the polar axis and located in the equatorial plane).

Statistical analysis. Basic statistical analyses were performed using SAS System v. 9.2 (SAS 2009). The DISTRIBUTION analysis (verification of normal distribution of input data), the CLUSTER procedure, the TREE procedure (creating the dendrogram) in SAS 9.2. for further detailed analysis were used. Differences among means were determined for significance at $P < 0.05$ using Tukey's test. Variability of all these parameters was evaluated using descriptive statistics. Dendrogram clustering the data from the individual experimental genotypes using average linkage using Euclidian distance as a metric.

Results and discussion

It is known, the *Diospyros virginiana* flowers are prevailingly unisexual, only exceptionally being bisexual. It means the plant bears both, the male and female flowers. Sometimes the dioecism occurs. Many individuals have only female flowers and the fruits can arise without fertilization – by parthenocarp and they are seedless. Information on *Diospyros virginiana* pollen grain traits occurs scarcely in a few papers (Erdtman 1966; Geeraerts et al., 2009; Grygorieva et al., 2010).

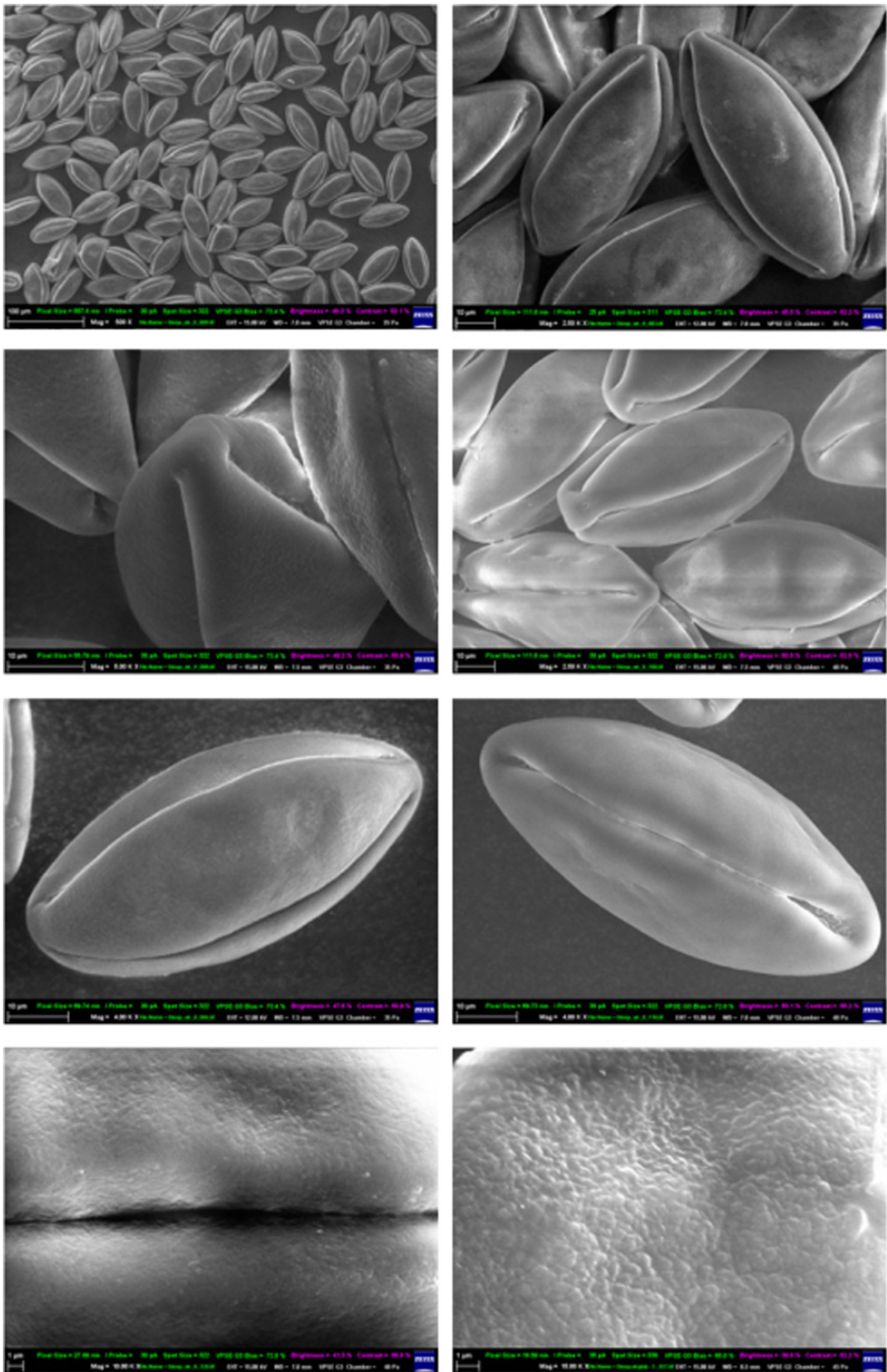


Figure 1

Pollen grains of *Diospyros virginiana* L. species in different positions
Photo: Motyleva, 2015

Pollen grains of the *Diospyros virginiana* occur individually – solitary, defined as monads. This study on pollen morphology of tested *Diospyros virginiana* showed that pollen grains are radially symmetrical, isopolar and according to the localization of apertures are zono-tricolpate. Three compound apertures are according to distribution equidistant. The size, shape of pollen grains and number of apertures are documented on Figure 1.

Pollen grains possess three prolonged apertures – colpi which are narrowed at poles. An additional pole is in the colpus middle at the equatorial centre (circular equatorial aperture). This classification correlates with literature data (Sowunmi 1995; Kodela 2006; Geeraerts et al., 2009).

The exine membrane in an area of the colpus is granulated. From the cytological view the pollen grains of *Diospyros virginiana* are bicellular (Сравнительная эмбриология..., 1983). It means that generative cell division on sperm cells is accomplished in the pollen pocket. Our studies using REM have shown that the exine of tested species is not smooth but sculptured. There are dominating finely striation (striate), scarring (scabrate) or wrinkles, also with the occurrence of perforations.

An important morphological characteristic is the size of pollen grains. The length of polar axis (*P*) measured in the mentioned of the *Diospyros virginiana* (Table 1, Figure 2) varied from 51.94 to 78.60 µm and the width of the equatorial axis (*E*) was in a range of 23.00–42.71 µm. For example Erdtman (1952) in *Diospyros virginiana* reported the mean value for polar axis length (*P*) 59.0 µm and the equatorial axis (*E*) 46.0 µm whereas Geeraerts et al. (2009) for the same species found the mean values for the length *P* – 41.4 µm and *E* – 31.2 µm (Table 2).

Table 1 The measured pollen morphological traits of selected genotypes of *Diospyros virginiana* L.

Genotypes	min	max	CV%	min	max	CV%	min	max	CV%
	<i>P</i> – polar axis (µm)			<i>E</i> – equatorial axis (µm)			<i>SI</i> – shape index (<i>P/E</i>)		
DV-01	51.94	70.50	5.91	23.99	30.44	5.21	1.79	2.81	8.46
DV-02	64.15	78.44	4.24	30.22	37.98	6.43	1.79	2.39	7.70
DV-03	61.23	77.09	4.56	23.00	38.97	11.09	1.67	2.91	11.39
DV-04	62.44	75.92	3.50	25.63	38.29	7.85	1.84	2.62	7.89
DV-05	67.75	78.14	4.23	30.06	38.36	5.21	1.84	2.50	7.52
DV-06	63.32	76.13	4.22	26.09	35.53	6.80	2.00	2.68	7.43
DV-07	61.70	77.45	4.79	27.11	42.71	9.35	1.47	2.57	10.43
DV-08	63.18	78.60	4.90	29.11	42.45	6.90	1.65	2.54	8.86
DV-09	60.08	75.48	4.94	28.46	36.54	6.35	1.82	2.46	7.40

min – minimum value; max – maximum value; CV – variation coefficient (%)

The values of variation coefficient were in the range of 3.50–5.91% for polar and in the range of 5.21–11.09% for equatorial axes.

The genetic relationship among the 9 genotypes of *Diospyros virginiana* (Figure 3) was examined by cluster analysis. Dendrogram has shown 3 main group in cluster A, cluster B and cluster C. Four of 9 genotypes were included in cluster group B and cluster group C, respectively. And one genotype formed cluster group A. The groups B and C had highest means for pollen morphometric characteristics.

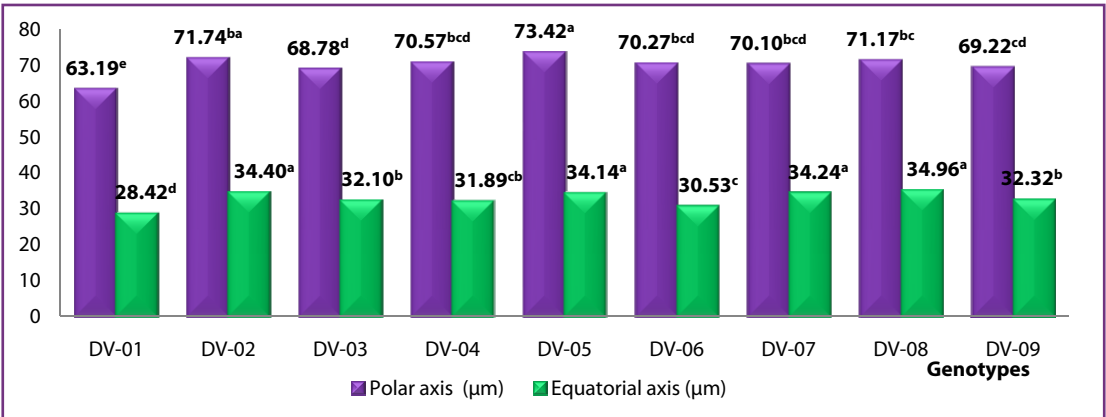


Figure 2 The average values of polar and equatorial axes of *Diospyros virginiana* L. pollen of selected genotypes (Means in each column followed by different letters are not significantly different ($P \leq 0.05$))

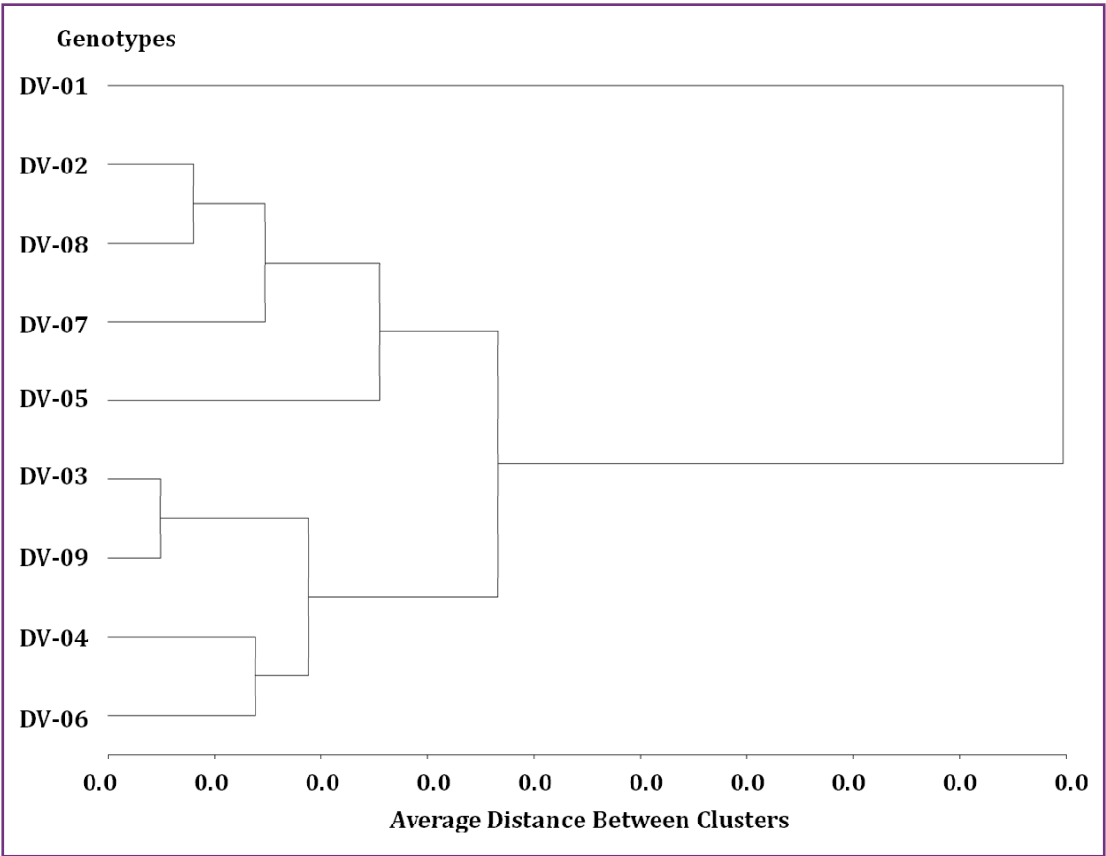


Figure 3 Dendrogram of *Diospyros virginiana* L. 9 genotypes based on morphometric characteristics of pollen

Shape index (*SI*) of pollen grain depends on parameters of polar (*P*) and equatorial (*E*) axis. Shape index (the *P/E* ratio) of tested species varied from 1.47 to 2.91 (Table 2, Figure 4).

Table 2 Literature data on pollen morphological traits in the *Diospyros virginiana* L.

Characteristic	Value	Autors
Polar axis, μm	41.4	Geeraerts et al., 2009
	59.0	Erdtman, 1952
	51.39 (49.28–55.41)	Grygorieva, 2010
Equatorial axis, μm	31.2	Geeraerts et al., 2009
	46.0	Erdtman, 1952
	23.56 (21.40–25.94)	Grygorieva, 2010
SI – shape index	1.32	Geeraerts et al., 2009
	2.18	Grygorieva, 2010

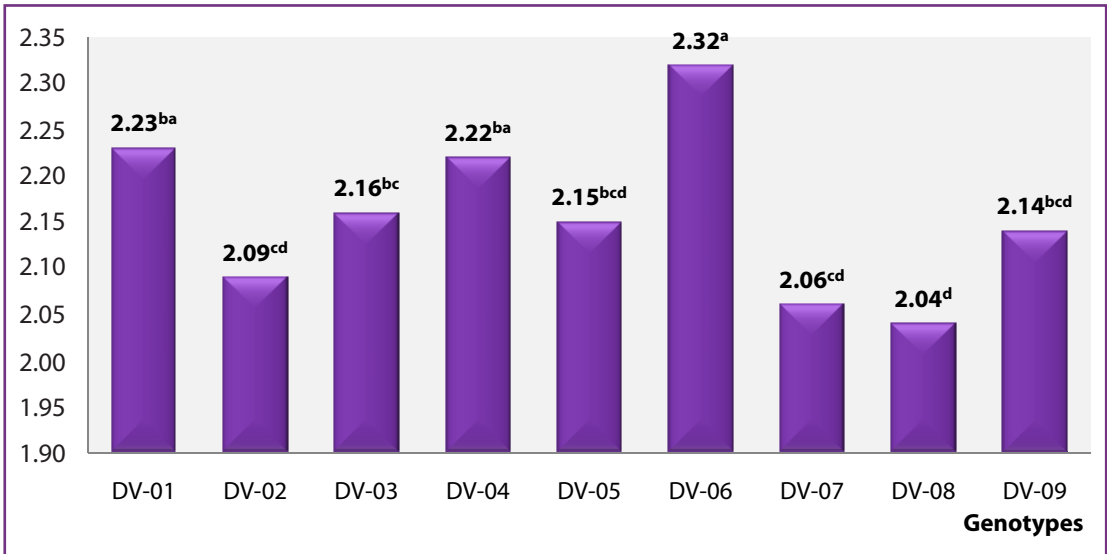


Figure 4 Mean values of pollen shape index of *Diospyros virginiana* L. of selected genotypes (Means in each column followed by different letters are not significantly different ($P \leq 0.05$))

Alongside normal pollen grains, each genotype examined also displayed a proportion of abnormally formed pollen grains. Percentages of abnormal pollen grains among the cultivars ranged from 2.0% to 19.3% (Figure 5). These values showed that there are no significant problems of pollen abnormality among the genotypes examined with the exception of DV-03.

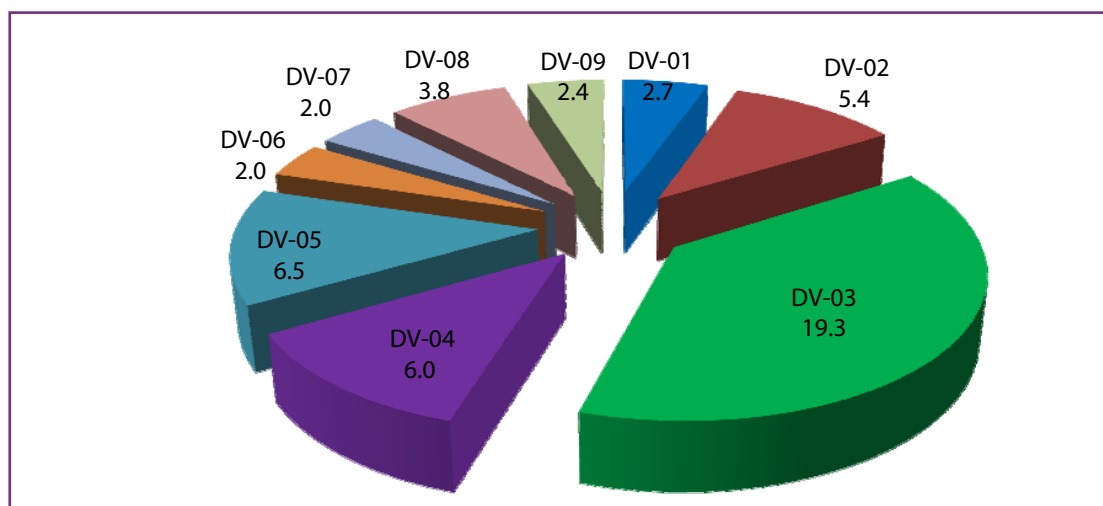


Figure 5 Abnormal pollen (%) of *Diospyros virginiana* L. of selected genotypes

Conclusions

In the present work, morphologic and micro-sculptural characteristics of pollen grains of *Diospyros virginiana* (DV-01 – DV-09) 9 genotypes were carried out as a comparative study. Ascertained diversity of pollen grains shape and sizes in aggregate with sculptural features of exine surface enables to characterize pollen according to the complex of signs. Micro-sculptural features of exine surface may be regarded as markers signs and in the future use them for identification of *Diospyros virginiana* pollen.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers in international network AGROBIONET, as a part of international program “Agricultural biodiversity to improve nutrition, health and quality of life” (TRIVE ITMS26110230085) within the project ITEBIO-ITMS 26220220115 and AgroBioTech -ITMS 26220220180.

References

- Ahmedullah, M. 1983. Pollen morphology of selected Vitis cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 108, p. 155–160.
- Arzani, K., Nejatian, M.A., Karimzadeh, G. 2005. Apricot (*Prunus armeniaca*) pollen morphological characterisation through scanning electron microscopy, using multivariate analysis. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.*, vol. 33, p. 381–388.
- Brindza, J. Brovarskyi, V. 2013. *Pollen and bee pollen of some plant species*. Kyiv: Korsunskiy vidavnychiy dim «Vsesvit». 137 p.
- Dyakova, I. 2014. Pollen morphology of the genus *Malus* Mill. *Modern Phytomorphology*, vol. 6, p. 129–132. <https://doi.org/10.5281/zenodo.160613>
- Erdtman, G. 1966. *Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms*. New York, NY : Hafner Publishing Company.
- Fogle, H.W. 1977. Identification of tree fruit species by pollen ultrastructure. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 102, p. 548–551.

- Geeraerts, A., Raeymaekers, J. A.M., Vinckier, S., Pletser, A., Smets, E., Huysmans, S. 2009. Systematic palynology in Ebenaceae with focus on Ebenoideae: Morphological diversity and character evolution. *Review of Paleobotany and Palynology*, vol. 153, no. 3–4, p. 336–353.
- Goodell, E. 1982. Promising fruit plants for northern landscapes. *Arnoldia*, vol. 40, p. 103–133. <http://arnoldia.arboretum.harvard.edu/pdf/articles/1982-42-4-two-promising-fruit-plants-for-northern-landscapes.pdf>
- Grygorieva, O., Brindza, J., Ostrolucká, M.G., Klymenko, S., Ostrovský, R., Toth, D. 2011. Pollen characteristics in *Diospyros lotus* L. *Проблемы современной палинологии: Материалы XIII Российской палинологической конференции*. т. 1. Сыктывкар: ИГ Коми НЦ УрО РАН, с. 26–29.
- Grygorieva, O., Brindza, J., Ostrolucká, M.G., Ostrovský, R., Klymenko, S., Nôžková, J., Tóth, D. 2010. Pollen characteristics in some persimmon species (*Diospyros* spp.). *Agriculture*, vol. 56, no. 4, p. 121–130.
- Grygorieva, O., Brindza, J., Vietoris, V., Kucelová, L., Tóth, D., Abrahamova, V., Hricová, M. 2011. Morphological and organoleptic fruit properties of various persimmon species (*Diospyros* spp.). *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 5, no. 3, p. 11–19. <http://www.potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/150/pdf>
- Grygorieva, O., Nikolaieva, N., Brindza, J., Klymenko, S. 2015. Pollen and bee pollen features of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, вип. 223, с. 35–40.
- Hague, S.M. 1911. A morphological study of *Diospyros virginiana*. *Botanical Gazette*, vol. 52, p. 34–44. <http://www.jstor.org/stable/2467496>
- Jiang, Z.W., Wang, S.M., Zhang, Z.H., Huang, H.W. 2004. Pollen morphology of Actinidia and its systematic significance. *Acta Phytotax Sin.*, vol. 42, p. 245.
- Kodala, P.G. 2006. Pollen morphology of some rainforest taxa occurring in the Illawarra region of New South Wales, Australia. *Telopae*, vol. 11, no. 3, p. 346–389.
- Martens, J., Fretz, T.A. 1980. Identification of eight crabapples by pollen surface sculpture. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 105, p. 257–263.
- Mert, C. 2009. Pollen Morphology and Anatomy of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Cultivars. *HortScience*, vol. 44 no. 2, p. 519–522. <http://hortsci.ashspublications.org/content/44/2/519.full.pdf+html>
- Miaja, M.L., Radicati, L., Porporato, M., Caramiello, R., Fossa, V., Vallania, R. 2000. Morpho-physiological observations on pollen of sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *Acta Hort.*, vol. 514, p. 311–318.
- Nikolaieva, N.V., Grygorieva, O.V., Brindza, J., Garkava, K.G., Klymenko, S.V. 2014. Morphological features of pollen *Corylus avellana* L. and *Castanea sativa* Mill. as indicator of environmental changes. *Плодоводство и ягодоводство России: сборник научных работ*, т. 40, ч. 1, с. 232–238.
- Rouhakhsh, H., Davarynejad, G., Abedi, B., Rahemi, M. 2014. Pollen Grain Morphological Characteristics of Ten Iranian Jujube (*Ziziphus jujuba*) Cultivars by Using Scanning Electron Microscopy. *Advances in Environmental Biology*, vol. 8, no. 5, p. 1333–1338. <http://www.aensiweb.com/aeb.html>
- SAS. 2009. User's Guide Version 9. 2. SAS/STAT® SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Sowunmi, M.A. 1995. Pollen of Nigerian Plants. *Grana*, vol. 34, p. 120–141.
- Spongberg, S.A. 1979. Notes on Persimmons, Kakis, Date Plums, and Chapotes. *Arnoldia*, vol. 39, no. 5, p. 290–309. <http://arnoldia.arboretum.harvard.edu/pdf/articles/1979-39-5-notes-on-persimmons-kakis-date-plums-and-chapotes.pdf>
- Westwood, M.N., Challice, J.S. 1978. Morphology and surface topography of pollen and anthers of *Pyrus* species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 103, p. 28–37.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany*, vol. 58, p. 5–10.
- Сравнительная эмбриология цветковых растений*. 1983. Отв. ред. О.П. Камелина. Л.: Наука. 364 с.



EDAPHIC GROWTH CONDITIONS *CENTAURIUM ERYTHRAEA* RAFH. IN CONDITIONS OF TRANSCARPATHIA

Grygoryuk Ivan^{1*}, Feketa Iryna²

¹The National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

²Uzhhorod National University, Uzhgorod, Ukraine

ЕДАФІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗРОСТАННЯ *CENTAURIUM ERYTHRAEA* RAFH. В УМОВАХ ЗАКАРПАТТЯ

Григорюк Іван, Фекета Ірина

Received 23. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The results of researches of the edaphic growth conditions *Centaurium erythraea* Rafh. in conditions of the Transcarpathia are represented in this article. *Centaurium erythraea* often grows in the Carpathians at meadows, forest glades, mountain slopes. The plant is found in small groups in the phytocenosis. We conducted soil conditions studies at 5 locations in different natural zones of Transcarpathia. During The plant's distribution, the ecological and soil conditions of the growth of *Centaurium erythraea* were determined. The soil analysis was carried out at the points where plant groups with a predominance of *Centaurium erythraea* of an average in natural populations over an area of 5 m². Plants of *Centaurium erythraea* are unpretentious to the soil and climatic conditions, grow in different soils. Particularly widespread acquires *Centaurium erythraea* on sod-podzolic soils, as the main component of the mixtures with grasses. But this thesis is not confirmed yet in terms of the Carpathian region. Given this current is to clarify areas of distribution of a *Centaurium erythraea* in the wild state and its culture in crops, in order to establish demands to the soil conditions and the definition of the yield level, various mechanical composition and physical and chemical properties of soils.

Keywords: *Centaurium erythraea*; natural populations; soil conditions; area; yield

Вступ

Одним із основних джерел одержання лікарських і профілактичних засобів сучасної медицини є лікарські рослини, яких у Закарпатській області є велика кількість. Суттєво зростає попит на рослини золототисячника малого (*Centaurium erythraea* Raf. (*Centaurium unbellatum* Gilib., *C. minus* Moenus p.), який перспективний для інтродукції (Деркач і Деркач, 2006; Григорюк та ін., 2008), запаси якого зменшились більш ніж у 10 разів і знаходяться на межі виснаження (Манівчук, 2003).

За цих умов є важливим дослідження едафічних особливостей зростання природних популяцій *Centaurium erythraea*. Найоптимальнішими для вирощування *Centaurium erythraea* вважаються середні і важкі ґрунти, а на насіння – середні, легкі з середньою вологістю та забезпеченістю поживними речовинами.

***Corresponding author:** Ivan Grygoryuk, The National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine, ✉ annetnikonorova@gmail.com

Матеріали та методи

Centaurium erythraea – одно- або двохрічна трав'яниста рослина, яка надзвичайно чутлива до антропогенного навантаження, відноситься до родини Тирличевих (Gentianaceae), містить алкалоїди, гіркі глікозиди, флавоноїди, ксантони (Товстуха, 1990).

Рослини застосовуються у медицині для приготування настоїв, відварів і гіркої настойки для поліпшення функціонування діяльності органів травлення, як зміцнюючий засіб. *Centaurium erythraea* виявляє антимутагенну та радіопротекторну дію, слугує компонентом лікувальних зборів при цукровому діабеті, гіпертензії, гінекологічних захворюваннях, алкоголізмі, причому побічної дії препаратів на організм не виявлено (Товстуха, 1990).

Показано, що *Centaurium erythraea* – переважно середньоазіатсько-європейський вид, який зростає на території Західної Європи і України, але найчастіше в Карпатах на луках, лісових галявинах, гірських схилах та біля боліт. Характерним для нього є розсіяний розподіл у рослинному покриві невеликими куртинами (Фекета, 2011).

Екологічні умови місцезростання *Centaurium erythraea*, як дикоростучої популяції досліджували маршрутним методом. Виявлено 17 популяції *Centaurium erythraea*. Ґрунтовніші дослідження ґрунтових умов нами проведено в 5 точках, що розташовані в різноманітних природних зонах Закарпаття. У процесі обстеження визначали місце поширення, угруповання, екологічні та ґрунтові умови місцезростання *Centaurium erythraea*. У точках, де виявлено рослинні угруповання з переважанням *Centaurium erythraea* в природних популяціях на суходольних луках, схилах і присадибних ділянках на площі 5 м², проводили аналіз ґрунту.

Для визначення механічного і фізико-хімічного складу ґрунту та агрохімічних показників відбирали зразки ґрунту з горизонту А – гумусо-аккумулятивного шару. Отримані результати дали можливість визначити чутливість *Centaurium erythraea* до умов ґрунтового середовища, яке впливає на його здатність витримувати негативні температури навколишнього середовища. Вміст гумусу в ґрунті встановлювали за Тюрнімом, рН сольової витяжки комбінованим індикатором, гідролітичну кислотність за Каппеном, суму увібраних основ за Каппеном-Гільковіцем, рухомі форми фосфору (фотокалориметричним методом), калій за Пейве (Доспехов, 1968; Починок, 1976). Аналізи проведено в 4-х повторностях і оброблено статистично (Доспехов, 1968).

Результати та їх обговорення

Встановлено, що у низинній зоні переважаючими є дерново-підзолисті, дернові глейові і лучні глейові ґрунти, на яких зростає золототисячник малий. Необхідно зазначити, що дерново-підзолисті оглеєні ґрунти мають пилувату структуру гумусового шару і щільний ілювіальний шар, що обумовлює незбалансованість водно-повітряного режиму.

Вони суттєво напливають, а при підсиханні на їх поверхні утворюється щільна кірка. Кислі ґрунти слабо забезпечені рухомими формами калію і фосфору, тому потребують вапнування.

Дерново-підзолисті ґрунти мають товщину гумусового шару до 25 – 35 см, і зернисто-грудкувату структуру, їх механічний склад середньо- й легкосуглинистий, в якому переважає грубий пил, значна кількість піску та намулу. Нижче гумусового шару розташовані елювіальний та ілювіальний злегка ущільнені шари. Це ґрунти слабокислі, з високою проникністю повітря і вологи, вміст гумусу – 1,3 – 2,0 %, середньою забезпеченістю рухомими формами поживних речовин. У дощовий період на їх поверхні нагромаджуються атмосферні опади.

Передгірна частина характеризується переважанням буроземно-підзолистих пилувато-середньосуглинистих і дерново-буроземних середньоглибоких піщано-середньосуглинистих ґрунтів.

Виявлено, що буроземно-підзолисті пилувато-середньосуглиністі ґрунти характеризуються низькими фізико-хімічними властивостями, зокрема слабим водно-повітряним режимом

і швидким набуханням за умов зволоження. Ці фактори негативно впливають на ріст, розвиток кореневої системи та продуктивність як однорічних так і багаторічних рослин.

По всьому профілю ґрунти слабопроникні для води і повітря, слабо насичені увібраними основами (4,6 м-екв. на 100 г абсолютно сухого ґрунту) причому ступінь насичення лише 30 %. Для них характерна кисла реакція (рН 4,0), низька гідролітична кислотність – 10,85 і забезпеченість фосфором – 1,0 та калієм 3,4 мг на 100 г абсолютно сухого ґрунту.

Гумусний горизонт у дерново-буроземних середньоглибоких піщано-середньосуглинистих ґрунтах верхній досягає глибини 24 – 25 см з дрібно-грудкуватою структурою і високою водопроникністю. Їх ґрунтовий комплекс оптимально насичений основами, при цьому гідролітична кислотність досягає 3,15, сума увібраних основ становить 11,4 м-екв. на 100 г абсолютно сухого ґрунту, рН – 5,0. Це слабо забезпечені гумусом – 1,97 %, середньо легкорозчинним фосфором – 5,0 та недостатньо калієм – 3,4 мг на 100 г абсолютно сухого ґрунту. Характерною ознакою дерново-буроземних глеєвих піщано-середньосуглинистих ґрунтів є оглеєння ґрунтового профілю.

Колір ґрунту сірувато-бурий, грудкуватої структури. Верхній гумусний горизонт коливається від 5 до 16 см. Низькі їх фізичні властивості обумовлені постійним перезволоженням з гігроскопічною вологістю 6,25 %, ступенем насичення 70 % та сумою увібраних основ – 13,4 м-екв. на 100 г абсолютно сухого ґрунту. Для них характерна слабокисла реакція ґрунтового розчину, низький вміст рухомих форм калію та фосфору.

Зв'язовано, що гірські лучно-буроземні ґрунти поширені на полонинах і в приполонинській смузі в субальпійському та альпійському висотних поясах від 1 100 до 1 400 м над рівнем моря. За будовою профілю вони нагадують неглибокі або середньоглибокі бурі лісові. У гірській зоні (полонина Руна, 1 482 м над рівнем моря) основними є бурі гірсько-лісові середньо-глибокі пилувато-легкосуглинкові (ґрунтовий профіль до 80 см) й бурі лісові неглибокі кам'яністі пилувато-середньосуглиністі (до 60 см) ґрунти. Перші зустрічаються на менш крутих схилах з гумусовим шаром 18 – 25 см і вмістом гумусу – 2,5 – 3,5 %, а вище над рівнем моря – до 4,5 %.

Бурі гірсько-лісові неглибокі ґрунти за фізико-хімічними властивостями поступаються середньоглибоким. Нами встановлено, що їх механічний склад пилувато-середньосуглинистий із перевагою глинистих фракцій. ґрунти характеризуються низькими фізико-хімічними властивостями, які середньо насичені увібраними основами з ступенем їх насичення – 72 %, кислою реакцією ґрунтового розчину (рН сольове – 5,2) та гідролітичною кислотністю – 3,67 м-екв. на 100 г абсолютно сухого ґрунту. Водночас дані ґрунти недостатньо забезпечені валовими запасами і рухомими формами – фосфору – 1,0 мг, калію – 3,4 мг на 100 г абсолютно сухого ґрунту, а також гумусом – 1,97 %.

У бурих гірсько-лісових неглибоких кам'янистих пилувато-середньосуглинистих ґрунтах глибина верхнього гумусового горизонту темнувато-бурого кольору, коливається від 8 до 20 см, де по всьому профілю спостерігається щебінь та уламки твердих порід.

За даними наших аналізів, вони слабо насичені основами, ступінь насичення 46 %, рН сольової витяжки – 4,0, сума увібраних основ становить – 6,8 м-екв, гідролітична кислотність – 8,05 м-екв на 100 г абсолютно сухого ґрунту. Також визначено в них підвищений вміст гумусу – 3,99 %, слабу забезпеченість рухомими формами фосфору – 1,0 та калію – 3,4 мг на 100 г абсолютно сухого ґрунту.

Встановлено, що ґрунти гірської зони відзначаються високим рівнем кислотності і вмістом органічних речовин на глибині до 35 см. Інші ґрунти залягають у сідловинах і на слабопологих схилах із високим вмістом органічних речовин, азоту й низьким – рухомих форм фосфору та калію. Для покращення родючості ґрунтів рекомендовано їх вапнування, також внесення фосфорних та калійних добрив.

Відміни між ґрунтами, на яких росте *Centaurium erythraea*, незначні, хоча він віддає перевагу нейтральним, з більшим вмістом гумусу. Виявлено значні розходження у відношенні рельєфу, а також інтенсивніше зростання природної популяції золототисячника малого на сонячніших та підвищених місцях.

Висновки

Centaurium erythraea у травосумішах найпоширеніший на середньокислих супіщаних, легких і середніх суглинних ґрунтах з рН – 4,7 – 5,1, та гідролітичною кислотністю 3,2 – 5,2 м-екв. на 100 г абсолютно сухого ґрунту.

Формування *Centaurium erythraea*, значною мірою, залежить від метеорологічних умов, який здатний витримувати заморозки і посухи влітку, порівняно з іншими видами рослин. Адаптація до значної контрастності природних умов Закарпаття, крутизни схилів, ґрунтів з різним рівнем родючості, надає значні переваги *Centaurium erythraea*.

Література

- Григорюк, І., Фекета, І., Серга, О. 2008. Морфометричні показники природних популяцій золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea* Rafh.) в умовах Закарпаття. *Науковий вісник Національного аграрного університету*, вип. 125, с. 42–46.
- Деркач, В., Деркач, С. 2006. Золототисячник малий: можливості та проблеми культивування. *Мат. міжнар. наук. конф. „Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень”*, с. 104–107.
- Доспехов, Г. 1968. *Методика полевого опыта*. М.: Колос, 335 с.
- Манівчук, Ю. 2003 *Екологічно ефективні системи підвищення продуктивності лучних біогеоценозів Карпат*. Київ, 294 с.
- Починок, Х. 1976. *Методы биохимического анализа растений*. 334 с.
- Товстуха, Є. 1990. *Фітотерапія*. с. 68–69.
- Фекета, І. 2011. Природні популяції золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea* Rafh.) в умовах Закарпаття. *Мат. міжнар. наук.- практ. конфер. „Екзо- та ендоекологічні аспекти здоров'я людини”* Ужгород: „Говерла”, с. 396–399.



APPROACHES TO THE IDENTIFICATION AND ASSAY OF FLAVONOIDS IN BEE BREAD EXTRACTS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

Hudz Nataliia^{1*}, Korzeniowska Karolina², Wieczorek Piotr Paweł², Schubertová Zuzana³, Brindza Ján³, Ivanišová Eva⁴

¹Faculty of Pharmacy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

²Faculty of Chemistry, University of Opole, Poland

³Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

⁴Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Flavonoids are regarded as key compounds in bee bread. In this paper, quantitative determination of sum of flavonoids and dominating group of flavonoids were carried out by colorimetric aluminum chloride method. The principle of aluminum chloride colorimetric method is that aluminum chloride forms complexes with flavones and flavanols wherein it reacts with the C-4 keto group and hydroxyl groups of the ring C, and/or ring A and/or ring B. In this work 3 samples of bee bread and 5 extracts were investigated. The total contents of flavonoids in the tested extracts ranged from 10 to 166 mg/L. Our study confirmed that complex of quercetin dihydrate with aluminum chloride had the maximum absorption at 423.8–427.2 nm, namely in the limits for flavanols from 415 to 440 nm, in differential spectra in the range of quercetin concentrations of 2.08–31.2 mg/L (solvent was ethanol 50%). According to literature data, flavanols (galangin, morin, kaempferol, rutin, quercetin, quercitrin and myricetin) have absorption maximum in the range from 415 to 440 nm while flavones (chrysin, apigenin, and luteolin) and glycosides of flavanols – less 415 nm. Our studies demonstrated that the structure of direct spectra of developed extracts was very similar. There was no any absorption maximum. The structure of the differential spectra of all the developed extracts was also very similar. But there was one divergence in the differential spectra: an absorption maximum varies in the range from 406.9 nm to 411.7 nm that indicates different composition of flavonoids in the extracts. Repeatability of the position of an absorption maximum of the extracts is very good at carrying out analyses in the different days. On the base of conducted experiments, we assume that our bee bread samples can contain flavanols mainly in the form of glycosides and flavones as absorption maxima of the extracts in their differential spectra are less than 415 nm.

Keywords: bee bread; flavonoids; spectra; extracts; quercetin

Introduction

Bee bread seems to be an attractive source of natural raw material for the food, cosmetics and pharmaceutical industry (Baltrušaityte et al., 2007; Ivanišová et al., 2015; Čeksteryte et al., 2016). Among the minor components of bee bread are phenolic compounds (Baltrušaityte et al., 2007; Markievicz-Žukovska et al., 2013; Rzepecka-Stojko et al., 2015; Sobral et al., 2017). Flavonoids are the secondary components of most importance in bee-bread. In pollen grains, most of flavonoids exist

*Corresponding author: Nataliia Hudz, Faculty of Pharmacy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine, ✉ natali_gudz@ukr.net

as glycosides, among them flavanols glycosides are present in greatest amounts. Quercetin is known as the major aglycone in bee bread.

The level of free aglycones is a better indicator of the quality of pollen loads than the free amino acids content (Baltrušaitytė et al., 2007; Zuluaga et al., 2014; Rzepecka-Stojko et al., 2015). Zuluaga et al. indicate that bee bread contains 3.2 ± 1.0 mg eq-quercetin/g with the reference the dry matter of bee bread. Average total flavonoid content in bee-pollen has been established in 5.16 mg eq-quercetine/g bee-pollen (Zuluaga et al., 2014), a higher value than in bee-bread. Ivanišová et al. state about the high levels of phenolic substances and total flavonoids in the sample of bee bread from Ukraine. They employed aluminum colorimetric method for assay of sum of flavonoids at 415 nm (Ivanišová, 2015). Čeksteryte et al. also employed aluminum colorimetric method for assay of sum of flavonoids at 415 nm and identified quercetin and kaempferol in bee methanolic beebread extracts, 0.05 and 0.67 mg per 1 gram of beebread, respectively (Čeksteryte, 2016). The presence of quercetin and kaempferol can be explained by that these aglycones are in more than 50% plants (Korulkin et al., 2007). The aim of this study was to measure content of flavonoids, evaluate the flavonoids composition of the extracts of beebread collected in Ukraine in 2015.

Materials and methodology

3 bee bread samples were used in that study. These samples were removed from the cells of the hives, packed in polypropylene bags and stored in refrigeration at (2–8) °C until phytochemical analyses were performed. The samples were collected during summer of 2015 year in Ukraine. The hives were located in Vradivka of Mykolajiv region and Poltava region. Bee bread granules were put in containers, 50% (m/m) ethanol was added in necessary volume and extraction was carried out at 15–25 °C with periodic stirring for 17–21 days at a ratio of raw material-solvent: 1 : 10 and 1 : 5 (maceration). Then extracts were filtered through filter paper. 50% ethanol was selected as solvent that extracts both hydrophilic and hydrophobic biologically active substances (BAS) (Фитохимический анализ..., 2009; Rzepecka-Stojko et al., 2015). Before carrying out analytical procedures extracts were additionally filtered through a filter with a pore size of 0.45 microns if necessary. Table 1 presents information about the tested bee bread samples and their extracts.

Table 1 Information about bee bread samples and prepared extracts

No	Number of an extract	Date of collection of bee pollen	Ratio of bee bread to 50% ethanol	Dates of extraction	Time of extraction
1	10416	15.07.2015	10 g : 100 ml	19.04.–10.05.2016	21 day
2	30416	June 2015	10 g : 100 ml	19.04.–10.05.2016	21 day
3	40516	02.08.2015	20 g : 100 ml	10.05.–27.05.2016	17 days
4	50516	15.07.2015	20 g : 100 ml	10.05.–27.05.2016	17 days
5	60516	June 2015	20 g : 100 ml	10.05.–27.05.16	17 days

Total flavonoid content was determined using the slightly modified method of differential spectrometry provided by Meda et al. (2005). The curve of quercetin dihydrate was plotted in a range of its concentrations of 2.08 to 31.2 mg/L. 1 ml of the obtained solutions of quercetin dihydrate were mixed with 1.0 ml of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol. The amount of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted by the same volume of 50% ethanol in the

blank for each dilution of quercetin dihydrate. Simultaneously, each blank for differential spectrum was used for measuring direct spectrum of quercetin using 50% ethanol as blank. After incubation at the room temperature for 65–85 min the direct and differential spectra of the reaction mixtures were measured in range of 360 nm to 460 nm. In a like manner, the certain volume of an extract of bee bread was diluted with 50% ethanol up to 1.0 ml and was mixed with 1.0 of 2.0% solution of aluminum chloride hexahydrate.

The mixture was mixed by vortex and incubation was done for 65–85 minutes at the room temperature. The amount of 2% solution of aluminum chloride was substituted by the same amount of 50% ethanol in the blank. The test was carried out for each bee bread extract in triplicate. Direct spectra of the extracts were determined according to the following procedure: the certain volume of an extract of bee bread was diluted with 50% ethanol up to 2.0 ml. 50% ethanol was used as a blank. In fact, each blank for a differential spectrum was used for measuring direct spectrum of an extract using 50% ethanol as blank. For assay of flavonoids we used absorbance of the extracts and quercetin dihydrate solutions in absorption maxima in their obtained differential spectra, appropriate equations for quercetin dihydrate in mg/ml ($y_1 = 30.428 \cdot X - 0.0262$, $R^2 = 0.9717$ and $y_2 = 29.945 \cdot X - 0.0219$, $R^2 = 0.997$) and necessary recalculations for volume of an extract taken for the assay.

Results and discussion

The results of the investigation of batches 10416, 30416, 040516, 050516 indicate that at an incorrect ratio of volumes of an extract of bee bread and 2% solution of $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ the absorbance of a reaction mixture is less than 0.05 or significantly higher 1.0 and the absorption maximum are shifted the right. In general, regularity was established: the more absorbance exceeds 1.0 the more absorption maximum is shifted the right. Absorbance of a reaction mixture was corrected with reducing the volume of an extract and compensation of deficiency of the volume of a reaction mixture with a volume of 50% ethanol. Secondly, our studies demonstrated that the structure of direct spectra of developed extracts was very similar. There was no any absorption maximum. The structure of the differential spectra of the tested extracts was also very similar. But there was one divergence in the differential spectra: an absorption maximum varies in the range from 406.9 nm to 411.7 nm that indicated different composition of flavonoids in the extracts (Figures 1a–f). Repeatability of the position of the absorption maximum of the extracts was very good at carrying out analyses in the different days (Table 2).

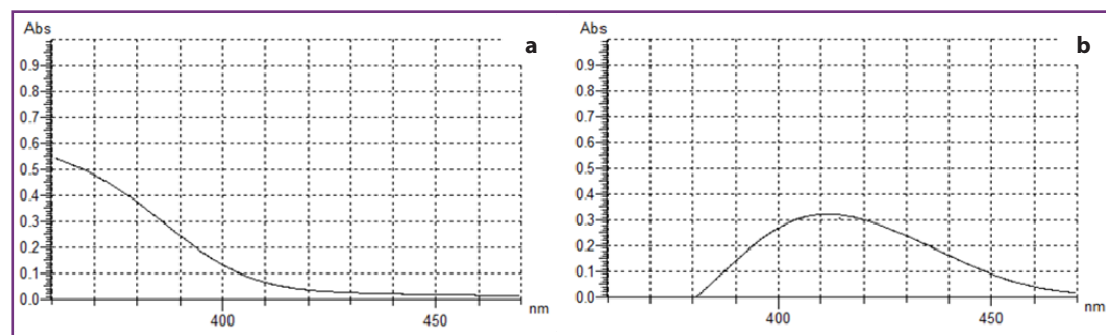


Figure 1a–b Direct spectrum of the extract

a – No. 010416; **b** – No. 010416 with AlCl_3 ($\lambda_{\text{max}} = 412.0$ nm, $A = 0.323$); **c** – No. 040516; **d** – No. 040516 with AlCl_3 ($\lambda_{\text{max}} = 407.6$ nm, $A = 0.483$); **e** – direct spectrum of quercetin 153 mg/l ($\lambda_{\text{max}} = 374.4$ nm, $A = 0.548$); **f** – differential spectrum of quercetin 153 mg/l with AlCl_3 ($\lambda_{\text{max}} = 426.2$ nm, $A = 0.540$)

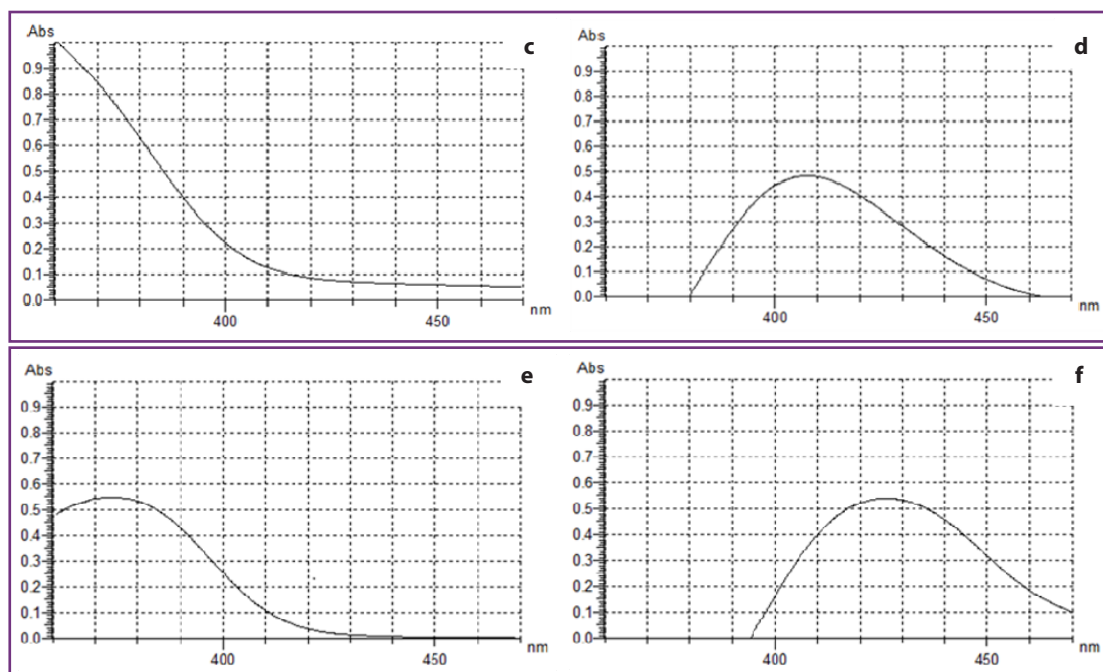


Figure 1c–f Direct spectrum of the extract

a – No. 010416; **b** – No. 010416 with AlCl_3 ($\lambda_{\text{max}} = 412.0$ nm, $A = 0.323$); **c** – No. 040516; **d** – No. 040516 with AlCl_3 ($\lambda_{\text{max}} = 407.6$ nm, $A = 0.483$); **e** – direct spectrum of quercetin 153 mg/l ($\lambda_{\text{max}} = 374.4$ nm, $A = 0.548$); **f** – differential spectrum of quercetin 153 mg/l with AlCl_3 ($\lambda_{\text{max}} = 426.2$ nm, $A = 0.540$)

The principle of aluminum chloride colorimetric method is that aluminum chloride mainly forms complexes with flavones and flavanols wherein it reacts with the C-4 keto group and either the C-3 hydroxyl group of the ring C, and/or C-5, C-7 hydroxyl group of the ring A and the C-3' or C-4' of the ring B hydroxyl groups (Chang et al., 2002). According to Chang et al., such flavanols as galangin, morin, kaempferol, rutin, quercetin, quercitrin and myricetin have absorption maximum at 415–440 nm (ethanol in concentration of 36,5% was as medium) while the absorption maximum of complexes formed by chrysin and apigenin which have only C-5 and C-7 hydroxyl and C-4 keto groups were at 395 nm and 385 nm, respectively. Our study confirms these data: complex of quercetin with aluminum chloride had the maximum absorption at 423.8–427.2 nm in differential spectra in the range of quercetin dihydrate concentrations of 2.08–31.2 mg/L (figures 1e and 1f). Another flavone luteolin having C-3', C-4', C-5 and C-7 hydroxyl groups had the maximum absorption of complex with Al at 415 nm (Chang et al., 2002). Baltrušaityte et al. (2007) identified kaempferol, chrysin and apigenin in bee bread.

Čeksteryte et al. (2016) identified kaempferol and quercetin and stated that flavonoids in the form of glycosides had been not found in bee bread. Markievicz-Žukovska et al. (2013) detected kaempferol and apigenin in bee bread. Sobral et al. (2017) recognized a lot of flavonoids derivatives in bee bread among them were flavanol derivatives, mainly quercetin, kaempferol, myricetin, isorhamnetin and herbacetin glycoside derivatives.

Table 2 Analytical procedure and content of sum of flavonoids in bee bread extracts

Number of an extract	Analytical procedure	λ_{max} and absorbance	Sum of flavonoids, mg/L, time of forming complex
10416	0,5 ml of the extract + 1,0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 0,5 ml of 50% ethanol	413,2 nm, 1.435	63 min, content of flavonoids was not calculated
	0.1 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 0.90 ml of 50% ethanol	410.9 nm, 0.327	103.71, 67 min
		411.7 nm, 0.336	106.41, 74 min
30416	0.5 ml of the extract + 0.5 ml of 50% ethanol + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	410.6 nm, 0.144	10.01, 66 min
	0.1 ml of the extract + 0.90 ml of 50% ethanol + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	412.5 nm, 0.032	17.11, 80 min
40516	1.0 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	426.3 nm, 1.941	content of flavonoids was not calculated (20.07.2016)
	0.1 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 0.90 ml of 50% ethanol	407.3 nm, 0.516	159.21, 82 min
50516	1.0 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	431.6 nm, 1.969	content of flavonoids was not calculated (20.07.2016)
	0.5 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 0.5 ml of 50% ethanol	419.3 nm, 1.697	69 min, content of flavonoids was not calculated
	0.1 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 0.9 ml of 50% ethanol	410.1 nm, 0.539	166.01, 71 min
		410.4 nm, 0.528	162.71, 86 min
60516	1.0 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	411.5 nm, 0.440	content of flavonoids was not calculated (20.07.2016)
	0.5 ml of the extract + 1.0 ml 2% $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ + 0,5 ml of 50% ethanol	411.9 nm, 0.213	14.02, 74 min

1 – calculations of sum of flavonoids were performed using $y_1 = 30.428 \cdot X - 0.0262$, 2 – calculations of sum of flavonoids were performed using $y_2 = 29.945 \cdot X - 0.0219$

Conclusions

The total contents of flavonoids in the extracts ranged from 10 to 166 mg in 1 L. Supposing that flavonoids are present in the form of aglycones we can assume that our beebread sample contain mainly flavones as the maximum absorbance of extracts in their differential spectra are less than 415 nm, namely in the range of 406.9–411.7 nm. But on the other hand, according to D. Korulkin et al. (2007), there is the following regularity for absorption maxima of flavanols: at substitution of the C-3 hydroxyl group absorption maximum of complex of flavonoids with AlCl_3 is shifted the left. For this reason, we assume that our bee bread sample can contain flavanols mainly in the form of glycosides and flavones.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» and within the project ITMS 25 110 320 104. Co-author Nataliia Hudz thanks to the International Visegrad Fund

for scholarship and research internships, during which were got the results and knowledge presented in this paper.

References

- Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P.R., Čeksterytė, V. 2007. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food chemistry*, vol. 101, no. 2, p. 502–514. DOI: [10.1016/j.foodchem.2006.02.07](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.07)
- Barene, I., Daberte, I., Sikсна, S. 2015. Investigation of bee bread and development of its dosage forms. *Medicinos teorija ir praktika*, vol. 21, no 1, p. 16–22. DOI: [10.15591/mtp.2015.003](https://doi.org/10.15591/mtp.2015.003)
- Čeksterytė, V., Kurtinaitienė, B., Venskutonis, P.R. et al. 2016. Evaluation of Antioxidant Activity and Flavonoid Composition in Differently Preserved Bee Products. *Czech J. Food Sci.*, vol., p. 133–142.
- Chang, Ch.-Ch., Yang, M.-H., Wen, H.-M., Chern, J.-Ch. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 10, no. 3, p. 178–182.
- Ivanišová, E., Kačániová, M., Frančáková, H., Petrová, J., Hutková, J., Brovarskyi, V., Velychko, S., Adamchuk, L., Schubertová, Z., Musilová, J. 2015. Bee bread – perspective source of bioactive compounds for future. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 9, no 1, p. 592–598. DOI: [10.5219/558](https://doi.org/10.5219/558)
- Markievicz-Žukovska, R., Naliwajko, S.K., Bartosiuk, E., Moskwa, J., Isidorov, V., Soroczyńska, J., Borawska, M. 2013. Chemical composition and antioxidant activity of bee bread, and its influence on the glioblastoma cell line (U87MG). *J. Apic. Sci.*, vol. 57, no 2, p. 147–157.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M. et al. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol. 91, p. 571–577.
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Gorecki, M., Kabala-Dzik, A., Kubina, R., Mozdziej, A., Buszman, E. 2015. Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, vol. 20, no. 12, p. 21732–21749. DOI: [10.3390/molecules201219800](https://doi.org/10.3390/molecules201219800)
- Sobral, F., Calhelha, R.C., Barros, L., Dueñas, M., Tomás, A., Santos-Buelga, C., Vilas-Boas, M., Isabel Ferreira I. 2017. Flavonoid Composition and Antitumor Activity of Bee Bread Collected in Northeast Portugal. *Molecules*, vol. 22, no. 2, p. 248. DOI: [10.3390/molecules22020248](https://doi.org/10.3390/molecules22020248)
- Zuluaga, C.M., Serratob, J. C., Quicazana, M. C. 2015. Chemical, Nutritional and Bioactive Characterization of Colombian Bee-Bread. *Chemical engineering transactions*, vol. 43, p. 175–180.
- Корулькин, Д.Ю., Абилов, Ж.А., Музычкина, Р.А., Толстиков, Г.А. 2007. Природные флавоноиды. *Рос. акад. наук, Сиб. отд., Новосиб. ин-т органической химии*. Новосибирск: Академическое изд-во „Тео“. 232 с. ISBN 978-5-9747-0119-1.
- Фитохимический анализ растительного сырья, содержащего флавоноиды. 2009. *Методическое пособие по фармакогнозии*. Иркутск. 67 с.



METHODS OF DETERMINATION OF SUM OF FLAVONOIDS IN HERBAL PRODUCTS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHODS

**Hudz Nataliia¹, Nikolaieva Nataliia³, Konyk Chrystyna¹,
Kaplun Ivanna¹, Šimková Jana², Grygorieva Olga⁴**

¹Department of Drug Technology and Biopharmaceutics, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

²Department of Genetics and Plant Breeding, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

³Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

⁴M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

СПОСОБИ ВИЗНАЧЕННЯ СУМАРНОГО ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ В РОСЛИННИХ ПРОДУКТАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

**Гудзь Наталія, Ніколаєва Наталія, Коник Христина,
Каплун Іванна, Шимкова Яна, Григор'єва Ольга**

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Flavonoid-containing plants attract the attention of researchers due to their prospect in obtaining food products and medicines with various pharmacological effects (anti-inflammatory, vessel protective, choleric, hepatoprotective, radioprotective, antitumor, immunomodulatory, antimicrobial effects, etc.). For determining the total content of flavonoids, the method of differential spectrophotometry with a reagent of aluminum chloride is the most often used based on the complex formation of aluminum with the C-4 keto group and the hydroxyl groups of C-3 and C-5, as well as other hydroxyl groups of the flavonoid rings A and/or B. As compensation solution is used a mixture which contains the same components as the test solution, with the exception of aluminum chloride, the volume of which is replaced by the solvent on which aluminum chloride was prepared. Such a modification makes it possible to exclude the influence of colored compounds on the results of the analysis. On the basis of literary data and own research, practical approaches for methods of determining the total content of flavonoids and the identification of the dominant group of flavonoids are given. The optical density of the reaction mixture of an extract with 1 ml of a 2% solution of aluminum chloride hexahydrate should be in the range from 0,1 to 1,0 using 1 ml of the extract or its appropriate dilution. For each plant, it is necessary to set the time of stability of flavonoids with aluminum chloride. In the process of own research, this complex was stable for 65–95 minutes. The study of the total content of flavonoids should be carried out with the identification of the dominant group of flavonoids by determining the maximum absorption in the differential spectrum of the extract with 1 ml of a 2% solution of aluminum chloride. The maximum absorption is also required to select an analytical marker with an identical maximum of absorption of its complex with aluminum chloride in an identical solvent. Spectrometric studies should be supplemented by chromatography to confirm the correct choice of analytical marker.

Keywords: flavonoids; spectrophotometry; rutin; quercetin; *Corylus avellana* L.; bee bread

*Corresponding author: Nataliia Hudz, Department of Drug Technology and Biopharmaceutics, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine, ✉ natali_gudz@ukr.net

Вступ

Відомо, що в арсеналі лікарських засобів, які застосовують у традиційній та західній медицині, значну частину складають засоби рослинного походження. Значні ресурси, доступність сировини, можливість культивування роблять рослинну сировину перспективним об'єктом дослідження з метою розробки нових лікарських засобів та харчових продуктів рослинного походження (Шостак, 2014а, Шостак, 2014б). Флавоноїдовмісні рослини привертають увагу дослідників внаслідок їх перспективності в отриманні харчових продуктів та лікарських препаратів різної фармакологічної дії. Флавоноїди – фенольні сполуки, які представляють різні похідні фенілхроману або фенілхромону, знайдені майже у всіх частинах вищих рослин у вигляді глікозидів і /або агліконів. Якісний склад і кількісний вміст флавоноїдів залежить від роду та виду рослини (Санникова, 2016). Метою даної роботи є узагальнення літературних даних щодо стандартизації рослинної сировини за кількісним вмістом флавоноїдів, у тому числі щодо вибору аналітичного маркера, довжини хвилі, за якої проводяться вимірювання, та наведення підходів щодо розробки методики кількісного визначення флавоноїдів методом диференціальної спектрофотометрії з реактивом алюмінію хлоридом на основі літературних даних та власних досліджень.

Матеріали та методи

У роботі використовувалися методи літературного пошуку, узагальнення та систематизація літературних даних та власних досліджень, спектрофотометричний метод. Як об'єкти дослідження були використані ліщина звичайна (*Corylus avellana* L.), перга, софора японська (*Styphnolobium japonicum* L.), лушпиння цибулі, цмин піщаний (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench), прополіс, плоди шипшини собачої (*Rosa canina* L.); аналітичні маркери – кверцетину дигідрат, рутину тригідрат, хризин, апігенін, лютеолін, мірецин. У власних дослідженнях використовувалися ліщина звичайна, перга, та аналітичні маркери кверцетину дигідрат, рутину тригідрат.

Результати та їх обговорення

Флавоноїди проявляють протизапальну, капілярозміцнюючу, жовчогінну, гепатопротекторну, радіопротекторну, протипухлинну, імуномодуючу, протимікробну дію тощо. За останнє десятиріччя особливий інтерес викликає антиоксидантна дія флавоноїдів, їх здатність зв'язувати вільні радикали, які є причиною виникнення у людини багатьох важких патологій. За антиоксидантною дією флавоноїди перевершують вітаміни С та Е і каротиноїди. Флавоноїди гальмують дію вільних радикалів безпосередньо за рахунок усунення радикалів шляхом донатії атома гідрогену гідроксильної групи і утворення стабільного флавоноїдного феноксильного радикалу та стабільної молекули-акцептора гідрогену (Ломбоева, 2008; Чечета, 2011; Сорокина, 2013; Ivanišová et al., 2015; Литвиненко, 2016; Fatrcová-Šramková, 2016). Тому стандартизація рослинної сировини та продуктів бджільництва (перга, прополіс) за вмістом флавоноїдів є доволі актуальною тематикою.

У рослинних об'єктах флавоноїди в основному містяться у вигляді сумішей різних глікозидів, які належать до різних груп флавоноїдів, що ускладнює вибір специфічного легкодоступного методу їх кількісного визначення і вимагає проведення системних досліджень. На початкових етапах розробки рослинних продуктів важливим питанням є розробка методики швидкого визначення сумарного вмісту флавоноїдів, яка дає можливість при подальших дослідженнях оптимізувати технологію рослинного продукту (вибір розчинника та його оптимальної концентрації, методики екстракції, співвідношення «сировина-екстрагент», температурного режиму та часу екстракції, а також ступеня подрібнення сировини тощо) з метою максимальної екстракції біологічно активних сполук (Ломбоева, 2008; Чечета, 2011). Так, при екстрагуванні бруньок та листя берези бородавчастої використано спирт етиловий

у концентраціях 60, 65, 70 % та обрано такі методи екстрагування, як перколяцію і прискорену дробну мацерацію.

Спиртові розчини такої концентрації максимально екстрагують основні діючі речовини – флавоноїди (як у формі агліконів, так і у формі глікозидів) та ефірну олію. Зниження концентрації спирту призводить до недостатнього вилучення флавоноїдів і до забруднення витяжки баластними речовинами. Концентрація спирту вище 70 % не дозволяє вилучити флавоноїди у формі глікозидів. Флавоноїди вважаються стійкими хімічними ознаками виду. Тому їх ідентифікація та кількісне визначення має значення і для виявлення закономірностей їх синтезу залежно від сезону, віку рослини, для вивчення впливу екологічних факторів на накопичення флавоноїдів, а також для визначення оптимальних умов заготівлі сировини (Ломбоева, 2008; Шостак, 2014а; Шостак, 2014б).

Згідно з літературними даними для визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів найчастіше використовується метод диференціальної спектрофотометрії з реактивом алюмінію хлоридом (Ломбоева, 2008; Литвиненко, 2016; Blyznuuk et al., 2016.). Хоча у деяких публікаціях зазначається метод прямої спектрофотометрії з реактивом алюмінію хлоридом (Сорокина, 2013). Принцип спектрофотометричного методу з алюмінію хлоридом базується на комплексоутворенні алюмінію з С-4 кетогрупою і гідроксильними групами С-3 та С-5, а також іншими гідроксильними групами кілець А і/або В молекул флавоноїдів. Комплекси таких флавоноів як хризин, апігенін та лютеолін з алюмінію хлоридом мають максимум поглинання при наступних довжинах хвиль 395, 385 і 415 нм, відповідно, а комплекси таких флавонолів як рутин, кверцетин, кверцетрин, мірецитин в діапазоні 415 – 440 нм (Chan et al., 2002), рутин 412 нм (Чечета, 2011), 414 нм (Ломбоева, 2008). Власні дослідження показали, що спектр поглинання кверцетину з алюмінію хлоридом має максимум поглинання при довжині хвилі 425 ± 2 нм у діапазоні концентрацій кверцетину дигідрату 2,08 – 31,2 мг/л. Однак вищезгадані методи не дають можливості ідентифікувати які саме флавоноїди вміщуються у сировині, оскільки спектри різних комплексів флавоноїдів з алюмінію хлориду накладаються, оскільки їх максимуми поглинання знаходяться близько один до одного. Додавання алюмінію хлориду та використання як компенсаційного розчину досліджуваного зразку без алюмінію хлориду дає можливість визначати вміст флавоноїдів та усунути вплив інших забарвлених біологічно активних сполук, які поглинають світло (метод диференціальної спектрофотометрії) (Чечета, 2011; Blyznuuk et al., 2016). Вибір аналітичної хвилі, за якої проводиться кількісне визначення, встановлюється на основі максимуму поглинання рослинного продукту з алюмінію хлоридом. Вибір аналітичного маркера для кількісного визначення флавоноїдів здійснюється з урахуванням близькості спектрів поглинання комплексів маркерів з Al (III) і спектрів поглинання витяжок з алюмінію хлоридом та/або даних хроматографії (Чечета, 2011; Сорокина, 2013). Такий підхід, на наш погляд, дозволяє зменшити похибку визначення сумарного вмісту флавоноїдів при перерахунку на відповідний аналітичний маркер.

Згідно з літературними даними максимуми спектрів поглинання комплексів флавоноїдів з Al (III) в спектрах знаходяться в діапазоні від 406 до 430 нм, а саме при 406 нм для екстракту ліщини звичайної (диференціальний спектр); при (410 ± 2) нм для плодів шипшини (диференціальний спектр); при 410 – 412 нм для екстрактів листя та пагонів верби тритичинкової (диференціальний спектр); при 413,5 нм для софори японської (прямий спектр); при 416,5 нм – для лушпиння цибулі (прямий спектр); при 414 нм для надземної частини ортілії однобокої (диференціальний спектр); при 418 нм для цмину піщаного (прямий спектр); при 430 нм – для прополісу (прямий спектр). Під терміном «диференціальний спектр» йдеться про спектр витяжки з алюмінію хлоридом з компенсаційним розчином, який вміщує всі компоненти досліджуваного розчину, за винятком алюмінію хлориду, а під терміном «прямий спектр» – спектр витяжки з алюмінію хлоридом з компенсаційним розчином – етанолом. Для перерахунку вмісту флавоноїдів у екстрактах верби тритичинкової, ліщини звичайної, плодів шипшини, софори японської та лушпиння цибулі як аналітичний маркер використовувався рутин, в прополісі – кверцетин.

Уміст флавоноїдів подається найчастіше в перерахунку на кверцетин або рутин (Ломбоева, 2008; Чечета, 2011; Сорокина, 2013; Литвиненко, 2016; Blyznyuk et al., 2016). Для цмину піщаного кількісний вміст флавоноїдів різними фармакопеями перераховується або на рутин (не менше 2,5 %), або кверцетин (не менше 0.5 %) або халконовий глікозид ізосаліпурпозид (не менше 0,5 %) (Литвиненко, 2016).

Відповідно до власних експериментальних даних максимум поглинання екстрактів пилку ліщини звичайної в диференціальному спектрі знаходився в межах 405 – 410 нм, а екстрактів перги в межах 403 – 412 нм. Максимум поглинання екстрактів перги залежав від місяця і року збирання перги (Hudz et al., 2017).

За літературними даними для встановлення стійкого забарвлення випробуваного розчину і його стабільності проводяться дослідження протягом 1 години після приготування реакційної суміші. Для отримання стабільних результатів, оптимальним є використання як комплексоутворюючого реагента 2 % спиртового розчину алюмінію хлориду в співвідношенні з екстрактом: 1 : 1. Максимальна оптична густина розчинів досягається через 30 хвилин після додавання реактиву (Чечета, 2011).

Висновки

Нами запропонований наступний підхід визначення сумарного вмісту флавоноїдів на основі літературних даних та експериментальних досліджень: Оптична густина реакційної суміші витяжки з 1 мл 2 % розчину алюмінію хлориду гексагідрату повинна знаходитися в межах від 0,1 до 1,0 при використанні 1 мл витяжки або її відповідного розведення. При значенні оптичної густини більшого ніж 1.0 необхідно зменшити об'єм витяжки або її відповідного розведення з компенсацією об'єму розчинником і введенням необхідних коефіцієнтів у формулу розрахунку сумарного вмісту флавоноїдів. Для кожного рослинного об'єкту необхідно встановити час стабільності комплексу флавоноїдів з алюмінію хлоридом. У процесі проведення власних досліджень цей комплекс був стійкий протягом 65 – 95 хв. Дослідження сумарного вмісту флавоноїдів доцільно проводити з ідентифікацією домінуючої групи флавоноїдів шляхом визначення максимуму поглинання в диференціальному спектрі. Максимум поглинання є необхідний і для вибору аналітичного маркеру з ідентичним або близьким максимумом поглинання його комплексу з алюмінію хлоридом в ідентичному розчиннику. Спектрометричні дослідження доцільно доповнити хроматографічними для підтвердження правильності вибору аналітичного маркеру для перерахунку суми флавоноїдів.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» and within the project ITMS 25 110 320 104. Co-author Nataliia Hudz thanks to the International Visegrad Fund for scholarship and research internships, during which were got the results and knowledge presented in this paper.

Література

- Blyznyuk, N., Prokopenko, Yu., Gergiyants, V. 2016. Development of methods for determination of phenolic acids and flavonoids in capsules containing *Corylus avellana* L. dry extract. *Journal «Science Rise»*, no. 2/4 (19), p. 18–22.
- Chang, Ch.-Ch., Yang, M.-H., Wen, H.-M., Chern, J.-Ch. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 10, no. 3, p. 178–182.

- Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Márriássyová, M., Kačániová, M. 2015. Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health*, vol. 51, no. 3, p. 176–181.
- Hudz, N., Brindza, J., Grygorieva, O., Schubertová, Z., Filipiska, A., Ivanišová, E. 2017. Phytochemical studies of bee bread extracts. *Збірник праць X міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції до 25-річчя заснування НДІ фітотерапії ДВНЗ «Ужгородський національний університет»*: Сучасні аспекти збереження здоров'я людини, Ужгород, с. 80–83.
- Ivanišová, E., Kačániová, M., Frančáková, H., Petrová, J., Hutková, J., Brovarskyi, V., Velychko, S., Adamchuk, L., Schubertová, Z., Musilová, J. 2015. Bee bread – perspective source of bioactive compounds for future. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 9, no. 1, p. 592–598. <https://doi.org/10.5219/558>
- Шостак, Т.А., Калинюк, Т.Г., Гудзь, Н.І. 2014а. Застосування рослинних субстанцій в якості активних фармацевтичних інгредієнтів. *Фітотерапія*, № 3, с. 63–65.
- Шостак, Т.А., Калинюк, Т.Г., Гудзь, Н.І. 2014б. Особливості фармацевтичної розробки рослинних препаратів (огляд літератури). *Фітотерапія*, № 4, с. 77–82.
- Литвиненко, В.И., Попова, Т.П., Попова, Н.В., Георгиевский, В.П. 2016. К вопросу об изосалилпурпозиде-стандарте в контроле сырья и фитопрепаратов из бессмертника песчаного. *Фармаком*, № 3, с. 23–27.
- Ломбоева, С.С., Танхаева, Л.М., Оленников, Д.Н. 2008. Методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (*Orthilia secunda* (L.) House). *Химия растительного сырья*, № 2, с. 65–66.
- Санникова, Е.Г., Попова, О.И., Фролова, О.О., Айрапетова, А.Ю. 2016. Изучение флавоноидов ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.), произрастающей на Северном Кавказе. *Фармация и фармакология*, с. 56–67.
- Сорокина, О.Н., Сумина, Е.Г., Петракова, А.В., Барышева, С.В. 2013. Спектрофотометрическое определение суммарного содержания флавоноидов в лекарственных препаратах растительного происхождения. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Сер. Химия. Биология. Экология*, т. 13, вып. 3, с. 8–11.
- Чечета О. В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А. И., Снопов С. В. 2011. Определение флавоноидов в плодах шиповника (*Rosa* sp.). *Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация*, № 11, с. 205–209.



THE ROLE OF HERBAL ADAPTOGENS AND IMMUNOMODULATORS IN DIETARY FOOD AND PHYTOTHERAPY

Rybak Oksana¹, Hudz Nataliia^{1*}, Svidenko Lyudmila², Grygorieva Olga³, Makarenko Oleksandr⁴, Brindza Jan⁵

¹Department of Drug Technology and Biopharmaceutics, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

²Sector of mobilization and saving of herbal resources of the rice Institute of the National Agrarian Academy of Sciences of Ukraine, Nova Kakhovka, Ukraine

³M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

⁴National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

⁵Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

РОЛЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ АДАПТОГЕНОВ И ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В ДИЕТИЧЕСКОМ ПИТАНИИ И ФИТОТЕРАПИИ

Рыбак Оксана, Гудзь Наталия, Свиденко Людмила, Григорьева Ольга, Макаренко Александр, Бриндза Ян

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

It was established that phytoadaptogens and immunomodulators are widely used in the composition of dietary food and pharmaceutical products. Phytoadaptogens positively affect the nervous system: normalize the processes of excitation and inhibition in the cerebral cortex, reduce fatigue in physical and mental stress, improve memory, etc. The general adaptogenic action is strengthened by antioxidant and immunomodulating properties of biologically active substances of plant material, bee bread and bee pollen. An analysis of the literature data shows that the immunostimulating and adaptogenic properties of above mentioned natural products are due to the presence phenylpropanoids and polysaccharides. Our attention was focused on a powerful antioxidant and vitamin product with anabolic effect – juice from fruits of *Arónia mitschurínii* Skvortsov et Maitulina, stimulating the central nervous system – fruits of *Schisandra chinénsis* (Turcz.) Baill, an immunostimulating agent – *Echinácea purpúrea* (L.) Moench, and also on bee bread and *Lophanthus anisatus* Benth. Fruits of chokeberry contain a large amount of B vitamins, phenolic acids and P-vitamin bioflavonoids. Lignan compounds of *Schisandra chinensis* were reported to possess strong antioxidant activity, which block processes of free radical oxidation and prevent the development of oxidative stress. The most characteristic component of *Echinácea purpúrea* is chicory acid, which determines the immunomodulation and antiviral activity. Bee pollen and bee bread are rich in polyphenols. We conduct research on the development of food and pharmaceutical products with an adaptogenic and immunostimulating effect on the basis of above mentioned natural products of sector of mobilization and saving of herbal resources of the rice institute of the National Agrarian Academy of Sciences of Ukraine, M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine and Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety of Slovak University of Agriculture in Nitra.

***Corresponding author:** Nataliia Hudz, Department of Drug Technology and Biopharmaceutics, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine, ✉ natali_gudz@ukr.net

Keywords: immunocorrectors; bee bread; *Arónia mitschurínii*; *Schisándra chinénsis*; *Echinácea purpúrea*; *Lophanthus anisatus*

Введение

Проблема питания наряду с неудовлетворительной экологической ситуацией и большой психоэмоциональной нагрузкой относится к числу факторов, ухудшающих состояние здоровья населения. Существенно возросла роль пищи с низким содержанием витаминов и микроэлементов. Это приводит к ухудшению состояния организма, снижению иммунитета и жизненной активности людей. Поэтому в современных экологических условиях и психоэмоциональной нагрузки большой интерес представляет создание продуктов функционального питания и лекарственных средств растительного происхождения с добавлением адаптогенов и иммуномодуляторов – веществ, способных оказывать регулирующих действие на иммунную систему (Доронин и Шендеров, 2002; Литвинова, 2014; Хасина и Фисенко, 2015; Еремеева и др., 2016; Макиева, 2016; Zhao et al., 2016; Міщенко та ін., 2017; Карнаух и Неплях, 2017). Одной из важных проблем современной фармацевтической технологии и фитотерапии есть увеличение количества отечественных лекарственных средств (Шостак и др., 2014).

Из лекарственных средств, наиболее широко используемых в практике спортивной медицины, используются антигипоксанта, поливитаминные препараты, адаптогены, антиоксиданты, иммунокорректоры, психостимуляторы и др. (Алькевич и др., 2015; Питкевич и др., 2017). Адаптогены привлекают внимание врачей спортивной медицины как средства, способные оптимизировать достижение высокой тренированности и ускорить протекание процессов восстановления спортсменов. Оказывая возбуждающее действие на центральную нервную систему, адаптогены, в отличие от допинговых препаратов, не истощают запасов катехоламинов в депо. В механизме развития фармакологического эффекта адаптогенов важную роль играют также их антиоксидантные свойства (Касьяненко и др., 2011).

По происхождению адаптогены разделяют на синтетические, минеральные, животные и растительные (фитоадаптогены) (Стешенко и др., 2015; Макиева, 2016). Привлекает внимание специалистов спортивной медицины и биологически активные добавки (БАД), содержащие витамины, микроэлементы, фитоадаптогены, иммунокорректоры и антигипоксанта растительного происхождения (плоды и семена лимонника китайского (*Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill), трава эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), корневища и корни элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. Et Maxim)), остролодочник остролистный (*Oxytropis oxyphylla* (Pall.) DC.), гребни винограда, корневища и биомасса родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.), шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi), пчелиная обножка, перга и др. (Касьяненко и др., 2011; Макиева, 2016; Питкевич и др., 2017; Міщенко та ін., 2017).

Фитоадаптогены – метаболические регуляторы, которые повышают возможности организма адаптироваться к внешним стрессовым воздействиям и защищают организм от стрессовых воздействий (стресс-протекторное действие). Механизм действия адаптогенов до сих пор точно не известен. Считают, что они влияют на биосинтез ДНК, РНК, белков, регулируют обмен гормонов, углеводов, липидов, активизируют обменные процессы. Кроме того, адаптогены облегчают приспособление организма к воздействию различных стресс-факторов: перегреванию или переохлаждению, повышенным физическим нагрузкам, недостатку кислорода, ядам, радиации, жажде, голоданию, способны профилактировать многие заболевания или облегчить их течение. Считается, что эффект адаптогенов также связан с их влиянием на работу ЦНС (возбуждающее действие), эндокринной (регулируют функции надпочечников), иммунной и сердечно-сосудистой систем.

Растительные адаптогены содержат такие биологически активные вещества как простые фенолы, флавоноиды, гликозиды, полисахариды, фитостеролы, терпеноиды, гидроксिलированные жирные кислоты и гликопептиды.

Вышеперечисленные биологические свойства адаптогенов делают их применение перспективным для оптимизации процессов восстановления работоспособности при интенсивных физических и интеллектуальных нагрузках (Касьяненко и др., 2011; Фомченко и др., 2013; Макиева, 2014; Куркин, 2015; Попков, 2015; Хасина, Фисенко, 2015; Стешенко и др., 2015; Карнаух и Неплях, 2017).

Цель исследования – проведение краткого обзора литературных источников о биологических свойствах некоторых лекарственных растений и природных продуктов для обоснования их введения в новые функциональные диетические продукты и лекарственные средства с адаптогенным и иммуномодулирующим действием.

Материалы и методы

Анализ литературных данных о растительных адаптогенах и рассмотрение перспективы их использования в создании новых функциональных пищевых продуктов и лекарственных средств с адаптогенным и иммуномодулирующим действием.

Результаты и их обсуждение

Наиболее высокими адаптогенными свойствами обладают женьшень (*Panax ginseng* C.A.Mey.), эллеутерокок колючий, лимонник китайский, левзея (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin), родиола розовая, аралия маньчжурская и др. В проявлении адаптогенных свойств многих видов лекарственного растительного сырья играют роль такие биологически активные вещества (БАВ) как фенольные и полифенольные соединения (фенольные кислоты, фенологликозиды, лигнаны, флавоноиды), сапонины, экдистероиды, алкалоиды, витамины, полисахариды и др. (Попков, 2015; Стешенко и др., 2015; Макиева, 2016). Общее адаптогенное действие усиливается антиоксидантным, биостимулирующим, иммуномодулирующим, нейротропным свойствами БАВ растительного сырья. Поэтому мы обратили внимание на мощное антиоксидантное и витаминное средство с анаболическим эффектом – плоды аронии черноплодной, стимулирующее ЦНС и тонизирующее средство – плоды лимонника китайского и известное биостимулирующее, иммуностимулирующее средство – эхинацею пурпурную, популярное в китайской медицине растительное средство с иммуностимулирующим и радиопротекторным действием – траву лофанта анисового, а также на пергу (Amico et al., 2013; Семенов и др., 2015; Карнаух и Неплях, 2017).

Широко распространенная «черноплодная рябина», культивируемая во многих странах Восточной и Северной Европы, является **аронией Мичурина** (*Arónia mitschurínii* Skvortsov et Maitulina). Часто ее называют аронией черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.), которая естественно произрастает в Северной Америке, где имеет мелкие, малосъедобные плоды и даже относится к трудно искореняемым сорнякам. Арония Мичурина – вид, искусственно созданный в 1890-х году (Скворцов и др., 2005; Виноградова и др., 2014).

Плоды аронии Мичурина благодаря своему богатому химическому составу являются лекарственным сырьем и обладают хорошими пищевыми и лечебно-профилактическими качествами. Плоды содержат большое количество витаминов группы В, фенольных кислот и Р-витаминных биофлавоноидов и их гликозидов: катехинов, флаванолов (гесперидин), флавонолов (кверцетин, рутин), антоцианов и лейкоантоцианов. Среди БАВ также идентифицированы дубильные вещества, пектины, аскорбиновая кислота, органические кислоты, микроэлементы, до 10 % сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза). Плоды аронии являются одним из самых богатых источников растительных антоцианов, класс флавоноидов, содержащих в качестве агликона антоцианидины. Цианидин-3-О-галактозид, цианидин-

3-О-арабинозид, цианидин-3-О-ксилозид и цианидин-3-О-глюкозид есть основными полифенольными соединениями плодов аронии и отвечают за темно-красный, синий и фиолетовый цвет плодов. Содержание фенольных соединений колеблется от 40 до 70 мг в 1 г высушенных плодов, из которых 50 % антоцианы.

Проантоцианидины, антоцианидины и их гликозиды могут находить применение в питании и медицине из-за их высокой антиоксидантной активности и положительного воздействия на здоровье человека при ряде метаболических и иммунных заболеваний, особенно тех, которые связаны с окислительным стрессом, включая сердечно-сосудистые и желудочно-кишечные заболевания, рак, нарушения липидов и противовирусную активность (Oszmianski, 1988; Фармакогнозія..., 2015; Еремеева и др., 2016; Cebulak et al., 2017).

Благодаря наличию флавоноидов, а именно рутина арония владеет Р-витаминной активностью: повышает эластичность кровеносных капилляров и нормализует их проницаемость, имеет антиоксидантные и радиопротекторные свойства (Oszmianski, 1988; Lee et al., 2017). Н.Б. Еремеевой и др. (2016) было рассмотрено влияние условий сверхкритической экстракции на антиоксидантные свойства получаемых экстрактов и установлено, что антиоксидантная активность увеличивается с повышением температуры экстракции. Полезные свойства аронии также обусловлены содержанием в ней витаминов А, С, В₁, В₂, Е, Р, РР, каротина, марганца, меди, бора, магния, молибдена, железа (Формазюк, 2003; Орловецкая и Данькевич, 2014).

В плодах аронии содержится много йода, поэтому они полезны при диффузном токсическом зобе. Благодаря содержанию пектиновых веществ арония способствует выведению из организма тяжелых металлов и радиоактивных веществ. Пектины нормализуют функционирование кишечника, устраняют спазмы и оказывают желчегонный эффект. В мякоти ягод найдены также амигдалин, кумарин и другие соединения (Орловецкая и Данькевич, 2014).

Растительные средства из плодов аронии имеют гипотензивное, спазмолитическое, противовоспалительное, капилляроукрепляющее, мочегонное, желчегонное и др. действие. Сок аронии является компонентом биогенного стимулятора Биоарон С (Лекарственные растения..., 1991; Формазюк, 2003; Липкан, 2006; Фармакогнозія..., 2015; Державний реєстр..., 2017). П.Н. Попковым (2015) разработан фитоадаптогенный бальзам на основе 32 видов лекарственного растительного сырья, в состав которого вошли корневища с корнями эхинацеи пурпурной как иммуностимулирующего средства и плоды аронии черноплодной как мощного антиоксидантного средства. Д.Б. Семенов и др. (2014, 2015) установили гипоазотемическое, гепатопротекторное и анаболическое действие сока аронии и анаболический эффект масла аронии. Анаболический эффект обеспечивается усилением синтеза нуклеиновых кислот в печени и общего белка в организме.

Плоды и семена **лимонника китайского** (*Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill) используются как лекарственное сырье, остальные части растения не подлежат заготовке (Мальцева и др., 2015; Макиева, 2016; Государственный реєстр..., 2017; Державний реєстр..., 2017). Плоды и семена содержат лигнаны (схизандрин, дезоксисхизандрин, гомизин, схизандрол и др.), фенольные соединения, флавоноиды (катехины, антоцианы), органические кислоты (аскорбиновая, лимонная, яблочная), дубильные вещества, жирные и эфирные масла, пектины, сахара. Лимонник китайский обладает выраженным стимулирующим эффектом, сопоставимым с действием допинговых препаратов (Фармакогнозія..., 2015; Формазюк, 2003; Липкан, 2006; Жукович и др., 2007; Мальцева и др., 2015; Лекарственные растения, 2016; Макиева, 2016; Zhao et al., 2016; Питкевич и др., 2017).

Свойства данного растения укреплять иммунитет и действовать, как мощный адаптоген были известны давно и широко использовались в восточной медицине, в частности в Китае. Благодаря лигнанам, которые находятся в ягодах лимонника, организм быстрее и легче адаптируется к новой окружающей среде, климату, смене погоды и часовых поясов. Ученые отмечают, что регулярный прием экстракта лимонника усиливает иммунитет, повышает

сопротивляемость ко многим болезням, укрепляет адаптивные возможности организма (Asea et al., 2013; Кондакова и др., 2016; Zhao et al., 2016; Макиева, 2016; Карнаух и Неплях, 2017).

В России семена лимонника используют для промышленного производства настойки, применяемой в качестве средства, для лечения астенического синдрома, переутомления, психического и физического перенапряжения, повышения работоспособности организма, нейрциркуляторной дистонии по гипотоническому типу, комплексной терапии ослабления половой функции на почве неврастении (Государственный реестр..., 2017).

Лимонник повышает стойкость организма к различным нагрузкам, улучшает регулирование физиологических процессов, является сильным антиоксидантным средством, нормализует артериальное давление, улучшает пищеварение, используется как средство профилактики гриппа и других инфекционных заболеваний. Препараты лимонника повышают чувствительность периферического и центрального зрения (Энциклопедический словарь..., 1999; Кротова и Ефремов, 1999; Формазюк, 2003; Липкан, 2006; Добрина и др., 2016). Исследования последних лет доказали гепатопротекторную, онкопротекторную, антивирусную, актопротекторную, антиоксидантную активность препаратов лимонника китайского и индивидуальных веществ, выделенных из него, доказали их положительное влияние на углеводный обмен. Следует отметить, что стимулирующий эффект препаратов лимонника тесно связан с антиоксидантным действием лигнанов, блокирующих процессы свободнорадикального окисления и предотвращающими развитие оксидантного стресса (Zhao et al., 2016; Макиева, 2016).

Лечебный эффект от применения препаратов лимонника китайского распространяется практически на все внутренние органы, что обуславливает использование этих препаратов для лечения широкого спектра заболеваний (Добринина и др., 2016).

Ряд работ посвящен фармакологической оценке различных препаратов лимонника, в частности, подробно изучено действие экстрактов семян лимонника на центральную нервную систему, имеются указания на применение лимонника в психиатрии, указывается на возможность применения плодов лимонника при производстве безалкогольных напитков, в кондитерской и других отраслях пищевой промышленности (Кротова и Ефремов, 1999).

К наиболее распространенным и широко изученным растением относится **эхинацея пурпурная** (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). Она обладает выраженными иммуностимулирующим, противовоспалительным, противовирусным, антибактериальным и антиоксидантным свойствами (Фомченко и др., 2013; Литвинова, 2014; Куркин, 2015). При изучении фитоиммуностимуляторов на рынке Украины установлено, что наиболее многочисленной группой есть группа лекарственных средств на основе эхинацеи (Мищенко та ін., 2017). Мета-анализ клинических исследований подтвердил, что профилактическое применение препаратов эхинацеи пурпурной снижает на 55 % частоту риновирусных инфекций (Литвинова, 2014). Химический анализ растений рода *Echinacea* Moench позволил обнаружить следующие соединения, обладающие фармакологической активностью: полисахариды, в том числе иммуноактивные; флавоны и флавонолы (лютеолин, кемпферол, рутин, кверцетин и др.); производные кофейной кислоты (эхинакозид, цинарин, цикориевая кислота); гликопротеины, включая лектины; алкалоиды; сапонины; алкиламиды ненасыщенных кислот; дубильные вещества пирокатехиновой природы (5 – 11 %); органические кислоты; витамины; эфирные масла (борнеол, борнилацетат, фарнезен); макро- и микроэлементы: кальций, калий, алюминий, магний, хлор, железо, молибден, селен, марганец, серебро и др.; фитостеролы; цианидины; смолы. Наиболее характерный компонент – цикориевая кислота (2,3-О-дикофеилтартаровая кислота) обуславливающая иммуномодулирующую и противовирусную активность (Фармакогнозія..., 2015; Куркин, 2015; Хасина и Фисенко, 2015). Известно, что эхинацея пурпурная богата на сбалансированный по незаменимым аминокислотам белок и способна компенсировать в рационе животных недостаток биологически активных веществ (Фомченко и др., 2013).

Этанольные экстракты свежего растения показали наивысшую активность непосредственно связанную с более высоким содержанием фенольных соединений (229,22 мг эквивалентов галловой кислоты (GAE/мл), флавоноидов (124,83 мг GAE/мл), органических кислот (8,89 г/100 г) и токоферолов (4,55 мг/100 г) (Pires et al., 2016).

Назначение животным с экспериментальным зобом и ортодонтической моделью перемещения зубов предлагаемого комплекса препаратов (йодид калия, эхинацея композитум С, терафлекс), предупреждало развитие воспалительных реакций, повышало антиоксидантную защиту и неспецифическую резистентность организма. Установленные эффекты проявлялись только при поэтапном применении препаратов комплекса и были гораздо менее выражены при монотерапии, что свидетельствует о потенцирующем влиянии препаратов комплекса с эхинацеей (Колесник и др., 2013).

Препараты эхинацеи пурпурной целесообразно применять в профилактической медицине в качестве фармакологического средства для поддержания биоэнергетических процессов на оптимальном уровне и повышения физической работоспособности в условиях экстремального холодого воздействия. Влияние эхинацеи пурпурной на физическую работоспособность при экстремальном действии холода (Хасина и Фисенко, 2015).

К числу природных иммуностимуляторов с увеличением фагоцитарной активности нейтрофилов Т- и В-лимфоцитов, и адаптогенов некоторые авторы относят и продукты пчеловодства (обножка и перга). Такое биологическое действие объясняется в основном их белковым составом и антиоксидантными свойствами. Было установлено на лабораторных животных, что обножка способствует увеличению массы тела и повышает содержание гемоглобина.

Обножка может применяться для восстановления энергетических затрат при спортивных соревнованиях, а также напряженной умственной работе (Касьяненко и др., 2011; Hudz et al., 2017).

В научной медицине в фитопрепаратах иммуностимулирующего и радиопротекторного действия, а также выводящих радионуклиды из организма применяется **лофант анисовый** (*Lophanthus anisatus* Benth.). В надземной части растения содержатся макро- и микроэлементы: магний, кальций, фосфор, азот, железо, цинк, медь, никель, кобальт, свинец, бор, кадмий, флавоноиды (акацетин, менарин агастиходин), а также эфирное масло (Либусь и др., 2004). Эфирное масло лопанта анисового оказывает противовоспалительное, обезболивающее, противосудорожное, противоспазматическое, иммуностимулирующее, радиопротекторное, стимулирующее кроветворение, противомикробное действие. В эфирном масле идентифицированы такие компоненты как метилхавикол (63,5 %), пулегон (15 – 23 %), лимонен (от 2,7 до 5%), ментон (2,3%), изоментон (от 6,4 до 16,3 %), анисовый альдегид (3,0 %), р-метоксикоричный альдегид (2,0 %) и другие терпеноиды (Работягов и Курдюкова, 2008).

Лопант анисовый находит широкое применение в китайской медицине при болезнях желудка и кишечника и в качестве улучшающего пищеварение средства. Настои из цветущей надземной части растения применяют при простуде, болезнях крови и как жаропонижающее средство. В монгольской медицине надземную часть растения употребляют для регулирования обмена веществ, как общеукрепляющее и предупреждающее старение средство (Либусь и др., 2004).

Флавоноиды, имеющиеся в надземной части растения, обуславливают неспецифическую противоопухолевую активность галеновых препаратов лопанта. Галеновые препараты лопанта (чаи, отвары, настои и экстракты) оказывают успокаивающее действие на центральную нервную систему и обладают противосудорожным действием. Настой цветков применяется внутрь и наружно при параличах (в частности лицевого нерва) и невралгиях (Эфиромасличные культуры..., 1998). Тонкий приятный аромат растения хорошо сочетается с фруктовыми салатами и сладкими пудингами. Изысканный аромат приобретают сдобренные

лофантом компоты из слив, алычи, различных сортов яблок, груш и черешни. Растение и его эфирное масло входят в композиции чайных напитков (Кораблева, 2011).

Выводы

Анализ литературных данных показывает, что иммуностропные и адаптогенные свойства растительных средств обусловлены наличием в них фенилпропаноидов и полисахаридов (лимонник китайский, арония Мичурина, эхинацея пурпурная, перга, пчелиная обножка). Способность фитосредств повышать резистентность и выносливость организма есть последствием их антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия, которое характерно для фенольных соединений. Результаты проведенного литературного обзора могут служить обоснованием для разработки новых функциональных диетических продуктов и лекарственных средств с иммуномодулирующими и адаптогенными свойствами на основе рассмотренных нами видов лекарственного растительного сырья и природных продуктов. Нами проводятся исследования по разработке продуктов питания и лекарственных средств с адаптогенным и иммуностимулирующим эффектом на основе сырья Сектора мобилизации и сохранения растительных ресурсов Института риса Национальной аграрной академии наук Украины, Национального Ботанического сада им. Н.Н. Гришко и Института сохранения биоразнообразия и биобезопасности Словацкого аграрного университета в Нитре (Hudz et al., 2017).

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» and within the project ITMS 25 110 320 104. Co-author Nataliia Hudz thanks to the International Visegrad Fund for scholarship and research internships, during which were got the results and knowledge presented in this paper.

Литература

- Asea, A., Kaur, P., Panossian, A., Wikman, K.G. 2013. Evaluation of molecular chaperons Hsp72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts. *Phytomedicine*, vol. 20(14), p. 1323–1329. DOI: [10.1016/j.phymed.2013.07.001](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.07.001).
- Cebulak, T., Oszmiański, J., Kapusta, I., Lachowicz, S. 2017. Effect of UV-C Radiation, Ultra-Sonication Electromagnetic Field and Microwaves on Changes in Polyphenolic Compounds in Chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Molecules*, vol. 22(7), p. 1–16. DOI: [10.3390/molecules22071161](https://doi.org/10.3390/molecules22071161)
- Hudz, N., Ivanova, R., Brindza, J., Grygorieva, O., Schubertová, Z., Ivanišová, E. 2017. Approaches to the determination of antioxidant activity of extracts from bee bread and safflower leaves and flowers. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 11, no. 1, p. 480–488. DOI: <https://dx.doi.org/10.5219/786>
- Oszmianski, J., Sapis, J.C. 1988. Anthocyanins in fruits of *Aronia melanocarpa* (chokeberry). *J. Food Sci.*, vol. 53, p. 1241–1242.
- Pires, C., Martins, N., Carvalho, A.M., Barros, L., Ferreira, I.C. 2016. Phytopharmacologic preparations as predictors of plant bioactivity: A particular approach to *Echinacea purpurea* (L.) Moench antioxidant properties. *Nutrition*, vol. 32(7–8), p. 834–839. DOI: [10.1016/j.nut.2016.01.005](https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.01.005)
- Zhao, X., Liu, C., Xu, M., Li, X., Bi, K., Jia, Y. 2016. Total Lignans of *Schisandra chinensis* Ameliorates Aβ1-42-Induced Neurodegeneration with Cognitive Impairment in Mice and Primary Mouse Neuronal Cells. *PLoS One*, vol. 11, no. 4, p. e0152772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152772>
- Алькевич, Е.Л., Стаценко, Е.А., Трухачева, Т.В. 2015. Антиоксидантная активность адаптогенов, применяемых

- в спортивной практике. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <file:///C:/Users/Acer/AppData/Local/Temp/2013010313493137.pdf>
- Державний реєстр лікарських засобів України. 2017. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.drllz.com.ua/>
- Виноградова, Ю., Куклина, А., Бриндза, Я., Григорьева, О. 2014. *Aronia mitschurinii* A. Skvorts. et Maitul. – плодвое и лекарственное растение. *Zborník výsledkov a príspevkov z riešenia výskumného projektu Podpora inovácie technológií špeciálnych výrobkov biopotravin pre zdravú výživu ľudí ITMS 26220220115*, с. 278–290. ISBN 978-80-552-1272-2.
- Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. 2017. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%BB%D0%B8%D0%BC%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D0%B8%D0%BA>
- Добрин, Ю.В., Мальцева, А.А., Сорокина, А.А., Сливкин, А.И. 2016. Изучение химического и элементного состава листьев лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области. *Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация*, № 1, с. 136–139.
- Доронин, А.Ф., Шендеров, Б.А. 2002. *Функциональное питание*. М.: Грантъ. 296 с.
- Еремеева, Н.Б., Макарова, Н.В., Платонов, И.А. 2016. Антиоксидантная активность экстрактов черноплодной рябины, полученных в надкритических условиях. *Техника и технология пищевых производств*, т. 42, № 3, с.12–18.
- Жукович, Е.Н. и др. 2007. К исследованию биологически активных лигнанов настойки и семян лимонника китайского. *Химико-фармацевтический журнал*, т. 41, №2, с. 35–37.
- Карнаух, Э.В., Неплях, А.В. 2017. Повышение качества жизни студентов – фармакология памяти и адаптивности организма [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://sjes.esrae.ru/pdf/2017/1/399.pdf>
- Колесник, К.А., Деньга, О.В., Макаренко, О.А. 2013. Влияние адаптогенного комплекса на состояние неспецифической резистентности организма при ортодонтическом перемещении зубов на фоне экспериментального зоба [Электронный ресурс]. Режим доступа: [www.csmu.edu.ua/res/200917/Tmbv_2013_16_1\(3\)_23.pdf#page=3&zoom=auto,-13,298](http://www.csmu.edu.ua/res/200917/Tmbv_2013_16_1(3)_23.pdf#page=3&zoom=auto,-13,298)
- Кондакова, В.В., Готовский, Д.Г., Фомченко, И.В. 2016. Применение растительного адаптогена для повышения защитных свойств организма животных. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, вип. 2, № 1, с. 173–181. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vanp_2016_2\(1\)_23](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vanp_2016_2(1)_23)
- Кораблева, О.А. 2011. *Пряности и приправы*. К.: Юнивест Медиа. 196 с.
- Кротова, И.В., Ефремов, А.А. 1999. Исследование химического состава плодов лимонника китайского. *Химия растительного сырья*, № 4, с. 131–133.
- Куркин, В.А. 2015. Фенилпропаноиды как важная группа биологически активных соединений лекарственных растений. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, № 12 (7), с. 1338–1342.
- Лекарственные растения мировой флоры: энциклопед.* 2016. Справочник. Н.В. Попова, В.И. Литвиненко, А.С. Куцанян. Харьков: Діса плюс. 540 с.
- Лекарственные растения: Справ. Пособие* 1991. Под ред. Н.И. Гринкевич. М.: Высш. шк. 398 с.
- Касьяненко, В.И., Дубцова, Е.А., Комиссаренко, И.А. 2011. Лечебное действие пыльцы (обножки) и перги при недостаточности питания, метаболическом синдроме и гепатитах неуточненной этиологии. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, № 11, с. 53–58.
- Либусь, О.К., Работягов, В.Д., Кутько, С.П., Хлыпенко, Л.А. 2004. *Эфирномасличные и пряноароматические растения*. Херсон, «Айлант». 272 с.
- Липкан, Г.Н. 2006. *Витаминные растения в медицине*. Киев: ЧП Балук И.Б. 626 с.
- Литвинова, Е.В. 2014. Клинико-фармакологические аспекты и фармакоэкономика препаратов на основе эхинацеи пурпурной. *Фітотерапія*, № 4, с. 67–71.

- Макиева, М.С. 2016. Фармакотехнологические исследования дерматологических композиций с использованием лимонника китайского семян CO_2 – экстракта: дис. ... канд. фармацев. Наук. Пятигорск. 120 с.
- Мальцева, А.А., Тамилина, И.А., Недосекова, М.А., Тринеева, О.В., Сливкин, А.И., Чистякова, А.С. 2015. Изучение лигнанов в листьях лимонника методом ТСХ. *Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация*, № 1, с. 147–151.
- Мищенко, О.Я., Зайченко, Г.В., Халесова, О.Л., Шаріфов, Х.Ш. 2017. Аналіз асортименту фітостимуляторів на фармацевтичному українському ринку. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: зб. наук. праць дев'ятой наук.-практ. інтернет-конф. Х.* : Вид-во НФаУ, с. 88–93.
- Орловская, Н.Ф., Данькевич, О.С. 2014. Использование аронии черноплодной в современной медицине. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали І Міжнар. наук.-практ. internet-конф. Х.*: НФаУ, с. 125–126.
- Питкевич, Э.С., Крестьянинова, Т.Ю., Деркач, И.Н. 2017. Пути фармакологической коррекции работоспособности в спорте [Электронный ресурс]: Электронные данные. Режим доступа: <http://www.gsmu.by/file/konferen/stress/5/pit.pdf>
- Попков, П.Н. 2015. Получение фитоадаптогенных бальзамов на основе растительного сырья [Электронный ресурс]: Электронные данные. Режим доступа: <https://www.science-education.ru/pdf/2015/1/704.pdf>
- Работягов, В.Д., Курдюкова, О.Н. 2008. Ароматические растения, их эфирные масла и бальзамы. Справочное пособие. Луганск: изд-во «Шико», ООО «Виртуальная реальность». 295 с.
- Семенів, Д.В. 2014. Дослідження гепатопротекторних властивостей субстанцій аронії чорноплідної. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*, № 1, с. 161–165.
- Семенів, Д.В., Белік, Г.В., Куценко, Т.О., Столетов, Ю.В. 2015. Вивчення впливу субстанцій аронії чорноплідної на білковий обмін. *Ukrainian biopharmaceutical Journal*, № 5 (40), с. 37–42.
- Стещенко, О.М., Арсеньєва, Л.Ю., Ройко, О.Ю., Паламарчук, О.П. 2015. Дослідження фенольних сполук рослинних адаптогенів з метою внесення до рецептури функціональних харчових продуктів. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*, т. 17, № 4 (64), с. 130–136.
- Фармакогнозія: базовий підручн. для студ. вищ. фарм. навч. закл. (фарм. ф-тів) IV рівня акредит.* 2015. В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, С.М. Марчишин [та ін.]. Х.: НФаУ: Золоті сторінки. 736 с.
- Фомченко, И.В., Готовский, Д.Г., Кондакова, В.В. 2013. Использование растительного биостимулятора для повышения адаптивных свойств организма животных и птиц. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*, вип. 68, с. 280–285. http://nbuv.gov.ua/UJRN/avpvet_2013_68_55
- Формазюк, В.И. 2003. *Энциклопедия пищевых лекарственных растений: Культурные и дикорастущие растения в практической медицине*. К.: Издательство А.С.К. 792 с.
- Хасина, Э.И., Фисенко, В.М. 2015. Влияние эхинацеи пурпурной на физическую работоспособность при экстремальном действии холода. *Тихоокеанский медицинский журнал*, № 2, с. 55–57.
- Шостак, Т.А., Калинюк, Т.Г., Гудзь, Н.І. 2014а. Застосування рослинних субстанцій в якості активних фармацевтичних інгредієнтів. *Фітотерапія*, № 3, с. 63–65.
- Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учеб. Пособие.* 1999. Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. СПб.: Специальная Литература. 407 с.
- Эфиромасличные культуры и пряноароматические растения для использования в фитотерапии.* 1998. Сост. Работягов В.Д., Бакова Н.Н., Хлыпенко Л.А., Голубева Т.Ф. – Ялта. 82 с.



SLAUGHTER QUALITY OF BROILER-CHICKENS BY PREBIOTIC ACTIGEN USING

Chernikova Ganna*, Prokopenko Nataliia

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ЗАБІЙНІ ЯКОСТІ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ПРЕБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ АКТИГЕН

Чернікова Ганна, Прокопенко Наталія

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 25. 11. 2017

Biologically active agents were proposed like inciter of animals growing and alternative of feed antibiotics and hormonal products. Prebiotic compounds are the most effective, because they have a positive effect on productivity, safety, immunity status, suppression of pathogenic microflora. Prebiotic doesn't have negative consequences. One of the most common prebiotic in Ukraine is Actigen. It is a highly purified, concentrate and specific controlled carbohydrate fraction, which was obtained from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. Actigen adding to broiler combined feed was learned in the poultry farm's conditions. We learned product influence on slaughter quality of broilers. We recommended adding a preparation in large quantity based on the previous research of grain feed quality in the Ukrainian market. Company-developer proposed to use Actigen in quantity 400 g/T during all growing process. We proposed to use following quantity of Actigen in combine feed: starter – 800 g/T, growth 1–600 g/T, growth 2–400 g/T, finish 1–400 g/T, finish 2–300 g/T. According to the results of chicken broilers growing up to 42-day and holding a control, slaughter were receive increasing of preslaughter weight on 183.4 g, or 7.38% ($P \leq 0.05$). Analysis of proceeding broiler chicken meat had shown the most changing of ratio different part the carcass. Received data showed that using of Actigen in proposed quantity for chicken broilers growing more expediency than recommended dosage.

Keywords: prebiotic; broiler-chickens; slaughter; quality; feed

Вступ

На сучасному етапі функціонування галузі птахівництва в Україні питання виробництва якісної і безпечної продукції, зокрема, продуктів забою курчат-бройлерів, вирішується впровадженням інтенсивних технологій, які передбачають застосування сучасних наукових розробок у виробничий процес.

У зв'язку із існуючою у країнах Євросоюзу, а також в Україні заборонаю щодо застосування кормових антибіотиків та гормональних препаратів як стимуляторів росту тварин, в тому числі курчат-бройлерів (Пентилук, 2005, Стегній та Гужвицька, 2005), виникає питання щодо оптимізації їх годівлі й умов утримання. Як альтернатива антибіотикам на сьогодні уже

*Corresponding author: Ganna Chernikova, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ anna-vol@ukr.net

відомі пробіотики, пребіотики, ферментні препарати, мананоолігосахариди, біостимулятори, антиоксиданти, транквілізатори, бактеріостатики тощо (Свеженцов и Коробко, 2004; Околелова и др., 2010; Чернікова та Пономаренко, 2016). Досить ефективними у цьому відношенні визнані про- і пребіотики, які позитивно впливають на продуктивність, збереженість птиці, стимулюють імунітет, пригнічують умовно-патогенну мікрофлору кишечника та не спричиняють негативних наслідків.

Покращання споживання та підвищення ефективності використання кормів, одержання максимальної продуктивності тварин забезпечується високим рівнем збалансованої годівлі з використанням різних кормових добавок. Аналіз спеціальної літератури показав, що на даному етапі розвитку комбікормової промисловості в годівлі тварин застосовується чимало кормових добавок (Поліщук, Білик, Небилиця, 2009)

Пребіотики – це неперетравлювані компоненти корму, які вибірково стимулюють ріст або активність захисної мікрофлори кишковика і поліпшують тим самим здоров'я. Їх призначають для нормалізації мікробіоценозу кишковика в ранній постнатальний період; при лікуванні антибіотиками і сульфаніламідними препаратами; для профілактики дисбактеріозів і інших шлунково-кишкових захворювань; як лікувально-профілактичні засоби для ослабленого організму; при стресових ситуаціях. Один з перших пребіотиків, який був завезений в Україну, є Актиген.

Актиген (Alltech, Inc) – це високоочищена, концентрована, специфічна контрольована фракція вуглеводів, яку отримують з стінки клітин *Saccharomyces cerevisiae*.

Курчата-бройлери сучасних інтенсивних кросів відзначаються високою інтенсивністю росту, особливо у перші тижні життя, збільшуючи початкову живу масу у 3,5 – 5,0 разів, що вимагає надзвичайно ретельного балансування повнораціонних комбікормів за енергією і всіма необхідними елементами живлення та біологічно активними речовинами.

Метою нашого дослідження є вивчення впливу введення препарату Актиген до складу комбікормів для курчат-бройлерів на їх забійні якості.

Матеріали та методи

Дослідження проведені в умовах птахівничого підприємства по вирощуванню курчат-бройлерів. Для дослідів було сформовано дві групи курчат-бройлерів кросу «Росс 308» – дослідна і контрольна по 24 000 гол. Курчатам дослідної групи до раціону вводили препарат Актиген, курчата контрольної групи отримували комбікорм без введення пребіотичного препарату.

Умови утримання і годівлі птиці відповідали існуючим вимогам. Застосовували 5-фазову годівлю птиці, використовуючи раціони: стартерний (з добового до 7-добового віку), ростовий 1 (8 – 15 доба вирощування), ростовий 2 (16 – 25 доба), фінішний 1 (26 – 35 доба), фінішний 2 (з 36 – 42 добу).

Згідно інструкцій компанії-виробника препарат Актиген має вводиться до складу комбікорму з розрахунку 400 г/т. На основі попередньо проведених комплексних досліджень якості кормів зернової групи на українському ринку, нами було рекомендовано збільшення дози вводу Актигену з першої до 15 доби відгодівлі. Тому препарат вводили у дозах, г/т: стартерний комбікорм – 800, ростовий 1 – 600, ростовий 2 – 400, фінішний 1 – 400, фінішний 2 – 300.

Курчат-бройлерів вирощували до 42-добового віку, за результатами вирощування визначали передзабійну живу масу. За результатами контрольного забою курчат-бройлерів (по 3 півники з кожної групи) провели анатомо-морфологічний аналіз тушок бройлерів за загальноприйнятими методиками. Біометричну обробку даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення MS Excel з використання вбудованих статистичних функцій.

Результати та їх обговорення

У результаті досліджень було виявлено вплив введення пребіотичного препарату Актиген до складу комбікормів на показники забою курчат-бройлерів (табл. 1).

Таблиця 1 Забійні якості курчат-бройлерів
Table 1 Slaughter properties of broiler-chickens

Показник	1 група (контроль)	2 група (дослід)
Передзабійна жива маса, г	2 484,9 ±56,82	2 668,3 ±30,02*
Маса тушки, г	1 949,0 ±65,98	2 118,4 ±24,43
Вихід патраної тушки, %	78,44	79,39
Вихід окремих частин тушки:		
Грудні м'язи, г %	580,1 ±20,55 29,76	629,6 ±46,15 29,72
Крила, г %	201,27 10,33	192,6 ±5,84 9,09
Стегно, г %	328,9 ±25,69 16,87	335,4 ±9,70 15,83
Гомілка, г %	273,0 ±5,67 14,00	274,5 ±8,56 12,96
Каркас, г %	555,7 ±53,74 28,51	683,9 ±68,32 32,28

* $P \leq 0.05$

Абсолютні значення показників забою курчат-бройлерів відповідають живій масі, яка була найвищою у курчат дослідної групи. Так, за передзабійною живою масою курчата цієї групи вірогідно ($P < 0,05$) перевищували масу птиці контрольної групи на 183,4 г, або 7,38 %. За показниками маси патраної тушки курчата 2-ї дослідної групи переважали ровесників контрольної групи на 169,4 г, або 8,69 %. При цьому вихід патраної тушки є вищим на 0,95 %.

Встановлено відмінності і за виходом окремих частин тушки. Відзначимо перевагу птиці дослідної групи за масою найбільш цінних частин тушки, але за відносним значенням ця різниця була у межах похибки. За масою грудних м'язів значення у птиці дослідної групи були вищими за ровесників контрольної на 49,5 г, або 8,53 %, маси стегна – на 6,5 г, або 0,97 %, маси гомілок – 1,5 г, або 0,54 %. При порівнянні маси крил значення у птиці дослідної групи були меншими за контрольну на 8,67 г, або 4,31 %. Стосовно виходу каркасу тушки – вищими значення відмічено у птиці дослідної групи – на 128,2 г, або 23,07 %.

Висновки

На основі проведених досліджень щодо вивчення впливу введення пребіотичного препарату Актиген до складу комбікормів для курчат-бройлерів на їх забійні якості встановлено підвищення передзабійної живої маси курчат-бройлерів на 183,4 г, або 7,38 % ($P \leq 0,05$), виходу та маси патраної тушки – на 0,95 % та 169,4 г, або 8,69 %, а також виходу найбільш цінних частин тушки. Отримані дані свідчать про доцільність використання препарату у запропонованих дозах при вирощуванні курчат-бройлерів.

Література

- Околелова, Т.М., Кузнецов, А.С., Савченко, В.С. 2010. Препарат Форми в комбикормах для бройлерів. *Ефективне птахівництво*, № 4, с. 37–39.
- Поліщук, А.А., Білик, О.В., Небилиця, М.С. 2009. Використання Сукраму-810 і Мацерази в раціонах годівлі молодняку свиней. *Вісник Черкаського інституту агропромислового виробництва*, № 9, с. 37–41.
- Пентиліук, С. І. 2005. Сучасні кормові біопрепарати. *Тваринництво України*, № 6, с. 25–26.
- Поліщук, А.А., Білик, О.В., Небилиця, М.С. 2009. Використання Сукраму-810 і Мацерази в раціонах годівлі молодняку свиней. *Вісник Черкаського інституту агропромислового виробництва*, № 9, с. 37–41.
- Свеженцов, А.И., Коробко, В.Н., 2004. *Нетрадиционные кормовые добавки для животных и птицы*. Днепропетровск: Арт-Пресс. 296 с.
- Стегній, Б., Гужвицька, С. 2005. Застосування пробіотиків у тваринництві. *Ветеринарна медицина України*, № 5, с. 39–41.
- Чернікова, Г.Ю., Пономаренко, Н.П. 2016. Використання пребіотиків на основі мананових олігосахаридів у годівлі курчат-бройлерів. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, вип. 2 (90), № 2, с. 155–160.



COMPARATIVE PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF *GEUM URBANUM* L. AND *GEUM MONTANUM* L.

Cherpak Oksana, Cherpak Mikhaylo*

Danilo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

ПОРІВНЯЛЬНЕ ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ *GEUM URBANUM* L. ТА *GEUM MONTANUM* L.

Черпак Оксана, Черпак Михайло

Received 22. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 25. 11. 2017

Perspective to produce of phytopreparations are species of the genus *Geum* L., the family Rosaceae L.: *Geum urbanum* L. *Geum rivale* L., *Geum allepicum* Jacq. and also, a related species – *Geum montanum* L., which sprout in the western region of Ukraine. Phytochemical studies of water, alcohol and water extracts of acidified earth hydrochloric acid (leaves) and underground (rhizomes with roots) of *Geum urbanum* and *Geum montanum* for the presence of basic groups of biologically active substances have been found to contain a significant amount of tannins (hydrolyzed and condensed), insignificant The number of anthocyanins, flavonoids and coumarins in the studied vegetative organs. The phytochemical study of water extracts of the above ground and underground organs and ethanol extracts of underground bodies of *Geum urbanum* and *Geum montanum* has established the content of polyphenolic compounds: oxidized phenols and flavonoids. In extracts of the above ground organs of *Geum montanum* the rock content sum of oxidized phenols is 1.2 times higher than that of *Geum urbanum*. In extracts of underground organs of *Geum montanum* the content of sum of oxidized phenols is 1.3 times higher than that of *Geum urbanum*. In extracts of the above ground organs of *Geum montanum*, the mountain content of flavonoids is 1.2 times higher than that of *Geum urbanum*. Medicinal plant raw materials – above ground organs and underground organs *Geum urbanum* and *Geum montanum* are promising for further research of pharmacological activity and the creation on its basis of new medicinal herbal remedies. The obtained results by chromatography in a thin layer of sorbent indicate the presence of mountain flavonoids, in particular routine and quercetin, in the above ground organs (sheet) of *Geum urbanum* and *Geum montanum*.

Keywords: *Geum urbanum* L.; *Geum montanum* L.; sum of oxidized phenols flavonoids

Вступ

Важливим завданням сучасної фітотерапії є пошук перспективних лікарських рослин з метою створення нових фітопрепаратів. Серед біологічно активних речовин, що містяться у рослинах і мають фармакологічну активність, важливе місце займають поліфенольні сполуки, зокрема, дубильні речовини (таніди), флавоноїди. Це обумовлено в значній мірі їх цінністю для медицини як джерел протизапальних, антибактеріальних, фунгіцидних, антиоксидантних засобів (Гродзінський, 1990; Hassing et al., 2001; Бубенчикова и Дроздова,

*Corresponding author: Mikhaylo Cherpak, Danilo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine, ✉ alexmcherpak@gmail.com

2004; Будников и Зиятдинова, 2005; Жукова и др., 2006). Рід гравілат включає в себе близько 40 видів дикорослих і культивованих багаторічних трав'янистих рослин, які поширені по всій земній кулі. У роді Гравілат, частіше один вид непомітно переходить у другий, завдяки наявності нових біоморфологічних властивостей і, як правило, підвищеної пластичності та гетерозису.

Рослини в багатьох випадках успішно інтродукують в нові райони (Henrickson, 2001; Radyukina et al., 2007). Рослини роду Гравілат (*Geum* L.) належать до родини Розові (Rosaceae Juss.) (Тахтаджян, 1987). Гравілати – багаторічні трав'янисті рослини з прямостоячим стеблом, залежно від виду висотою від 20 – 75 см, з потовщеним, циліндричним і численними шнуровидними коренями, які мають приємний аромат гвоздики (звідси назва «гвоздичний корінь»). Листки зелені, крупні, опушені, ліровидно-перисті зібрані в прикореневу розетку. Стеблові трійчатоопатеві або трійчаторозділені. Квітки правильні, двостатеві, п'ятипелюсткові, переважно жовті, рожеві, червоні, діаметром від 0,5 до 4 см, поодинокі або зібрані у суцвіття щиток або метелку. Рослини цвітуть у травні, липні, навіть у серпні. Можливе повторне цвітіння включно до жовтня. Плід збірний з горішковидних сім'янок з довгим на верхівці загнутим гачковидним носиком. З роду Гравілат в Україні та, зокрема, у її західному регіоні трапляються три види: гравілат міський, гравілат річковий, гравілат алепський (Никитин и Панкова, 1982; Доброчаева, 1999), а також споріднений вид – гравілат гірський (або сіверсія гірська). Перспективними для виробництва фітопрепаратів є види роду *Geum*: гравілат міський, гравілат річковий, гравілат алепський, а також споріднений вид – гравілат гірський (або сіверсія гірська), які зростають у західному регіоні України. За даними літератури серед рослин роду найбільш широко використовується в народній медицині гравілат міський. В той же час, гравілат гірський найменш вивчений вид. Враховуючи перспективність даного напрямку, актуальним є проведення порівняльних фітохімічних досліджень, зокрема, гравілату міського та гравілату гірського.

Метою роботи було порівняльне фітохімічне дослідження екстрактів лікарської рослинної сировини – надземних та підземних органів гравілату гірського та гравілату міського на вміст поліфенольних сполук – суми окиснюваних фенолів (кількісне визначення) та флавоноїдів (ідентифікація та кількісне визначення).

Матеріали та методи

Об'єктами вивчення стали – лікарська рослинна сировина – свіжі і висушені надземні (листя та підземні (кореневища з коренями) органи гравілату міського, зібрані в серпні-вересні у Львівській області та гравілату гірського, зібрані в цей же період на висоті 1 900 м над рівнем моря на горі Піп Іван Чорногірський (Чорна Гора), що розташована на південно-східному кінці головного хребта масиву Чорногора, на межі Івано-Франківської та Закарпатської областей Українських Карпат, а також відвари (водні екстракти) та етанольні (70 %) екстракти підземних (кореневищ з коренями гравілату гірського та гравілату міського) та надземних органів (листя) гравілату міського та гравілату гірського. Виявлення основних груп біологічно активних речовин лікарської рослинної сировини за допомогою якісних реакцій проводять загальноприйнятими методами одержання водних, водно-спиртових та хлористоводневокислих екстрактів. Кількісне визначення поліфенольних сполук ЛРС включало: визначення вмісту суми окиснюваних фенолів – у водних екстрактах та визначення вмісту флавоноїдів – у етанольних екстрактах. Кількісне визначення вмісту суми окиснюваних фенолів у ЛРС – титриметричним методом (Государственная Фармакопея, 1990).

Вміст суми окиснюваних фенолів X , %, в перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25(100 - W)}$$

де: V – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), використаного на титрування витягу, мл; V_1 – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), використаного на титрування в контрольному досліді, мл; K – кількість суми органічних фенолів, що відповідають 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) (в перерахунку на танін): $K = 0,00582$; m – маса сировини, г; W – втрата в масі при висушуванні сировини, %; 250 – загальний об'єм витягу, мл; 25 – об'єм витягу, взятого для титрування, мл

Кількісний вміст флавоноїдів здійснювали вимірюванням оптичної густини утвореного забарвленого комплексу з розчином алюмінію хлориду спектрофотометричним методом (Лобанова и др., 2004). Вміст суми флавоноїдів в перерахунку на кверцетин і абсолютно суху сировину в процентах (X) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{764,6 \cdot m \cdot 2(100 - W)}$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину; 764,6 – відносний показник поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом при довжині хвилі 428 нм; m – маса сировини, г; W – втрата в масі при висушуванні сировини, %

Ідентифікацію флавоноїдів у лікарській рослинній сировині проводили хроматографією у тонкому шарі сорбенту (Беланова и др., 2011):

- ▶ хроматографування проводили на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ»;
- ▶ аналізовані речовини наносили на пластинку у вигляді етанольних розчинів;
- ▶ у якості референтних зрізів застосовували спиртові розчини рутину та кверцетину;
- ▶ нанесений об'єм проби становив: 20 мкл досліджуваних розчинів та по 10 мкл розчинів порівняння;
- ▶ рухому фазу готували шляхом змішування розчинників безпосередньо перед застосуванням. Хроматографічну камеру попередньо насичували парами системи розчинників протягом 30 хв. У якості рухомої фази застосовували систему розчинників етилацетат – оцтова кислота – вода (80:10:10); фронт рухомої фази: 10 см від лінії старту; висушування: в витяжній шафі при кімнатній температурі до видалення слідів розчинників; проявлення: після обробки 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду та подальшим її висушуванням, пластинку проглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм.

Результати та їх обговорення

Результати фітохімічного дослідження представлені в таблиці 1.

Проведеними фітохімічним дослідженням водних, водно-спиртових і водних екстрактах підкислених хлоридною кислотою, листя та кореневища з коренями гравілату міського та гравілату гірського на наявність основних груп біологічно активних речовин встановлено наявність дубильних речовин у всіх досліджуваних органах, антоціанів, флавоноїдів та кумаринів. Не виявлено алкалоїдів, антраценпохідних та серцевих глікозидів.

Результати визначення вмісту окиснюваних фенолів в перерахунку на абсолютно суху сировину в надземних і підземних органах гравілату міського та гравілату гірського наведено у таблиці 2, які свідчать про те, що їх вміст різний, як у надземних, так і у підземних органах і залежить від виду.

Таблиця 1 Результати загального фітохімічного аналізу надземних та підземних органів *Geum urbanum* L. та *Geum montanum* L.
Table 1 Results of general phytochemical analysis of the above-ground and underground organs *Geum urbanum* L. and *Geum montanum* L.

Досліджувані біологічно активні речовини	Лікарська рослинна сировина			
	<i>Geum urbanum</i>		<i>Geum montanum</i>	
	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів
Алкалоїди	–	–	–	–
Антоціани	±	±	±	±
Дубильні речовини	+	+	+	+
Кумарини	±	±	±	±
Сапоніни	–	–	–	–
Серцеві глікозиди	–	–	–	–
Флавоноїди	+	±	+	±

(+) – реакція позитивна; (±) – реакція позитивна (речовини виявлені в незначних кількостях); (–) – реакція негативна (речовини не виявлені)

Таблиця 2 Кількісний вміст суми окиснюваних фенолів та флавоноїдів в надземних та підземних органах *Geum urbanum* L. та *Geum montanum* L.
Table 2 The quantitative content of sum of oxidized phenols and flavonoids in the above ground and underground organs of *Geum urbanum* L. and *Geum montanum* L.

Показник	<i>Geum urbanum</i>		<i>Geum montanum</i>	
	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів
Кількісний вміст окиснюваних фенолів, %, ($\bar{x} \pm \Delta x$)	12,5 ± 0,3	24,8 ± 0,6	14,9 ± 0,3	31,6 ± 0,5
Флавоноїди, % ($\bar{x} \pm \Delta x$)	2,6 ± 0,2	–	3,1 ± 0,2	–

$\bar{x}$ – середнє значення; Δx – абсолютна похибка середнього значення

Проведеним порівняльним фітохімічним дослідженням встановлено, що у екстракті надземних органів гравілату міського вміст окиснюваних фенолів становить 10,5 %, в той час, як їх вміст у екстракті гравілату гірського – 12,6 %, що у 1,2 рази більше. У екстракті підземних органів гравілату міського вміст окиснюваних фенолів становить 24,8 %, а їх вміст у екстракті гравілату гірського – 31,6 %, що майже у 1,3 більше. Дослідження кількісного вмісту флавоноїдів у етанольних екстрактах надземних органах ЛРС показали, що їх вміст у гравілаті міському становить 2,6 %, а у екстракті гравілату гірського – 3,1 %, що майже у 1,2 більше.

Хроматографією у тонкому шарі сорбенту встановлено, що у нижній частині хроматограми в УФ-світлі при довжині 254 нм досліджуваних зразків – спиртових розчинів надземних органів гравілату міського та гравілату гірського виявлена флуоресціююча зона жовтого кольору на рівні зони рутину – $R_f = 0,21 - 0,24$. У верхній частині хроматограми досліджуваних зразків – етанольних розчинів надземних органів гравілату міського та

гравілату гірського виявлена флуоресціююча зона жовто-зеленого кольору на рівні зони кверцетину – $R_f = 0,82 - 0,85$. Одержані дані методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту вказують на наявність у надземній частині (листі) гравілату міського та гравілату гірського флавоноїдів, зокрема рутину та кверцетину.

Таким чином, найбільш цінною танідовмістною сировиною для заготівлі є кореневища з коренями обох видів гравілату.

Висновки

Фітохімічними дослідженнями водних, водно-спиртових і водних екстрактів підкислених хлоридною кислотою надземних (листя) та підземних (кореневища з коренями) органів гравілату міського та гравілату гірського на наявність основних груп біологічно активних речовин встановлено вміст значної кількості дубильних речовин (гідролізованих та конденсованих), незначної кількості антоціанів, флавоноїдів та кумаринів у досліджуваних вегетативних органах. Фітохімічним дослідженням водних екстрактів надземних та підземних органів та етанольних витягів підземних органів гравілату міського та гравілату гірського встановлено вміст поліфенольних сполук: кількісний вміст суми окиснюваних фенолів (танідів), ідентифікацію та кількісний вміст флавоноїдів. Максимальну кількість суми окиснюваних фенолів (танідів) виявлено в підземних органах як гравілату гірського, так і гравілату міського, відповідно, 31,6 і 24,8 %, менше – у надземній частині, відповідно, 14,9 та 12,5 %. У підземних і надземних органах гравілату гірського на 19 – 27 % більший вміст суми окиснюваних фенолів (танідів) по відношенню до гравілату міського, очевидно, пояснюється суворими умовами зростання гравілату гірського. Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст флавоноїдів у надземній частині гравілату міського – 2,6 %, в той час як у гравілату гірського – 3,1 % флавоноїдів. Одержані результати ідентифікації методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту вказують на наявність у надземних органах (листі) гравілату міського та гравілату гірського флавоноїдів, зокрема рутину та кверцетину. Лікарська рослинна сировина – надземні та підземні органи гравілату міського та гравілату гірського є перспективною для подальшого дослідження фармакологічної активності та створення на її основі нових лікарських фітозасобів.

Література

- Hassing, A., Liang, W., Schwabl, R., Stampfli, K. 2001. Flavonoids and tannins: Plant-based antioxidants with vitamin character. *Med. Hypothese*, vol. 52, no. 5, p. 479–481.
- Henrickson, J. 2001. Systematics and relationships of Fallugia (Rosaceae). *Aliso*, vol. 20, no. 1, p. 1–15.
- Radyukina, N., Ivanov, Yu., Kartashov, A. 2007. Inducible and constitutive mechanisms of salt stress resistance in *Geum urbanum* L. *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 54, no. 5, p. 612–618.
- Беланова, Н., Карпов, С., Селеменев, С. 2011. Оптимизация разделения некоторых флавоноидов методом ТСХ. *Сорбционные и хроматографические процессы*, т. 11, вып. 6, с. 905–912.
- Бубенчикова, В., Дроздова, И. 2004. Изучение состава фенольных соединений донника лекарственного методом ВЭЖХ. *Хим. фарм. журн.*, т. 38, № 4, с. 24–25.
- Будников, Г., Зиятдинова, Г. 2005. Антиоксиданты как объекты биоаналитической химии. *Журнал аналитической химии*, т. 60, № 7, с. 678–691.
- Гродзінський, А. 1990. *Лікарські рослини: енциклопедичний довідник*. К.: Головна редакція української радянської енциклопедії ім. М.П. Бажана, 543 с.
- Государственная Фармакопея СССР/МОЗ СССР, XI издания. 1990. Москва: Медицина, вып. 2. 400 с.
- Доброчаева, Д., Котов, М., Прокудин Ю. 1999. *Определитель высших растений Украины*. [2-е изд-е стереот.], К.: Фитосоциоцентр, 548 с.

- Жукова, О., Абрамов, А., Даргаева, Т., Маркарян, А. 2006. Изучение фенольного состава подземных органов сабель-ника болотного. *Вестн. Московск. ун-та. Сер. 2. Химия*, 2006, т. 47, № 5, с. 342–345.
- Лобанова, А., Будаева, В., Сакович, Г. 2004. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья. *Химия растительного сырья*, №1, с. 47–52.
- Никитин, А., Панкова, И. 1982. *Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений*. Л.: Наука, 768 с.
- Тахтаджян, А. *Система магнолиофитов*. Л.: Наука, 1987, 439 с.



INHIBITION OF PROTEOLYSIS IN PLANT AND ANIMAL TISSUES

Chirkin Aliaksandr*, Dolmatova Viktoryia

Vitebsk State University named after P.M. Masherova, Vitebsk, Belarus

ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОТЕОЛИЗА В РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ ТКАНЯХ

Чиркин Александр, Долматова Виктория

Received 23. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 25. 11. 2017

The aim of the study was a comparative analysis of the alpha-1-antitrypsin and the alpha-2-macroglobulin content in 6-day seedlings *Phaseolus vulgaris* L. and hepatopancreas *Lymnaea stagnalis* L and *Planorbarius corneus* L. Quantification of proteinase inhibitors (α 1-antiprotease inhibitor and α 2-macroglobulin) was performed according to a method based on BAPNA-amidase reaction at pH values of incubation media of 3.0; 3.8; 6.1; 7.2; 8.0 and 9.0. It has been found that *Phaseolus vulgaris* cotyledons contain more alpha-1-antiprotease inhibitors that work in acidic, neutral and alkaline media compared to similar inhibitors of molluscs hepatopancreas. At pH 3.8, the content of alpha-2-macroglobulin in the cotyledons of *Phaseolus vulgaris* is 8 times higher than the levels of this inhibitor in the hepatopancreas of molluscs. The sites of ethionine binding with human trypsin and pulmonary freshwater molluscs are located in close loci at the C-ends of the enzyme molecules, which allows to consider these animals as potential model organisms for biopharmaceutical studies of the proteolysis-antiproteolysis system.

Keywords: proteolysis; antiproteolysis; amidase reaction; docking; *Phaseolus vulgaris*; *Lymnaea stagnalis*; *Planorbarius corneus*

Введение

Группу белков, имеющих определённое структурное сходство между собой и способных ингибировать сериновые протеазы называют серпинами. В 2001 году была опубликована классификация серпинов, по которой 500 белков, отнесённых к серпинам, были разделены на 16 кладов (Silverman et al., 2001). Для диагностики патологий удобно выделять ингибиторы сериновых протеаз (альфа-антитрипсин, альфа-антихимотрипсин, антитромбин и др.), а также связывающие глобулины и другие белки (транскортин, овальбумин, альфа-2-макроглобулин и др.). Белки суперсемейства серпинов участвуют в важных биологических процессах: в стресс-реакции, свертывании крови, активации комплемента, фибринолизе, ангиогенезе, воспалении, подавлении роста опухолей, в механизмах запрограммированной гибели клеток и постэмбриональном развитии. Серпины построены из 350 – 400 аминокислот. С-терминальный адресный код, предназначенный для ассоциации с секреторными органеллами, присутствует, например, во всех ортологах нейросерпинов.

*Corresponding author: Aliaksandr Chirkin, Vitebsk State University named after P.M. Masherova, Vitebsk, Belarus, ✉ chir@tut.by

Следовательно, контроль серпинами за маршрутами эндоцитоза и экзоцитоза является древним способом защиты основных внутриклеточных путей экспорта и импорта от неконтролируемой эндогенной или чужеродной протеолитической активности (Van Gent D. et al., 2003; Pak et al., 2004; Kumar and Ragg, 2008). Серпины найдены у разных видов царства растений и в зеленых водорослях. Такой контроль протеолиза важен для роста растений, развития, реакции на стресс и защиты от насекомых и патогенов. Серпины растений являются мощными ингибиторами сериновых протеаз млекопитающих семейств трипсинов и химотрипсинов *in vitro* (Roberts and Hejgaard, 2008).

Большинство серпинов необратимо инактивируют специфические сериновые протеазы. Процесс взаимодействия ингибитора и целевой протеазы быстрый, поэтому нативная структура серпинов метастабильная. Серпиновые гены обнаружены у ряда бактерий, архей и одноклеточных эукариот (зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii*, динофлагеллят *Alexandrium tamarense* и человеческие патогены *Entamoeba* spp., *Eimeria tenella*, *Toxoplasma gondii* и *Giardia lamblia*). Филогенетическая изменчивость серпинов у одноклеточных организмов проявляется в области петли активного центра ингибиторов, важной для их специфичности (Roberts et al., 2004). По механизму действия различают три основных типа ингибиторов: канонические (стандартный механизм), неканонические и серпины. Канонические ингибиторы связываются с ферментом через открытую выпуклую петлю связывания, которая комплементарна активному центру целевого фермента. Неканонические ингибиторы взаимодействуют через их N-концевой сегмент. Существуют также обширные вторичные взаимодействия за пределами активного центра, что в значительной степени способствует силе, скорости и специфике распознавания. Серпины, подобно каноническим ингибиторам, взаимодействуют с их целевыми протеазами подобно субстратам. В результате разрыва даже одной пептидной связи в целевой молекуле связывания возникают существенные конформационные изменения, нарушающие ее функциональную активность (Krowarsch et al., 2003).

Филогенетический анализ показал, что серпины, вероятно, возникли у обитателей кембрийских морей (полипы, медузы, гребневики и черви) около 1 000 миллионов лет назад, что подтверждается сходством аминокислотных последовательностей ингибиторов сериновых протеаз у медузы волосистая цианея (*Cyanea capillata*) и нематоды – возбудителя эхинококкоза у некоторых наземных млекопитающих и человека (*Echinococcus multilocularis*). Ингибитор сериновых протеаз медуз - jellyrin подавлял активность химотрипсина, катепсина G и эластазы человека каноническим способом, образуя стабильный комплекс фермент-ингибитор (Hou et al., 2003; Cole et al., 2004). Широко распространенным компонентом, участвующим в защите клеток и тканей от патогенов, является альфа-2-макроглобулин (альфа-2МГ), который функционирует как протеазосвязывающий белок широкого спектра без прямой блокировки активного центра протеазы. Этот белок регулирует также связывание трансферрина с его поверхностным рецептором, связывает несколько важных цитокинов, ряд гормонов, цинк и медь. Связанная с альфа-2МГ протеаза интернализуется и деградирует во вторичных лизосомах клеток. Предполагают, что альфа-2-МГ появился и распространился среди многоклеточных организмов способом горизонтального переноса генов. Большинство бактерий с генами альфа-2МГ используют многоклеточные растения и животных в качестве хозяев (эффект колонизации) (Armstrong and Quigley, 1999; Budd et al., 2004; Rehman et al., 2013).

Секреция сериновых протеаз различными фитопатогенными микроорганизмами вызывает изменения в системе протеолиз-антипротеолиз атакуемого растения. Показано, что фитопатогены картофеля оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary и грибы *Rhizoctonia solani* и *Fusarium culmorum* секретируют сериновые протеазы трипсино- и субтилизиноподобного действия (Кудрявцева и др., 2013). Растения производят множество белков (пептидов), которые участвуют в защите от патогенов, в частности, ингибиторы, которые

могут ингибировать аспарагиновые, сериновые и цистеиновые протеиназы. Повышенные уровни ингибиторов трипсина и химотрипсина коррелируют с устойчивостью растений к патогену (Kim et al., 2009). Первым одобренным биофармацевтическим белком, полученным из растительных клеток, явилась лизосомальная кислая бета-глюкоцеребозидаза, фермент человека, который используется в энзиматической терапии пациентов с болезнью Гоше.

Однако, технологии рекомбинантных ДНК растительных клеток в создании белковых препаратов для человека сталкиваются с проблемой протеолиза. Были протестированы различные стратегии для уменьшения нежелательного протеолиза рекомбинантных белков в растительных клетках, таких как совместная экспрессия ингибиторов протеазы вместе с целевым белком и подавление экспрессии генов протеаз, позволяют увеличить выход белка пока всего в 2 раза (Mandal et al., 2016).

Целью работы был сравнительный анализ содержания альфа-1-антитрипсина и альфа-2-макроглобулина в тканях проростков обыкновенной фасоли и легочных пресноводных моллюсков.

Материалы и методы

Семена фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) проращивали в присутствии H₂O и семядоли собирали через 6 дней согласно Karmous et al. (2012). Семядоли гомогенизировали в ступке при 4 °C в четыре раза превышающем свежую массу объема воды. Гомогенат центрифугировали в течение 30 мин при 20 000 × g и супернатант использовали для измерения содержания ингибиторов протеаз. Аналогичным образом готовили гомогенаты тканей гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков – прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis* L) и катушки роговой (*Planorbarius corneus* L), отличающихся по типу транспорта кислорода. Первый из них признан модельным организмом для исследования действия водорастворимых химических агентов в ЕЭС в 2010 году. Разработаны детальные требования к проведению строго контролируемых исследований в течение всей или части жизни моллюска (Series on Testing and Assessment. No. 121. Detailed review paper on molluscs life-cycle toxicity testing. JT03284405. Environment Directorate. Paris 2010). В работе использованы N-α-бензоил-D,L-аргинин паранитроанилид (БАПНА; 3 ммоль/л), трипсин (1,7 мкмоль/л), ингибитор трипсина (0,42 мкмоль/л) фирмы Fluka. Определение содержания ингибиторов протеаз (α1-антипротеазного ингибитора и α2-макроглобулина) проводили по методу, основанному на БАПНА-амидазной реакции при значениях pH инкубационных сред 3,0; 3,8; 6,1; 7,2; 8,0 и 9,0. Содержание определяемых ингибиторов протеаз выражали в г/кг свежей ткани (Karmous et al., 2012; Чиркин и др., 2012).

Представлял интерес поиск общих мишеней для действия антиметаболита этионина на протеолитические ферменты человека и модельного организма. Для этой цели был произведен сравнительный анализ *Biomphalaria glabrata* и *Planorbarius corneus*, поскольку они относятся к одному семейству брюхоногих моллюсков (Planorbidae) из отряда лёгочных моллюсков (*Pulmonata*). На сайте National Center for Biotechnology Information в разделе «Nucleotide» была найдена аминокислотная последовательность белка трипсина *Biomphalaria glabrata* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/908461094/>), которая при парном выравнивании с аминокислотной последовательностью белка трипсина человека (PDB ID 1H4W) давала наибольший процент сходства (26,67 %). Для проведения молекулярного докинга (соответствия) необходимо наличие 3D структуры белка, для получения которой был использован сервер www.swissmodel.expasy.org. Проведено моделирование по образцу (User Template Mode) с использованием в качестве шаблона структуры белка трипсина человека. Две структуры белка трипсина (*Homo sapiens* и *Biomphalaria glabrata*) были загружены на сервер молекулярного докинга www.dockingserver.com. В качестве лиганда в докинге был использован этионин ((L)-Ethionine).

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования содержания ингибиторов протеаз в тканях семян фасоли обыкновенной и гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков представлены в таблице 1.

Таблица 1 Зависимость содержания ингибиторов протеаз (г/кг) в тканях фасоли и гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков от величины pH инкубационной среды

Table 1 Dependence of the content of protease inhibitors (g/kg) in the tissues of kidney beans and hepatopancreas of pulmonary freshwater molluscs on the pH value of the incubation medium

pH	Альфа-1-антипротеазный ингибитор			Альфа-2-макроглобулин		
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Lymnaea stagnalis</i>	<i>Planorbarius corneus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Lymnaea stagnalis</i>	<i>Planorbarius corneus</i>
3,0	9,19 ±2,43	0,97 ±0,11*	3,06 ±0,59*	14,4 ±6,33	22,8 ±3,70	20,1 ±3,80
3,8	7,94 ±0,97	9,84 ±0,16	9,82 ±0,17	73,3 ±3,91	9,92 ±0,11*	8,65 ±1,02*
6,1	1,45 ±0,06	0,36 ±0,08*	0,22 ±0,11*	4,98 ±0,11	5,99 ±0,52	6,10 ±0,58
7,2	1,65 ±0,12	0,75 ±0,14*	0,19 ±0,14*	5,66 ±0,10	5,84 ±0,59	5,83 ±0,49
8,0	0,40 ±0,06	1,04 ±0,17*	0,59 ±0,27	6,20 ±0,35	5,44 ±0,21	5,98 ±0,43
9,0	1,07 ±0,07	0,47 ±0,05*	0,31 ±0,11*	5,26 ±0,15	5,89 ±0,03	5,85 ±0,58

* $P < 0,05$ при сравнении показателей моллюсков с аналогичными показателями фасоли при одинаковом значении pH

Из анализа данных таблицы следует, что в семенах фасоли обыкновенной содержится больше альфа-1-антипротеазных ингибиторов, работающих в кислой, нейтральной и щелочной среде по сравнению с аналогичными ингибиторами легочных пресноводных моллюсков. При pH 8,0 количество альфа-1-протеазного ингибитора оказалось повышенным только в гепатопанкреасе *Lymnaea stagnalis*, а при pH 3,8 были выявлены одинаковые уровни этих ингибиторов во всех исследуемых тканях.

В то же время содержание альфа-2-макроглобулина в семенах фасоли обыкновенной в 8 раз превышало уровни этого ингибитора в гепатопанкреасе моллюсков. Известно, что при среднем содержании белка в семенах фасоли 240 г/кг из них можно получить примерно 200 мг ингибиторов протеаз в виде 14 полипептидов.

В предварительных опытах было показано, что после введения моллюскам антиметаболита метионина – этионина наблюдается уменьшение уровня белков в гепатопанкреасе и гемолимфе с последующей активацией ингибиторов протеолиза. Такой эффект позволяет рассматривать легочных пресноводных моллюсков как модельных животных для биофармацевтических исследований потенциальных препаратов, в том числе растительного происхождения. При сравнении результатов 2-х докингов между собой было выяснено, что 6 аминокислот у *Homo sapiens* и у *Biomphalaria glabrata* связываются с этионином. Аминокислоты для *Homo sapiens*: Asp 189, Ser 190, Gln 192, Ser 195, Val 213, Cys 220. Аминокислоты для *Biomphalaria glabrata*: Asp 224, Ser 225, Gln 227, Ser 230, Val 248, Cys 254. Таким образом, места связывания этионина с протеолитическими ферментами человека и легочных пресноводных моллюсков располагаются в близких локусах на С-концах молекул ферментов, что позволяет рассматривать этих животных в качестве потенциальных

модельных организмов для биофармацевтических исследований системы протеолиз-антипротеолиз.

Выводы

В шестисуточных семядолях фасоли обыкновенной содержится больше серпинов, чем в гепатопанкреасе легочных пресноводных моллюсков. Введение моллюскам антиметаболита метионина – этионина вызывает уменьшение уровня белков в гепатопанкреасе и гемолимфе с последующей активацией ингибиторов протеолиза. Места связывания этионина с трипсинами человека и легочных пресноводных моллюсков располагаются в аналогичных локусах молекул ферментов, что позволяет рассматривать *Lymnaea stagnalis* L and *Planorbarius corneus* L в качестве потенциальных модельных организмов для биофармацевтических исследований системы протеолиз-антипротеолиз.

Литература

- Armstrong, P.B., Quigley, J.P. 1999. Alpha2-macroglobulin: an evolutionarily conserved arm of the innate immune system. *Dev. Comp. Immunol.*, vol. 23, no. 4–5, p. 375–390. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(99\)00018-x](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(99)00018-x)
- Budd, A.1., Blandin, S., Levashina, E.A., Gibson, T.J. (2004). Bacterial alpha2-macroglobulins: colonization factors acquired by horizontal gene transfer from the metazoan genome? *Genome Biol.*, vol. 5, no. 6, R38. DOI: 10.1186/gb-2004-5-6-r38.
- Cole, E.B., Miller, D., Rometo, D., et al. 2004. Identification and activity of a lower eukaryotic serine proteinase inhibitor (serpin) from *Cyanea capillata*: analysis of a jellyfish serpin, jellypin. *Biochemistry*, vol. 43, no. 37, p. 11750–11759. DOI:10.1021/bi049020u
- Hou, X-G., Aldridge, R.J., Bengstrom, J., Siveter, D.J., Feng, X-H. 2003. *The Cambrian Fossils of Chengjiang, China: The Flowering of Early Animal Life*. Wiley-Blackwell, 248 p. ISBN 978-1-4051-0673-3.
- Karmous, I., Jaouani Khadija, J., Chaoui, A., Ferjani, E.E.I. 2012. Proteolytic activities in *Phaseolus vulgaris* cotyledons under copper stress. *Physiol. Mol. Biol. Plants.*, vol. 18, no. 4, p. 337–343. DOI:10.1007/s12298-012-0128-4
- Kim, J.-Y., Park, S.-C., Hwang, I., et al. 2009. Protease Inhibitors from Plants with Antimicrobial Activity. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 10, no. 6, p. 2860–2872. DOI: 10.3390/ijms10062860
- Krowarsch, D., Cierpicki, T., Jelen, F., Otlewski J. 2003. Canonical protein inhibitors of serine proteases. *Cell Mol. Life Sci.*, vol. 60, no.11, p. 2427–2444. DOI:10.1007/s00018-003-3120-x
- Kumar, A., Ragg, H. 2008. Ancestry and evolution of a secretory pathway serpin. *BMC Evol. Biol.*, vol. 8, p. 250. Published online 2008 Sep 15. DOI: 10.1186/1471-2148-8-250
- Mandal, M.K., Ahvari, H., Schillberg, S., Schiermeyer, A. 2016. Tackling Unwanted Proteolysis in Plant Production Hosts Used for Molecular Farming. *Front. Plant Sci.*, vol. 7, p. 267. DOI: 10.3389/fpls.2016.00267.
- Pak, S.C., Kumar, V., Tsu, C., et al. 2004. SRP-2 is a cross-class inhibitor that participates in postembryonic development of the nematode *Caenorhabditis elegans*: initial characterization of the clade L serpins. *J. Biol. Chem.*, vol. 279, no. 15, p. 15448–15459. DOI:10.1074/jbc.M400261200
- Rehman, A.A., Ahsan H., Khan, F.H. 2013. Alpha-2-macroglobulin: A physiological guardian. *J. Cell Physiol.*, vol. 228, no. 8, p.1665–1675. DOI: 10.1002/jcp.24266.
- Roberts, T.H., Hejgaard, J., Saunders, N.F.W. et al. 2004. Serpins in unicellular Eukarya, Archaea, and Bacteria: sequence analysis and evolution. *J. Mol. Evol.*, vol. 59, p. 437–447. DOI:10.1007/s00239-004-2635-6.
- Roberts, T.H., Hejgaard, J. 2008. Serpins in plants and green algae. *Funct. Integr. Genomics*, vol. 8, no. 1, p. 1–27. [https://DOI.org/10.1016/S1357-2725\(03\)00134-1](https://DOI.org/10.1016/S1357-2725(03)00134-1)

- Silverman, G.A., Bird, P.I., Carrell, R.W. et al. 2001. The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. *J. Biol. Chem.*, vol. 276, p. 33293–332966. DOI: [10.1074/jbc.R100016200](https://doi.org/10.1074/jbc.R100016200)
- Van Gent, D., Sharp, P., Morgan, K., Kalsheker, N. 2003. Serpins: structure, function and molecular evolution. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 35, no. 11. p. 1536–1547. [https://DOI.org/10.1016/S1357-2725\(03\)00134-1](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(03)00134-1)
- Кудрявцева, Н.Н., Софьин, А.В., Ревина, Т.А. и др. 2013. Секреция протеолитических ферментов тремя фитопатогенными микроорганизмами. *Прикладная биохимия и микробиология*, т. 59, № 5, с. 513–518. DOI: [10.7868/S0555109913050073](https://doi.org/10.7868/S0555109913050073)
- Чиркин, А.А., Данченко, Е.О., Бокуть, С.Б. 2012. *Биохимия филогенеза и онтогенеза*. Новое Знание Минск, 288 с. ISBN 978-985-475-506-9.



USE OF THE VARIOUS METHODS OF REPRODUCTION *VERBENA TRIPHYLLA* L'HER. AT INTRODUCTION IN THE CLIMATE CONDITIONS OF MOLDOVA

Chisnicean Lilia*, Rosca Nina

Institute of Genetics, Physiology and Protection of Plants of the Academy of Sciences of the Republic of Moldova, Chisinau

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗНООБРАЗНЫХ МЕТОДОВ РАЗМНОЖЕНИЯ ВИДА *VERBENA TRIPHYLLA* L'HER. ПРИ ИНТРОДУКЦИИ В КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ МОЛДОВЫ

Кисничан Лилия, Рошка Нина

Received 23. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 25. 11. 2017

The research is devoted to the identification of the most effective, inexpensive and easy-to-use methods of reproduction, with the introduction of the species *Verbena triphylla* L'Hér in the climatic conditions of Moldova. Vegetative reproduction is necessary, since plants *Verbena triphylla* for four years of observation have been reached the flowering phase, but haven't formed viable seeds. The method of vegetative propagation used is a sanitation (restoration of viability of age plants) of the apical parts of the stems, and similar to that, used for peppermint-patent MD517 Z 2013.01.31, BOPI No. 6/20/12 (1). Earlier, with the acquisition of the original specimen of this species, a vegetative propagation method was successfully undertaken-by rooting of green and lignified cuttings. The method is effective, but it is necessary to have a large volume of initial material, that is preserved in winter "living" plants. The new method of sanitation allows with a small number of healthy plants preserved in the cold period to obtain in a short time a rather large volume of high-quality, healthy, and inexpensive rooted plants of the *Verbena triphylla* species. Plants multiplied by this method grow well and develop in the open ground, reach the flowering stage, forming abundant foliage.

Keywords: *Verbena*; methods; multiplication; rooting; cuttings; substrate

Введение

Verbena triphylla L'Hér – вид, который благодаря своему химическому составу, обладает особыми свойствами - лекарственными, ароматизирующими, декоративными, имея широкое применение в различных областях. Эфирное масло имеет приятный насыщенный лимонный запах с цветочно-фруктовыми нотами. Листья содержат до 0,9 % эфирного масла, основные компоненты которого – цитраль, лимонен, гераниол, транс-оцимен, бета кариофиллен, гермакрен D, флавоноиды в основном, флавоны (slavigénine, eupafoline, hispiduline, некоторые сесквитерпены (Bellakhdairetall, 1994; Özec et al., 2011). Эфирное масло *Verbena triphylla*

*Corresponding author: Lilia Chisnicean, Institute of Genetics, Physiology and Protection of Plants of the Academy of Sciences of the Republic of Moldova, Chisinau

✉ chisniceanL@mail.ru

стимулирует пищеварение, обладает спазмолитическим действием и полезно при всех нарушениях пищеварения, а также при застойных явлениях в печени (Santoro et al., 2008). Регенерирует ткани после ушибов, гематом, растяжений, переломов (Funes et al., 2011; Carrera-Quintanar et al., 2012).

Некоторые исследования выделили и противогрибковый эффект препаратов из *Verbena triphylla* (Duarte et al., 2005). Экстракты *Verbena triphylla* оптимизируют мыслительную продуктивность, особенно творческие и логические стороны мышления, помогают сконцентрировать внимание (Вергунова и др., 2015). Вербенозиды и вербаскозиды из *Verbena triphylla* тонизируют и стабилизируют нервную систему, хорошо помогают при головокружении, сердцебиении и истерии. Препятствуют спазмированию сосудов головного мозга, улучшает микроциркуляцию (Funes et al., 2011). Сырье *Verbena triphylla* используют в качестве отваров, настоев, чаев (Carnat et al., 1999). Такие препараты являются натуральным средством для нормализации пищевых процессов в кишечнике (Roberts, 2000).

Материалы и методы

В конце предыдущего периода вегетации, были отобраны лучшие по фенотипическим признакам материнские растения, пересажены в горшки большого объема, в специальный (коммерческий) питательный грунт. В качестве исходного материала при размножении *Verbena triphylla* методом санации, были использованы верхушечные части побегов, зеленые и слегка одревесневшие, сохраненных зимой растений, при положительных температурах.

В качестве среды для укоренения была использована вода с нейтральной средой – pH (6,5 – 7,0), стеклянные лабораторные пробирки, помещенные в штатив и полистереновые колечки для поддержки черенков на поверхности воды, при укоренении. Апикальные стебельки, с 2 – 3 настоящими листочками, длиной 3 – 4 см, взятые для укоренения срезались с материнских растений острыми ножницами, помещали временно в 1 % раствор KMnO_4 .

Дальнейшая обработка состояла в подготовке черенка – удаление последней пары листочков, срезание нижнего кончика верхушечного стебелька при помощи медицинского скальпеля, надевание полистеренового колечка, установка его в заранее подготовленную пробирку для укоренения, на свету, при температуре 20 – 22 °C.

При необходимости проводили подлив воды в пробирки с черенками, отстоявшейся теплой водой. Проводили укоренение в три периода, (по 22 дня каждый), до получения необходимого объема укорененных черенков. Метод позволяет получить от 25 до 56 укорененных черенков с одного материнского растения в сравнительно короткие сроки.

Результаты и их обсуждение

Разнообразные возможности использования данного вида послужили поводом для поиска различных методов размножения и интродукции её в климатические условия нашей республики.

Первоначально, при интродукции *Verbena triphylla*, для размножения, был успешно использован метод черенкования зеленых и одревесневших веточек. Метод хорош, но требует большего объема посадочного материала, чем при санации. Кроме этого, необходим качественный питательный грунт, больше тепличных площадей, что увеличивает конечную цену укорененных черенков.

Используемый нами новый метод санации по подобию размножения (возобновления) мяты перечной (Musteață and Roșca, 2013), более простой и сравнительно недорогой. На протяжении всех трех периодов укоренения черенков, лучшие результаты (99 % укоренения) получены при использовании зеленых апикальных черенков размером 3 – 4 см (рис. 1А) в сравнении со слегка одревесневшими (94 %) (рис. 1 В).

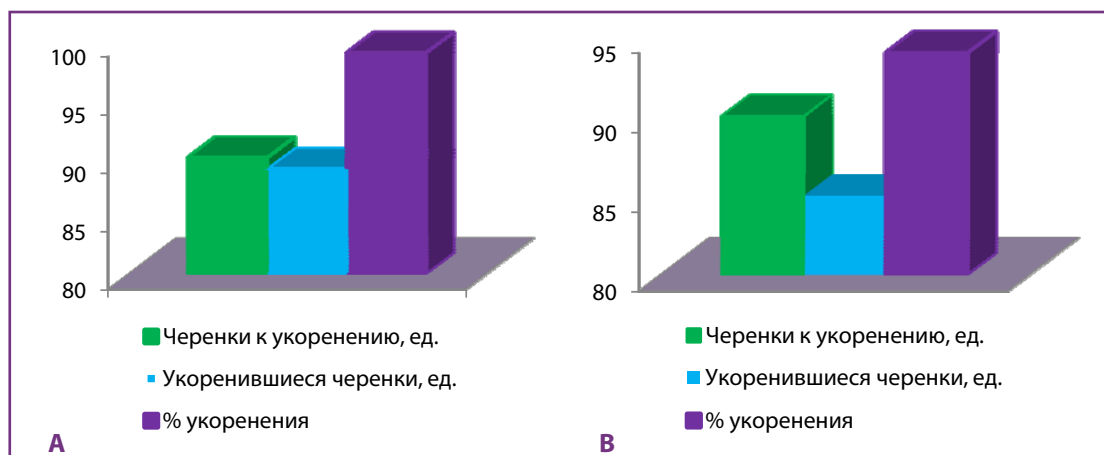


Рисунок 1 Результаты укоренения зеленых и слегка одревесневших апикальных черенков у *Verbena triphylla* L'Hér

А – зеленые черенки; В – одревесневшие черенки

Figure 1 The results of rooting of green and slightly lignified apical cuttings of *Verbena triphylla* L'Hér

А – green cuttings; В – lignified cuttings

На укорененных черенках через 15 – 17 дней появляются белые корешки, которые развиваются очень быстро. Корешок развивается по аналогии с корешками у растений *Verbena triphylla*, полученных из семян – один центральный длинный и четыре меньших (рис. 2), причем одинаково у всех полученных растений.



Рисунок 2 Укорененные черенки *Verbena triphylla* L'Hér

Figure 2 Rooted cuttings of *Verbena triphylla* L'Hér

Было замечено, что стебельки у всех видов черенков (зеленых или слегка одревесневших) в конце периода укоренения, утолщаются, удлиняются и одревесневают.

Данный этап онтогенетического развития черенков является оптимальным для пересадки молодых укоренившихся черенков в пластиковые кассеты на доращивание до высадки в открытый грунт. Соблюдение периода высадки, важный момент – его затягивание приводит

к перерастанию и повреждению корешков, а растения с недоразвитой корневой системой плохо растут или вовсе погибают.

Рост маленьких растений начинался примерно через двое суток после своевременной высадки укорененных черенков в кассеты с питательным грунтом. Растения усиленно развивались, достигая стандартных для рассады размеров, в течение 35 – 40 дней. В этот же период осуществляли её закаливание и высадку в открытый грунт для развития и формирования листвы, которая является лекарственным и пряно-ароматическим сырьем у данного вида. Все растения (выросшие укорененные черенки) посаженные в открытый грунт, хорошо прижились.

Выводы

Размножение *Verbena triphylla* методом санации позволяет получить в короткие сроки необходимое количество (стандартных подобно рассаде овощных культур) укорененных черенков. Полученный посадочный материал сравнительно недорогой, здоровый, легко приживается как в теплице, так и в открытом грунте. Использование метода санации позволяет получить достаточно большой объем посадочного материала в короткие сроки, в различные временные отрезки периода вегетации.

Литература

- Bellakhdar, J., Salvador Canigual, A.I.I., Iglesia, J., Vila, R. 1994, Composition of Lemon Verbena (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) Oil of Moroccan Origin. *Journal of Essential Oil Research* (Impact Factor: 0.82); 6, p. 523–526. DOI: [10.1080/10412905.1994.9698440](https://doi.org/10.1080/10412905.1994.9698440)
- Carnat, A., Carnat, A.P., Fraisse, D., Lamaison, J.L. 1999. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*, vol. 70, no. 1, p. 44–49.
- Carrera-Quintanar, L., Funes, E., Viudes, J., Tur, V., Micol, E., Roche, E., Pons, A. 2012. Antioxidant effect of lemon verbena extracts in lymphocytes of university students performing aerobic training program, *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, vol. 22, no. 4, p. 454–46. DOI: [10.1111/j.100-0838](https://doi.org/10.1111/j.100-0838)
- Duarte, M.C., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L., Delarmelina, C. 2005. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Jurnal ethnopharmacology*, vol. 97, no. 2, p. 305–311. DOI: [10.1016/j.jep.2004.11.016](https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.016).
- Funes, L., Carrera-Quintanar, L., Cerdán-Calero, M., Ferrer, MD., Drobic, F., Pons, A., Roche, E., Micol, V. 2011. Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise. *EUR J Appl Physiology*, vol. 111, no. 4, p. 695–705. DOI: [10.1007/s00421010](https://doi.org/10.1007/s00421010).
- Musteată, G. Roșca, N., 2013. *Procedeu de obținere a materialului săditor de mentă (Mentha piperita L.) de pe plantația supusă degenerării*: Brevet de invenție de scurtă durată. (MD 517 Z 2013.01.31). Data publicării hotărârii de acordare a brevetului 2012.06.30. BOPI nr. 6/20/12.
- Özek, T., Kirimer, N., Baser, K.H.C., Tümen, G. 1996. Composition of the Essential Oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton Grown in Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 8, no. 5, p. 581–583. [http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1996.9700698](https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700698)
- Roberts, M.J. 2000. *A–Z Herbs: Identifying Herbs, How to Grow Herbs, the Uses of Herbs*. Struik. p. 51. ISBN 978-1-86872-499-4.
- Santoroetall, A., Bianco, G., Picemo, P., Aquino, R.P., Autore, G., Marzocco, S., Gazzerro, P., Lioi, M.B., Bifulco, M. 2008. Verminoside-and verbascoside-induced genotoxicity on human lymphocytes: Involvement of PARP-1 and p53 proteins. *Toxicology Letters*, vol. 178, no. 2, p. 71–76.
- Вергунова, А.А., Сокольская, О.Б. 2015. Влияние ароматов на внимание школьников. *Материалы Четвертой Всероссийской конференции по итогам научно-исследовательской работы студентов за 2014 год*, Саратов: Изд-во «Буква», с. 30–32.



POLLEN NATURAL RESOURCES FOR BEES IN SLOVAKIA

Chlebo Róbert¹, Adamchuk Leonora^{2*}

¹Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 25. 11. 2017

Studying the pollen resources is a topical issue for both honey bees and people. The aim of our work was pollen natural resources for bees in deferent regions of Slovakia. Pollen grains, bee pollen, bee families and certain species of entomophile plants served as a biological material. Flowering terms and other information related to the use of protein feed by bees in different regions of Slovakia were obtained after processing the information gained from local beekeepers. The bee pollen was selected several times a month in a set period that was the same for Trenčín, Banská Bystrica, Prešov, Bratislava and Nitra regions. Flower pollen resources were not of the same botanical origin for different regions of Slovakia. Percentage of pollen resources available for bees from different of plants species were established for each region. The definitions were made using pollen analysis of the bee pollen brought by the bees to their homes in the spring and summer periods and also in different decades of months from May to September. Significant resources of flower pollen are characteristic of than Slovak regions of the total: during spring in Trenčín are *Robinia* spp. – 31%; during spring are Salicaceae – 52% and summer are *Helianthus* spp. – 64%; during spring in Prestavky Rosaceae – 42% and summer Brassicaceae – 70%; during spring in Spišský Štiavnik are Salicaceae – 70% and summer: *Helianthus* spp. – 56%; during spring in Hranivnica are Salicaceae – 60% and summer *Epilobium* spp. – 90%; during spring in Bratislava are *Malus* spp. – 35% and summer *Helianthus* spp. – 46%.

Keywords: flower pollen; pollen resources; bee pollen; Slovakia

Introduction

Scientists have researched nectar and pollen resources for stingless bees (Meliponinae, Hymenoptera) in South America (Engel and Dingemans-Bakels, 1980). They found the most important food plants for stingless bees are: *Avicennia germinans*, *Aciotes dichotoma*, *Syzygium cumini*, *Polygonum acuminatum* and *Solanum species*. The research of pollen resources for honeybees has been carried out in many countries (Corbet et al., 1991; Biesmeijer et al., 2006; Hilgert-Moreira et al., 2013; Di Pasquale et al., 2016).

Established the farming system had the greatest influence on biodiversity. Higher bee diversity, flower cover, and diversity of flowering plants were recorded in organic compared with conventional fields. Bee diversity was related both to flower cover and diversity of flowering plants, suggesting plant-mediated effects of the farming system. Namely, higher bee diversity, flower cover, and diversity of flowering plants were recorded in organic compared with conventional fields. Scientists argue than bee diversity was related both to flower cover and diversity of flowering plants, suggesting plant-

***Corresponding author:** Leonora Adamchuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ leonora.adamchuk@gmail.com

mediated effects of the farming system (Benton, et al., 2003; Bengtsson et al., 2005; Holzschuh et al., 2007).

The resources of pollen under restricted feed conditions and affect honey bee health are found (Naug, 2009; Decourtye et al., 2010; Hilgert-Moreira et al., 2013; Danner et al., 2014).

It is generally known that the quantity and quality of pollen affect the condition and development of bee families (Carreck and Williams, 2002; Aizen and Harder, 2009; Alaux et al., 2010). Also, has already been set that the pollen botanical origin of an affects the morphological and biochemical features of a bee pollen as a food for people (Grygorieva et al., 2015; Адамчук і Акульонок, 2016; Novytska et al., 2016; Redina, et al., 2016). So, studying the pollen resources is a topical issue for both honey bees and people. Therefore, the aim of our work was pollen natural resources for bees in deferent regions of Slovakia.

Materials and methodology

Scientific issues that were set up during the research have been solved experimentally, using the next methods of research: zootechnical (setting experiments, pollen productivity, selection of bee pollen), microscopical (analysis of pollen), statistical (biometrical data processing) and analytical (literature review, analysis and generalization of the results of research).

Pollen grains, bee pollen, bee families and certain species of enthomophile plants served as a biological material. Experimental samples were collected during the period of training from 2015 to 2017 in deferent regions in Slovakia. Flowering terms and other information related to the use of protein feed by bees in different regions of Slovakia were obtained after processing the information gained from local beekeepers. The bee pollen was selected several times a month in a set period that was the same for all regions.

Online database PalDat and personal developments served as information media. Next software resources have been used: statistical programs, graphic editor Paint.Net 4.0.

Results and discussion

Flower pollen resources were not of the same botanical origin for different regions of Slovakia. In Trenčín region tradable bee pollen was obtained only during spring. Biodiversity of the resources for its production are, %: *Robinia* spp. – 31, Salicaceae – 17, Rosaceae – 14, Brassicaceae – 13, Poaceae – 11, *Loranthus europeus* Jacq. – 8, Asteraceae – 4, Aceraceae – 2.

In Banská Bystrica region the research was carried out in two areas – Lesenice and Prestavlky. During spring season in Lesnice the resources of bee pollen were represented with the next species, %: Salicaceae – 52; Brassicaceae – 50; Asteraceae – 6; Aceraceae – 17; Rosaceae – 10; Apiaceae – 15; *Robinia* spp. – 15–35.

During the summer period the pollen resources in Lesenice were represented with a bigger number of species, %: Salicaceae – 5–6; Brassicaceae – 44–48; Asteraceae – 8–66; Aceraceae – 2–5; Rosaceae – 9; Fabaceae – 4–35; Poaceae – 5; Apiaceae – 8–16; *Helianthus* spp. – 2–64; *Robinia* spp. – 6; *Vicia* spp. – 35; Lamiaceae – 2–29; *Taraxacum* spp. – 5–20; *Achillea* spp. – 20; *Cirsium* spp. – 20; Tiliaceae – 5. The example throughout the Lesenice, Banská Bystrica region is shown in Table 1.

Table 1 Variety of the pollen resources available for bees in Slovakia, %

Family, genus	Accounting period, decade							
	3 of May	2 of May	1 of June	3 of June	2 of July	1 of August	3 of August	2 of September
Salicaceae	52			5		6		
Brassicaceae		50	48	44				
Asteraceae	6		8	19		15		66
Aceraceae	17		2	5				
Rosaceae	10							9
Fabaceae				9		4	35	20
Poaceae			5					
Apiaceae		15		16	8			
<i>Helianthus</i> spp.				2	63	64	5	
<i>Robinia</i> spp.	15	35				6		
<i>Vicia</i> spp.			35					
Lamiaceae			2		29			
<i>Taraxacum</i> spp.						5	20	
<i>Achillea</i> spp.							20	
<i>Cirsium</i> spp.							20	
Tiliaceae							5	

The general scheme of the pollen resource supply in some regions of Slovakia is shown in Figure 1.

During spring in Prestavlký the resources of bee pollen were represented with the next species, %: Salicaceae – 36; Rosaceae – 30–42; Aceraceae – 23–15; *Robinia* spp. – 11–15; Lamiaceae – 12; Apiaceae – 8; Brassicaceae – 5; Fabaceae – 3. During summer, %: Salicaceae – 5; Rosaceae – 7; Aceraceae – 3; Apiaceae – 4–14; Brassicaceae – 5–70; Fabaceae – 3–50; Poaceae – 8–11; Asteraceae – 21–59; Tiliaceae – 3–15; *Zea mays* L. subsp. *mays* – 4–45; *Taraxacum* spp. – 5; Alliaceae – 7–20; *Helianthus* spp. – 3.

In Prešov region, the results were obtained from two areas – Spišský Štiavnik and Hranovnica. During spring period in Spišský Štiavnik the resources for bee pollen production were represented with the next species, %: Salicaceae – 70; Brassicaceae – 10; Asteraceae – 9–35; Aceraceae – 7–27; *Prunus* spp. – 4; Rosaceae – 20; Fabaceae – 18. During summer, %: Salicaceae – 4–8; Brassicaceae – 5–40; Asteraceae – 9–39; Aceraceae – 7–27; Rosaceae – 20; Fabaceae – 13–39; Poaceae – 3–14; Apiaceae – 2–15; *Helianthus* spp. – 5–56; *Phacelia* spp. – 50.

In Hranovnica during spring period the next sources of pollen were represented, %: Salicaceae – 7–60; Brassicaceae – 25; Asteraceae – 15; *Robinia* spp. – 35; Aceraceae – 25; *Epilobium* spp. – 20; Tiliaceae – 7; Ericaceae – 4; *Pinus* spp. – 2. During summer, %: Salicaceae – 40; Asteraceae – 4–44; *Robinia* spp. – 20; Aceraceae – 13; *Epilobium* spp. – 20–90; Tiliaceae – 2–4; Ericaceae – 9; *Pinus* spp. – 1; Rosaceae – 13; Fabaceae – 18–46; Apiaceae – 10; Poaceae – 10; *Helianthus* spp. – 5; Lamiaceae – 4.

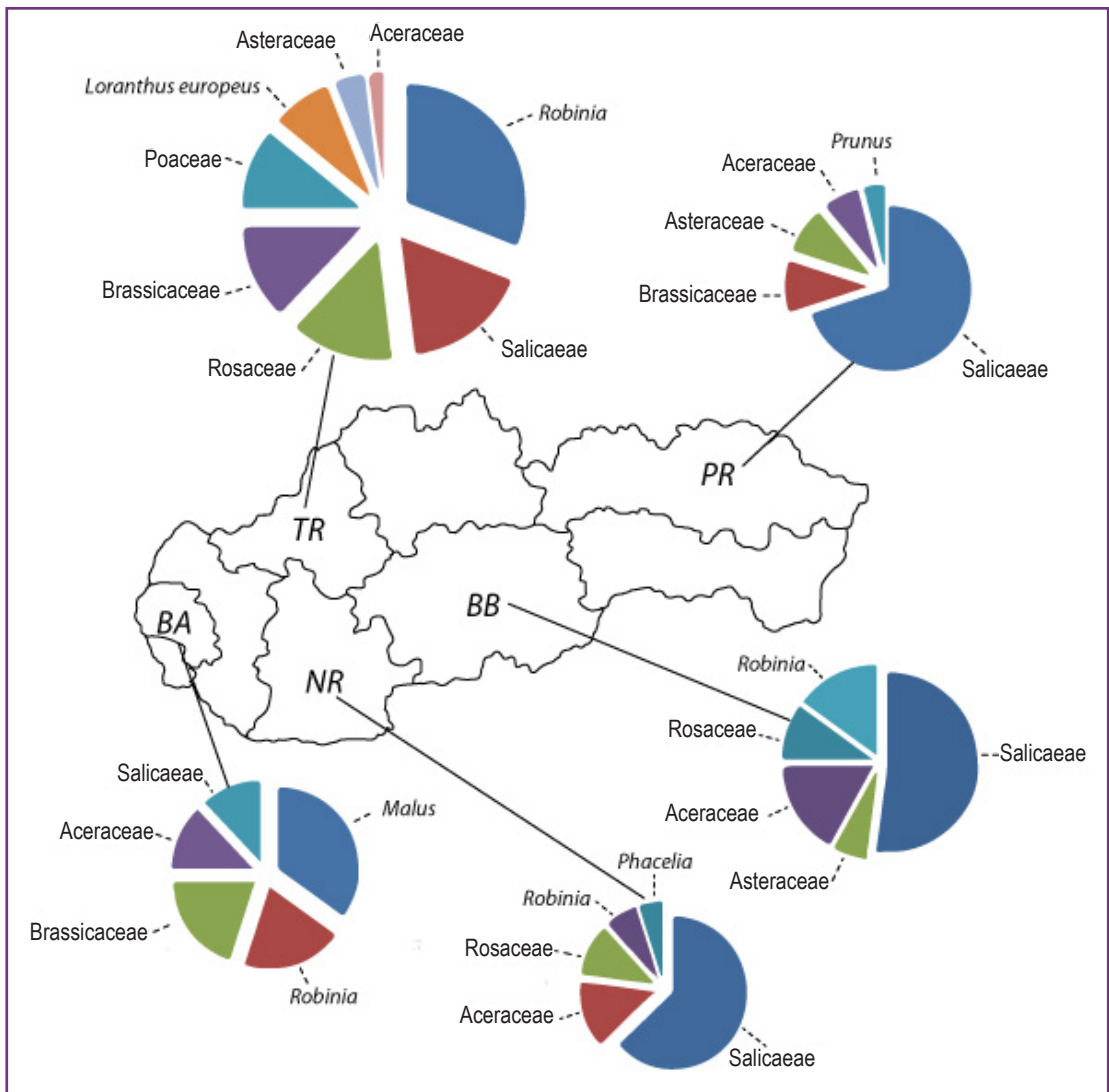


Figure 1 Pollen resources supply in some regions of Slovakia

In Bratislava region, minor resources of pollen (%) were established, which during spring period were represented with *Malus* spp. – 35, *Robinia* spp. – 20, Brassicaceae – 20, Aceraceae – 13, Salicaceae – 12. During summer, %: *Helianthus* spp. – 46, *Cirsium* spp. – 39, Poaceae – 5, *Zea mays* L. subsp. *mays* – 5, Fabaceae – 5.

In Nitra region during spring season the pollen was produced by such species, %: Salicaceae – 11–63; Aceraceae – 14–25; Rosaceae – 11–44; *Robinia* spp. – 7–15; *Phacelia* spp. – 5; Brassicaceae – 20–38; Asteraceae – 11. During summer, %: Rosaceae – 12; *Robinia* spp. – 13; *Phacelia* spp. – 35; Brassicaceae – 5–25; Asteraceae – 28–46; *Vicia* spp. – 15; Fabaceae – 10–32; Tiliaceae – 4–15; Poaceae – 3–7; *Helianthus* spp. – 3–37; *Zea mays* L. subsp. *mays* – 6; Chenopodiaceae – 30; Campanulaceae – 5.

Conclusions

Significant resources of flower pollen are characteristic of than Slovak regions of the total: during spring in Trenčín are *Robinia* spp. – 31%, Salicaceae – 52% and summer are *Helianthus* spp. – 64%; during spring in Prestavky is Rosaceae – 42% and summer is Brassicaceae – 70%; during spring in Spišský Štiavnik are Salicaceae – 70% and summer are *Helianthus* spp. – 56%; during spring in Hranivnica are Salicaceae – 60% and summer are *Epilobium* spp. – 90%; during spring in Bratislava are *Malus* spp. – 35% and summer are *Helianthus* spp. – 46 %.

Acknowledgments

Co-author Leonora Adamchuk thanks the International Visegrad Fund for scholarship and research internships, during which were getting the results and knowledge presented in this paper.

References

- Adamchuk, L., Samoilenko, V., Nikolaieva, N. 2016. Morphological characteristics of *Corylus avellana* L. bee pollen. *Збірник БНАУ: Серія Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, № 2, с. 47–51.
- Aizen, M.A., Harder, L.D. 2009. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Curr. Biol.*, vol. 19, p. 915–918.
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., Le Conte, Y. 2010. Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters*, vol. 6, no. 4, p. 562–565. DOI: [10.1098/rsbl.2009.0986](https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986)
- Bengtsson, J., Ahnström, J., Weibull, A.C. 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, vol. 42, p. 261–269. DOI: [10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x)
- Benton, T.G., Vickery, J.A., Wilson, J.D. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology and Evolution*, vol. 18, p. 182–188. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00011-9](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00011-9)
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, A.P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., Settele, J., Kunin, W.E. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, vol. 313, p. 351–354. DOI: [10.1126/science.1127863](https://doi.org/10.1126/science.1127863)
- Brovarskij, V., Brindza, J. a i. 2010. *Včelí obnôžkový peľ*. Maidachenko : FOP IS.
- Carreck, N.L., Williams, I.H. 2002. Food for insect pollinators on farmland: insect visits to flowers of annual seed mixtures. *J. Insect Conserv.*, vol. 6, p. 13–23. DOI: [10.1023/A:1015764925536](https://doi.org/10.1023/A:1015764925536)
- Corbet, S.A., Williams, I.H., Osborne J.L. 1991. Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European community. *Bee World*, vol. 71, p. 47–59. [http://dx.doi.org/10.1080/0005772X.1991.11099079](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/0005772X.1991.11099079)
- Danner, N., Härtel, S., Steffan-Dewenter, I. 2014. Maize pollen foraging by honey bees in relation to crop area and landscape context. *Basic and Applied Ecology*, vol. 15, no. 8, p. 677–684. DOI: [10.1016/j.baee.2014.08.010](https://doi.org/10.1016/j.baee.2014.08.010)
- Decourtye, A., Mader, E., Desneux, N. 2010. Landscape enhancement of floral resources for honey bees in agro-ecosystems. *Apidologie*, vol. 41, no. 3, p. 264–277. DOI: [10.1051/apido/2010024](https://doi.org/10.1051/apido/2010024)
- Di Pasquale, G., Alaux, C., Le Conte, Y., Odoux, J.F., Pioz, M., Vaissière, B.E., Belzunces, L.P., Decourtye, A. 2016. Variations in the availability of pollen resources affect honey bee health. *PloS one*, vol. 11, no. 9, e0162818. DOI: [10.1371/journal.pone.0162818](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162818)
- Engel, M.S., Dingemans-Bakels, F. 1980. Nectar and pollen resources for stingless bees (Meliponinae, Hymenoptera) in Surinam (South America). *Apidologie*, vol. 11, no. 4, p. 341–350. DOI: [10.1051/apido:19800402](https://doi.org/10.1051/apido:19800402)
- Grygorieva, O., Nikolaieva, N., Brindza, J., Klymenko, S. 2015. Pollen and bee pollen features of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Науковий вісник Національного університету біоресурсів*

- і природокористування України. Серія Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва, вип. 223, с. 35–40. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2015_223_6
- Hilgert-Moreira, S., Nascher, C., Callegari-Jacques, S., Blochtein, B. 2013. Pollen resources and trophic niche breadth of *Apis mellifera* and *Melipona obscurior* (Hymenoptera, Apidae) in a subtropical climate in the Atlantic rain forest of southern. Brazil. *Apidologie*, vol. 45, no. 1, p. 129–141. DOI: [10.1007/s13592-013-0234-5](https://doi.org/10.1007/s13592-013-0234-5)
- Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I., Kleijn, D., Tscharnkte, T. 2007. Diversity of flower-visiting bees in cereal fields: effects of farming system, landscape composition and regional context. *Journal of Applied Ecology*, vol. 44, no. 1, p. 41–49. DOI: [10.1111/j.1365-2664.2006.01259.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01259.x)
- Naug, D. 2009. Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses. *Biological Conservation*, vol. 142, p. 2369–2372. DOI: [10.1016/j.biocon.2009.04.007](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.04.007)
- Novytska, A., Adamchuk, L., Nikolaieva, N. 2016. Acer L. bee pollen morphological features. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, вип. 250, с. 147–157. http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_tevppt_2016_250_21
- Redina, N.M., Adamchuk, L.O., Nikolaieva, N.V., Brindza, J. 2016. Morphological characteristics of bee pollen obtained from *Brassica napus* L. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, vol. 18, no. 2, (68), p. 73–78. DOI: [10.15421/nvlvet6814](https://doi.org/10.15421/nvlvet6814)
- Адамчук, Л.О., Акульонок, О.І. 2016. Морфологічні особливості бджолиного обніжжя з *Salix* L. *Науковий вісник НУБіП України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, вип. 250, с. 105–113.



SMALL BERRIES – ATTRACTIVE SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS FOR CONSUMERS

Ivanišová Eva*, Mittuchová Kristína, Mareček Ján, Francáková Helena

Department of Plant Storage and Processing, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Small berries nowadays start be very popular not only in medicine, pharmacy but also in gastronomy, due to the high amount of biologically active compounds and pleasant sensory characteristic. These kinds of fruits is rich for natural colorants, flavonoids, phenolic acids, vitamins and mineral compounds. Aim of this study was to investigate the biological activity (antioxidant activity, natural colorants, polyphenols and flavonoids) of selected kind of small berry fruits – acai, goji, schisandra, mulberry and sea buckthorn berries. The values of antioxidant activity by DPPH method was the highest in sea buckthorn berries 8.96 ± 0.09 mg TEAC/g; values by molybdenum reducing antioxidant power method ranged from 94.69 (sea buckthorn) to 337.56 (acai) mg TEAC/g. The total polyphenol content in evaluated small berries ranged from 4.29 (mulberry) to 19.66 (acai) mg GAE/g; total flavonoid content was from 0.86 (goji) to 13.01 (acai) μ g QE/g. Results showed that goji, schisandra and sea buckthorn berries are also rich for carotenoids, with the highest value in goji berry – 0.38 mg/g. In acai berry was detected high level of total anthocyanins – 10.74 mg/g. The results showed that small berries can be important tools for increasing nutritional value of diet, foods and can improve sensory properties of these products.

Keywords: antioxidant activity; polyphenols; flavonoids; fruit; natural colorants

Introduction

Small berries contain significant levels of micronutrients and phytochemicals with important biological properties. Consumption of this kind of fruits has been associated with diverse health benefits, such as prevention of heart disease, hypertension, certain forms of cancer and other degenerative or age-related diseases (Viskelis et al., 2012). Berries have been traditionally consumed worldwide to prevent and treat many diseases. In the last decennium some of the berry products, traditionally used in certain parts of the world, have appeared on market shelves of the other parts under the label “superfoods”. Berry fruits are known for having antioxidant potential due to the various active compounds from several different classes, such as polyphenols, isoprenoids (carotenoids, terpens, phytosterols) or organic sulphur compounds (glucosinolates, glutamylcysteine sulfoxide). The most abundant active compounds in edible berries are phenolic acids, tannins, and flavonoids, especially anthocyanins (more than 550 anthocyanins have been reported), which give the nice and very attractive color for many flowers or berries (Diaconeasa et al., 2015). Because of the positive effects of small berries polyphenols on human health, the interest in consuming these kinds of fruits

*Corresponding author: Eva Ivanišová, Department of Plant Storage and Processing, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak Republic, ✉ eva.ivanisova@uniag.sk

and their products is growing. In order to fully understand the roles of fruits polyphenols, further studies are needed (Jakobek et al., 2007).

The main objective of this study was to evaluate biological activity of small berries – acai, goji, schisandra, mulberry and sea buckthorn.

Materials and methodology

Materials

Small berries – acai (*Euterpe oleracea* Mart.), goji (*Lycium chinense* Mill.), schisandra (*Schisandra chinensis* Baill.), mulberry (*Morus alba* L.) and sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) were purchased from local market in dry form. All chemicals used in this work were analytical grade and were purchased from Sigma-Aldrich (USA) and CentralChem (SK).

Methods

Prepare of extracts

0.2 g of sample was extracted with 20 mL of 80% ethanol for 24 hours. After centrifugation at 4000 g (Rotofix 32 A, Hettich, Germany) for 10 min, the supernatant was used for measurement (antioxidant activity, polyphenols, flavonoids). Extraction was carried out in triplicate.

For carotenoid determination (goji, schisandra, sea buckthorn) 1 g of sample and acetone were added into the mortar and the sample was completely broken into pieces. The obtained extract was extracted with petroleum ether in separatory funnel and filtered into 50 mL flasks through a common filter paper.

For anthocyanin determination (acai) 1 g of sample was extracted with acidified ethanol. The obtained extract was extracted and filtered into 50 mL flasks through a common filter paper.

Radical scavenging activity

Radical scavenging activity of samples was measured using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Yen and Chen, 1995). Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 515 nm. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as the standard and the results were expressed in mg/g Trolox equivalents.

Molybdenum reducing antioxidant power method

Molybdenum reducing antioxidant power method of samples was measured according Prieto et al. (1999) method with a slight modification. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 700 nm. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as the standard and the results were expressed in mg/g Trolox equivalents.

Total polyphenol content

Total polyphenol content extracts was measured by the method of Singleton and Rossi (1965) using Folin-Ciocalteu reagent. Gallic acid was used as the standard and the results were expressed in mg/g gallic acid equivalents.

Total flavonoid content

Total flavonoids were determined using the modified method of Lamaison and Carnat (Quitter – Deleu et al., 2000). Quercetin was used as the standard and the results were expressed in µg/g quercetin equivalents.

Total carotenoid content

Total carotenoid content was determined spectrophotometrically according STN (1986) method. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 449 nm. Results were expressed in mg β carotene equivalent per g of sample.

Total anthocyanin content

Total anthocyanin content was determined spectrophotometrically according Lee et al. (2005) method. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 520 and 700 nm. Results were expressed in mg cyanidine-3-glucoside equivalent per g of sample.

Statistical analysis

The basic statistical analyzes were realized in SAS programming packages (THE SAS SYSTEM V 9.2.). Correlation coefficients were calculated by CORR analysis (SAS, 2009).

Results and discussion

Radical scavenging activity

The highest activity (Table 1) of small berries by this method was detected in sea buckthorn and decreased in following order: acai > goji > schisandra > mulberry. Guo et al. (2017) similarly determined antioxidant activity of four subspecies of sea buckthorn berries, and results ranged from 266 to 369 $\mu\text{mol TEAC/g}$, with the best results in *Hippophae rhamnoides* L. subs. *sinensis*. Sea buckthorn berries start be more using in Slovak republic, due to the health benefits. From these berries is possible prepare widely kind of products, such as juice, syrup, jam, dry berries, pulp and also oil from small semen situated in inside part of berries. Very strong activity by DPPH method was also detected in acai berry, which is very popular in Slovakia mainly in beverage industry. Garzón et al. (2017) tested fresh acai berries and found antioxidant activity by DPPH method in amount 2.69 $\mu\text{mol TEAC/g}$. Acai berries similarly like sea buckthorn berries content high level of organic acids, and from this reason are very sour, which is for many consumers unpleasant. But in market nowadays consumers can find widely kind of products regarding beverages and candied berries which are very preferable for many consumers.

Table 1 Radical scavenging activity (DPPH) and molybdenum reducing antioxidant power (MRAP) of evaluated berries

Sample	DPPH, mg TEAC/g	MRAP, mg TEAC/g
Sea buckthorn	8.96 $\pm$ 0.09	94.69 $\pm$ 2.95
Goji	7.22 $\pm$ 0.21	337.56 $\pm$ 6.71
Schisandra	5.85 $\pm$ 0.01	148.87 $\pm$ 18.21
Mulberry	4.48 $\pm$ 0.53	286.66 $\pm$ 33.09
Acai	8.03 $\pm$ 0.12	137.53 $\pm$ 6.67

TEAC – Trolox equivalent antioxidant capacity; $\pm$ standard deviation

Molybdenum reducing antioxidant power method

The strongest activity by this method was detected in goji berry (Table 1) and decreased in following order: mulberry > schisandza > acai > sea buckthorn. Higher activity by this method was determined in mulberry berries. Dimitrova et al. (2014) also tested antioxidant activity by reducing power method and found in mulberry water extract activity 4.53 $\mu\text{mol TEAC/g}$. Hamza et al. (2013) tested antioxidant activity of mulberry fruit powder in male rats exposed to gamma radiation and published that administration of mulberry fruit powder to irradiated rats was found to offer protection against irradiation induced oxidative stress by elevating the activity of antioxidant enzymes, enhancing liver function in addition to improving the lipid metabolism. From their results it could be concluded that the berries might be considered a natural antioxidant substance that can protect from radiation hazards.

The results of antioxidant activity are different with compare to DPPH method. The main cause is that DPPH and molybdenum reducing antioxidant power method run in different principle. In DPPH is possible activity of sample to eliminate synthetic radical; as eliminators works mainly mineral compounds, vitamins as well as polyphenols. In molybdenum reducing antioxidant power method antioxidants (mainly polyphenols and carotenoids) from sample act as reductones and reduce Mo^{VI} to Mo^{V} . From this reason is necessary for testing antioxidant activity of sample use more than one method.

Total polyphenol content

Polyphenols are ubiquitous secondary metabolites in plants. They are known to have antioxidant activity and it is likely that the activity of these extracts is due to these compounds (Tepe et al., 2006). Total polyphenol content in tested berries was the highest in acai and schisandra berries. The lowest content (Table 2) was found in sea buckthorn sample. Schisandra berries are also called five-flavor fruits is known mainly in Chinese medicine, when are used for treatment of several diseases. Mocan et al. (2014) determined in schisandra berries total polyphenols in amount 9.20 mg GAE/g, and also these authors found that in schisandra berries is dominant from polyphenols chlorogenic acid and rutine, whereas isoquercetin and quercetin are present in smaller amount. Wang et al. (2011) found 26.79 ± 17.06 mg GAE/g of total polyphenols in dry schisandra fruits.

Total flavonoid content

Flavonoids are regarded as one of the most widespread groups of natural constituents found in plants (Suhartono et al., 2012). Total flavonoid content (Table 2) in tested berries ranged from 0.86 to 13.01 $\mu\text{g QE/g}$, with the best results in acai and sea buckthorn. Role of flavonoids in human health is supported by the ability of the flavonoids to induce human protective enzyme systems, and by a number of epidemiological studies suggesting protective effects against cardiovascular diseases, cancers, and other age-related diseases (Yao et al., 2004). Small berries fruits can effectively increase amount of flavonoids in human diet. The highest amount of total flavonoids was determined in acai berries. Kang et al. (2010) isolated seven major flavonoids from freeze-dried acai pulp by various chromatographic methods. Their structures were elucidated as orientin, homoorientin, vitexin, luteolin, chrysoeriol, quercetin, and dihydrokaempferol. Sea buckthorn berries was also rich for flavonoids. Rop et al. (2014) tested six cultivars of sea buckthorn and amount of total flavonoids ranged from 4.18 to 7.97 mg RE/g (rutine equivalent). Suomela et al. (2006) reported that the flavonoids in sea buckthorn fruit pulp are mainly flavonols, of which isorhamnetin is typically found in the largest amounts. Quercetin is also present, as well as small amounts of kaempferol.

The most important flavonol glycosides in sea buckthorn are isorhamnetin-3-O-sophoroside-7-O-rhamnoside, isorhamnetin-3-O-rutinoside, isorhamnetin-3-O-glucoside, quercetin-3-O-rutinoside, and quercetin-3-O-glucoside.

Table 2 Total polyphenol and flavonoid content of evaluated berries

Sample	Total polyphenols, mg GAE/g	Total flavonoids, µg QE/g
Sea buckthorn	7.81 ±0.95	6.81 ±0.54
Goji	13.51 ±1.58	0.86 ±0.06
Schisandra	15.55 ±0.45	3.66 ±0.47
Mulberry	4.29 ±0.53	4.84 ±0.21
Acai	19.66 ±0.52	13.01 ±0.76

GAE – Gallic acid equivalent; QE – quercetin equivalent; ±standard deviation

Total carotenoid and anthocyanin content

In sea buckthorn, goji and schisandra was also determined total carotenoid content, with the best results in goji (0.38 ± 0.05 mg/g), following by sea buckthorn (0.15 ± 0.01 mg/g) and schisandra (0.12 ± 0.02 mg/g). Carotenoids are known as photoprotection agents, defending the existing fotodestruction many biologically active substances in cells and tissues. Carotenoids are naturally pigments, with different colors like red, orange or yellow. Carotenoids are used as natural colorants for food and cosmetics (Bunghez et al., 2012). Protti et al. (2017) determined in dry goji berry presence of zeaxantin (dominant), β -cryptoxanthin, β -carotene and lutein. Statistically strong correlation ($p \leq 0.05$) was observed in our study between total carotenoid content and molybdenum reducing antioxidant power method ($\rho = 0.817$).

In acai berry was detected also amount of total anthocyanins – 10.73 ± 0.57 mg/g, which indicated that this kind of berry is very rich for this important natural colorant.

Mertens-Talcott et al. (2008) tested pharmacokinetics of anthocyanins after the consumption of anthocyanin rich acai juice and pulp in human healthy volunteers and published that anhocyanins from acai are bioavailable in healthy human volunteers upon the consumption of acai juice and pulp in moderate amounts and acai. Acai pulp caused a significant increase in the antioxidant capacity of plasma, which indicates the *in vivo* antioxidant potential of acai.

Conclusions

Small berries being rich in phytochemicals and incorporation of these into food diet and food products will add health benefits. As consumption of berries is becoming popular worldwide, mainly in gastronomy due to the positive sensory profiles of these berries and this using can supply essential nutrition as well as health benefits.

References

- Bunghez, I.R., Marius, A.S., Marian, N., Georgeta, R., Rodila-Mariana, I. 2012. Obtaining of carotenoid extract from *Lycium chinense* and characterization using spectrometrical analysis. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 7, p. 523–528.

- Diaconeasa, Z., Ranga, F., Rugina, D., Leopold, L., Pop, O., Vodnar, D., Cuibus, L., Socaciu, C. 2015. Phenolic content and their antioxidant activity in various berries cultivated in Romania. *Bulletin Vasum Food Science and Technology*, vol. 72, p. 99–103. DOI [10.15835/buasvmcn-fst:11127](https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11127)
- Dimitrova, M.P., Mihaylova, D.S., Popola, A.T., Sapundzhieva, T.N., Alexieva, I.N., Fidan, H.N. 2014. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of mulberry fruit. *International Scientific Practical Conference Food, Technologies and Health*, Proceeding Book, Bulgaria: Agricultural Academy, s. 23–27. ISBN 978-954-24-0229-9.
- Garzón, G.A., Narvaez-Cuenca, C.E., Vincken, J.P., Gruppen, H. 2017. Polyphenolic composition and antioxidant activity of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) from Colombia. *Food Chemistry*, vol. 217, p. 364–342. DOI [10.1016/j.foodchem.2016.08.107](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.107)
- Guo, R., Guo, X., Li, T., Fu, X., Liu, R.H. 2012. Comparative assessment of phytochemical profiles, vitamin A and antiproliferative activities of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Food Chemistry*, vol. 221, p. 997–1003. DOI [10.1016/j.foodchem.2016.11.063](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.063).
- Hamza, R.G., Mekawey, H.M.S., Elshamat, A.N. 2013. Antioxidant activity of mulberry (*Morus alba* L.) fruits in male rats exposed to gamma radiation. *Arabian Journal of Nuclear Sciences and Applications*, vol. 46, p. 347–355.
- Jakobek, L., Šeruga, M., Novar, I., Medvidovic-Kosanovic, M. 2007. Flavones, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, vol. 103, p. 359–378.
- Kang, J., Li, Z., Wu, T., Jensen, G.S., Schauss, A.G., Wu, X. 2010. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chemistry*, vol. 122, p. 610–617. DOI [10.1016/j.foodchem.2010.03020](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03020)
- Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal Association of Official Analytical Chemists International*, vol. 88, s. 1269–1278.
- Mertens-Talcott, S.U., Rios, J., Jilma-Stohlawetz, P., Pacheco-Palencia, L.A., Meibohm, B., Talcott, S.T., Derendorf, H. 2008. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, p. 7796–7802. DOI [10.1021/jf8007037](https://doi.org/10.1021/jf8007037)
- Mocan, A., Crisan, G., Vlase, L., Crisan, O., Vodnar, D.C., Raita, O., Gheldiu, A.M., Toiu, A., Oprean, R., Tilea, I. 2014. Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Schisandra chinensis* leaves and fruits. *Molecules*, vol. 19, p. 15162–15179. DOI [10.3390/molecules190915162](https://doi.org/10.3390/molecules190915162).
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, P. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, vol. 269, p. 337–341.
- Protti, M., Gualandi, I., Mandrioli, R., Zappoli, S., Tonelli, D., Mercolini, L. Analytical profiling of selected antioxidants and total antioxidant capacity of goji (*Lycium* spp.) berries. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 143, p. 252–260. DOI [10.1016/j.jpba.2017.05.048](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.048).
- Quettuer-Deleu, CH., Gresseir, B., Vesseur, J. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 1–2, p. 35–42.
- Rop, O., Ercisli, S., Milcek, J., Jurikova, T., Hoza, I. Antioxidant and radical scavenging activities in fruits of six sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, vol. 38, p. 224–232. DOI [10.3609/tra-1304-86](https://doi.org/10.3609/tra-1304-86).
- SAS 2009. Users Guide Version 9. 2. SAS/STAT (r) SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Agricultural*, vol. 6, p. 144–158.
- STN 56 0053: 1986. Stanovenie vitamínu A a jeho provitamínov (Determination of vitamin A and its provitamins). Praha: ÚNN, 1986, 5 p.

- Suhartono, E., Viani, E., Rahmadhan, M.A., Gultom, I.S., Rakhman, M.F., Indrawardhan, A. 2012. Screening of medicinal plant for total flavonoid and antioxidant activity in South Kalimantan of Indonesian. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, vol. 3, p. 297–299. DOI [10.7763/IJCEA.2012](https://doi.org/10.7763/IJCEA.2012).
- Suomeza, J.P., Ahotupa, M., Yang, B., Vasankari, T., Kallo, H. 2006. Absorption of flavones derived from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and their effect on emerging risk factors for cardiovascular disease in human *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, p. 7364–7369.
- Tepe, B. – Sokmen M. – Akpulat H.A. -Sokmen A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, vol. 95, p. 200–204. DOI [10.1016/j.foodchem.2004.12.031](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.031).
- Viskelis, P., Bobinaite, R., Rubinskiene, M., Sasnauska, A., Lanauskas, J. 2012. Chemical composition and antioxidant activity of small fruits. *Horticulture*, vol. 75, p. 75–102. DOI [10.5772/35723](https://doi.org/10.5772/35723).
- Wang, Z., Chen, X., Zhang, W., Lan, G., Zhang, L. 2011. Comparative studies on the chemical composition and antioxidant activities of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera* fruits. *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, p. 1201–1216.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomás-Barberán, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 59, p. 113–122. DOI [0.1007/s11130-004-0049-7](https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7).
- Yen, G. C., Chen, H. Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, vol. 43, p. 27–32.



ADVENTITIZATION OF DENDROFLORA OF THE OREL RIVER VALLEY (UKRAINE)

Ivanko Iryna*, Gorban Vadym

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The purpose of our study is to establish the features of the adventitization of the flora of trees and shrubs in the valley of the Orel River. As a result of geobotanical studies it was established that the tree-shrub vegetation in the valley of the river. The eagle is represented by natural forests, artificial plantations and semi-natural plantations, among which natural forests of oak (*Quercus robur*) and artificial plantations of pine-tree (*Pinus sylvestris*) and black locust (*Robinia pseudoacacia*) are predominant. It was revealed that within the taxonomic composition of the dendroflora of the valley of the Orel River (95 woody and shrubby species) the adventive fraction consists of 33 species (35%), which belong to 18 families. Within the area studied, 17 species were naturalized into the adventitious fractions of dendroflora. By origin in the adventive fraction of dendroflora the species with Asian (10 species – 30%) and North American (10 species – 30%) primary areas predominate. Other microelements are represented by single species and 4 species – with an unidentified primary area (anecophytes). Six woody-shrubby species show invasive activity in phytocenoses of the valley of the Orel River. They are invasive neophytes: *Robinia pseudoacacia* L., *Acer negundo* L., *Ulmus pumila* L., *Elaeagnus angustifolia* L., *Amorpha fruticosa* L., *Partenocissus quinquefolia* (L.) Planch. Now they are naturalized and actively infect various types of biotopes: the coastal zones of the Orel River and its tributaries, beams, natural and artificial forests, and more recently – lands that are withdrawn from agricultural use. The intensive adventitization of the dendroflora of the valley of the Orel river was discovered. It shows the anthropogenic transformation of this territory. The introduced neophytes have recently been actively naturalized and are the part of the natural phytocoenosis, changing their structure, which poses a threat to natural biodiversity. This requires further monitoring studies of the state of the flora of this territory, as well as observations of naturalization processes and the build-up of the invasive ability of adventive species.

Keywords: adventisation; naturalization; invasive activity; anthropogenic transformation

Introduction

The problem of adventitization of flora in the modern period is one of the most urgent and acquires a global scale, as it leads to their unification and transformation of the structure. Invasion of alien species can cause significant loss of natural biological diversity and even cause economic damage and pose a danger to human health. In this connection, the advective fractions of flora and the trends in the naturalization and invasive activity of adventitious species in the modern period are carefully analyzed by researchers from different countries (Baranovsky, 1998; Richardson et al., 2000;

*Corresponding author: Iryna Ivanko, Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine,

✉ ivanko_ndi_biol_dnu@i.ua

Protopopova et al., 2002; Pyšek et al, 2012; Baranovski et al., 2016; Berg et al., 2016; Gudžinskas et al., 2016; Sadlo et al., 2017).

In the modern period, it is believed that the expansion of plant areas and the increased invasive ability of adventitious species in virtually all regions of the world are the consequences of years of anthropogenic pressure and global climate change (Protopopova et al., 2007; Walter et al., 2009; Fuentes, 2015; Lykholat et al., 2017). A significant number of naturalized and invasive adventitious species in new areas for themselves under favorable conditions go through the path: introduction – naturalization – invasiveness (INIC) (Pyšek et al, 2012). This is especially true of woody and shrubby adventitive species, which almost all were once introduced, that is, they belong to the ergasophytes.

Materials and methodology

Route geobotanical studies of woody-shrubby groupings of the valley of the river Orel were held in 2015. The names of species are given according to the modern Ukrainian nomenclature editions (Mosyakin and Fedoronchuk, 1999). The adventitious status and primary area (migraine) are determined on the basis of scientific papers (Protopopova, 1991, 2002; Pyšek et al., 2012). The degree of naturalization of species and invasive activity are given exclusively for the area of research based on their own observations.

Results and discussion

Tree and shrub vegetation in the valley of the Orel River is represented by natural forests, artificial plantations and semi-natural groupings that do not create a continuous vegetation cover, but have a fragmentary nature of location. This is due to the anthropogenic impact and salinization of the soils of the valley of the river Orel, which limits the development of woody and shrubby vegetation. Among the woody-shrubby groupings of the valley of the river the eagle is dominated by natural forests of oak (*Quercus robur* L.) and artificial plantations of pine-tree (*Pinus sylvestris* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) are predominant.

According to previous studies, the taxonomic composition of the dendroflora of the valley of the Orel River includes 95 woody (23 species) and shrubby (10) species (Baranovsky et al., 2017). In this case, the adventive fraction consists of 33 species (35%) belonging to 18 families (Table 1). The predominant families that have the highest species saturation are: Rosaceae – 7 species (21%), Salicaceae – 4 (12%) and Fabaceae – 3 (9%).

By origin in the adventive fraction of dendroflora species with Asian (10 species – 30%) and North American (10 species – 30%) primary areas predominate. Other microelements are represented by single species and 4 species – with an unidentified primary area (anecophytes).

Within the investigated territory, 17 species (52%) were naturalized into the adventitious fractions of dendroflora, 82% of neophytes (14 species) and 18% of archeophytes (3 species). The participation of casual species is 48% (16 species), of which 88% are neophytes (14 species) and 12% archeophytes (2).

Among the naturalized species, species with North American and Asian primary ranges are dominant – 41% (7 species) and 35% (6), respectively.

Table 1 The adventive fraction of tree and shrub vegetation

Species within the family boundaries	Naturalized / Invasive				Casual	
	biomorphs	migroelement	archaeophytes	neophytes	archaeophytes	neophytes
1	2	3	4	5	6	7
Pinaceae <i>Pinus pallasiana</i> D. Don	Arb	MIT	–	–	–	+
Aceraceae <i>Acer negundo</i> L. <i>Acer pseudoplatanus</i> L.	Arb Arb	NA E	– –	+/ –	– –	– +
Anacardiaceae <i>Cotinus coggygria</i> Scop.	Fr	M	–	+	–	–
Caesalpiniaceae <i>Gleditsia triacanthos</i> L.	Arb	NA	–	+	–	–
Caprifoliaceae <i>Lonicera tatarica</i> L. <i>Sambucus racemosa</i> L.	Fr Fr	As E	– –	– +	– –	+ –
Elaeagnaceae <i>Elaeagnus angustifolia</i> L. <i>Hippophae rhamnoides</i> L.	FrArb ArbFr	M EAs	– –	+/ –	– –	– +
Fabaceae <i>Amorpha fruticosa</i> L. <i>Caragana arborescens</i> Lam <i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Fr Fr Arb	NA As NA	– – –	+/ + +/ +	– – –	– – –
Grossulariaceae <i>Ribes aureum</i> Pursh	Fr	NA	–	–	–	+
Juglandaceae <i>Juglans regia</i> L.	Arb	MAAs	–	+	–	–
Moraceae <i>Morus alba</i> L.	Arb	As	+	–	–	–
Oleaceae <i>Fraxinus lanceolata</i> Borkh.	Arb	NA	–	+	–	–
Rosaceae <i>Armeniaca vulgaris</i> Lam. <i>Cerasus mahaleb</i> (L.) Mill. <i>Cerasus tomentosa</i> (Tumb.) Wall. <i>Cerasus vulgaris</i> Mill. <i>Malus domestica</i> Borkh. <i>Padus serotina</i> (Ehrh.) Ag. <i>Prunus domestica</i> L.	Arb FrArb Fr Arb Arb Arb Arb	Anec As As Anec Anec NA Anec	– – – – – – –	– – – – – + –	– – – + + – –	+ + + – – – +

Continue the Table 1

Species within the family boundaries	Naturalized / Invasive				Casual	
	biomorphs	migroelement	archaeophytes	neophytes	archaeophytes	neophytes
1	2	3	4	5	6	7
Salicaceae <i>Populus deltoides</i> Marsh. <i>Populus × canadensis</i> Moench <i>Populus italica</i> (Du Roi) Moench <i>Salix fragilis</i> L.	Arb Arb Arb Arb	NA NA/Hybr. As As	– – – +	– – – –	– – – –	+ + + –
Simarubaceae <i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	Arb	As	–	+	–	–
Solanaceae <i>Lycium barbatum</i> L.	Fr	As	+	–	–	–
Tiliaceae <i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	Arb	E	–	–	–	+
Ulmaceae <i>Celtis occidentalis</i> L. <i>Ulmus pumila</i> L.	Arb Arb	NA As	– –	– +/-	– –	+ –
Vitaceae <i>Partenocissus quinquefolia</i> (L.) Planch.	Fr	NA	–	+/-	–	–

Fr (Frutex) – bush; Arb (Arbor) – tree. Migroelement (primary area): As – Asian; E – European; M – Mediterranean; NA – North American; IT – Iranoturan; Anec – anecophytes

Six woody-shrubby species show invasive activity in phytocenoses of the valley of the Orel River. They are exhibited by the invasive neophytes: *Robinia pseudoacacia*, *Acer negundo*, *Ulmus pumila*, *Elaeagnus angustifolia*, *Amorpha fruticosa*, *Partenocissus quinquefolia*. Now they are naturalized and actively infect various types of biotopes: the coastal zones of the Orel River and its tributaries, beams, natural and artificial forests, and more recently – lands that are withdrawn from agricultural use. According to recent studies, active processes of naturalization of such neophytes as *Padus serotina*, *Cotinus coggygria* and *Celtis occidentalis*, recorded for natural and artificial forests. These species are included in the checklist of the adventive species of the Dnipropetrovsk region (Baranovski et al., 2016).

Conclusions

Significant adventization of the dendroflora of the valley of the Orel River shows the anthropogenic transformation of this territory. The introduced neophytes have recently been actively naturalized and are part of the natural phytocenosis, changing their structure, which poses a threat to natural biodiversity. This requires further monitoring studies of the state of the flora of this territory, as well as observations of naturalization processes and the build-up of the invasive ability of adventive species.

References

- Baranovski, B., Khromykh, N., Karmyzova, L., Ivanko, I., Lykholat, Y. 2016. Analysis of the alien flora of Dnipropetrovsk Province. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*, vol. 6, no. 3, p. 419–429. DOI: <http://dx.doi.org/10.15421/2016113>
- Baranovsky, B.A. 1998. Distribution of shrub amorph in the Dnieper floodplain in cascade conditions. *Questions of steppe forest management and land reclamation*, p. 147–151.
- Baranovsky, B.O., Manyuk V.V., Ivanko I.A., Karmyzova L.A. 2017. *Analysis of the flora of the Orilsky National Natural Park*. Lira. 320 p. ISBN 978-966-383-875-5.
- Berg, C., Drescher, A., Wagner, V., Essl, F., Berg, C. 2016. Temporal trends in the invasions of Austrian woodlands by alien trees. *Preslia*, vol. 88, p. 185–200.
- Fuentes, N., Saldaña, A., Kühn, I., Klotz, S. 2015. Climatic and socio-economic factors determine the level of invasion by alien plants in Chile. *Plant Ecology & Diversity*, vol. 8, no. 3, p. 371–377. DOI: [10.1080/17550874.2014.984003](https://doi.org/10.1080/17550874.2014.984003)
- Gudžinskas, Z., Petrulaitis, L. 2016. New alien plant species recorded in the southern regions of Latvia. *Botanica Lithuanica*, vol. 22, no. 2, p. 153–160. DOI: [10.1515/botlit-2016-0016](https://doi.org/10.1515/botlit-2016-0016)
- Lykholat, Y.V., Khromykh, N.A., Ivan'ko, I.A., Matyukha, V.L., Kravets, S.S., Didur, O.O., Alexeyeva, A.A., Shupranova, L.V. 2017. Assessment and prediction of the invasiveness of some alien plants in conditions of climate change in the steppe Dnieper region. *Biosystems Diversity*, vol. 25, no. 1, p. 52–59. DOI: [10.15421/011](https://doi.org/10.15421/011).
- Mosyakin, S.L., Fedoronchuk, M.M. 1999. *Vascular plants of Ukraine (a nomenclatural checklist)*. Naukova Dumka. 345 p. ISBN 966-02-1336-0.
- Protopopova, V.V. 1991. *The synanthropic flora of Ukraine and the ways of its development*. Naukova Dumka. 204 p. ISBN 5-12-001943-9.
- Protopopova, V.V., Mosyakin, S.L., Shevera, M.V. 2002. *Phytoinvasions in Ukraine as a threat to biodiversity: the present state and tasks for the future*. M.G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine. 28 p. ISBN 966-02-2763-9.
- Protopopova, V.V., Shevera, M.V. 2007. Types of adventitious plants of Ukraine as indicators of xerophilization of flora. *Materials of the seminar in relation to the approval of the National report on the implementation of the UN Convention on the combating of desertification in Ukraine*. Kiev, p. 79–85.
- Pyšek, P., Danihelka, J., Sádlo, J., Chrtěk, J. Jr., Chytrý, M., Jarošík, V., Kaplan, Z., Krahulec, F., Moravcová, L., Pergl, J., Štajerová, K., Tichý, L. 2012. Catalogue of alien plants of the Czech Republic (2nd edition): Checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns. *Preslia*, vol. 84, p. 155–255.
- Richardson, D.M., Pyšek, P., Redjmanek, M., Barbour, N.G., Panetta, F.D., West, S. J. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity & Distributions*, vol. 6, p. 93–107. DOI: [10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x](https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x)
- Sadlo, J., Vitkova, M., Pergl, J., Pyšek, P. 2017. Towards site-specific management of invasive alien trees based on the assessment of their impacts: the case of *Robinia pseudoacacia*. *NeoBiota*, vol. 35, p. 1–34. DOI: [10.3897/neobiota.35.11909](https://doi.org/10.3897/neobiota.35.11909)
- Walther, G.-R., Roques, A., Hulme, P.E., Sykes, M.T., Pyšek, P., Kühn, I., Zobel, M., Bacher, S., Botta Dukát, Z., Bugmann, H., Czúcz, B., Dauber, J., Hickler, T., Jarosík, V., Kenis, M., Klotz, S., Minchin, D., Moora, M., Nentwig, W., Ott, J., Panov, V.E., Reineking, B., Robinet, C., Semchenko, V., Solarz, W., Thuiller, W., Vilà, M., Vohland, K., Settele, J. 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology and Evolution*, vol. 24, no. 12, p. 686–693. DOI: [10.1016/j.tree.2009.06.008](https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.008)



INFLUENCE OF COLD STRESS ON GROWTH AND FLAVONOIDS ACCUMULATION IN *ARTEMISIA TILESII* «HAIRY» ROOT CULTURE

Havryliuk Olesia^{*1}, Matvieieva Nadiia²,
Tashyrev Oleksandr³, Yastremskaya Larisa¹

¹National Aviation University, Kyiv, Ukraine

²Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine Kyiv, Ukraine

³D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 24. 6. 2017

Revised 27. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The aim of the work was to investigate the effect of short-term cold stress on the growth, antioxidant activity and flavonoids synthesis in the *Artemisia tilesii* "hairy" root cultures. The effect of low temperature was studied by roots cultivating during the first 1, 2 and 5 days at +10 °C, then the plants were grown at +24 °C. The total flavonoids content in Rutin equivalent was determined spectrophotometrically using aluminium chloride assay. Antioxidant activity of ethanolic extracts was studied using the DPPH method. The root lines differed in sensitivity to short-term temperature decrease up to +10 °C. Stress factor action resulted in a reduction of mass increment in 1.7–3 times. At the same time, two lines were found to be less sensitive to the cold stress since the cultivation for a short period at the low temperatures did not suppress their growth. Transgenic root lines also differed in the flavonoids content which was up 3–15 mg RE/g. Cultivation of "hairy" roots under short-term cold stress has led to decrease of the flavonoids content in all "hairy" root lines except line No. 5. Cold stress did not lead to the significant changes of antioxidant activity in any of the studied root lines except root line No. 5 where the greater antioxidant activity was observed in one- and two-day cold stress. Thus, short-term cold stress have suppressed the "hairy" roots growth, inhibited flavonoids accumulation, and had no effect on the antioxidant activity (except one roots line).

Keywords: "hairy" roots culture; *Artemisia tilesii*; cold stress; mass increment; flavonoids; antioxidant activity

Introduction

The study of abiotic stress influence on the secondary metabolites accumulation in plants has both a fundamental and practical importance since these compounds are used as pharmaceuticals, fragrances, food additives etc. The stress factors such as ultraviolet radiation, low and high temperature, drought, soil overwetting, technogenic pollution, other factors (Ramakrishna et al., 2011) lead to the changes of secondary metabolites accumulation in plant tissues. Low temperature as one of abiotic stress factors causes deviations in the optimal development of plants. Phenotypical changes after low temperatures (cold stress) effect include the shift-down, chlorosis, wilting and tissue necrosis (Yadav, 2010). The effect of short-term cold stress does not lead to death and significant damage of plants, but can cause the changes in the synthesis of inherent compounds, including secondary metabolites. It was demonstrated in *in vitro* studies that stress factors including low temperatures

***Corresponding author:** Olesia Havryliuk, National Aviation University, Kyiv, Ukraine,
✉ gav_olesya@ukr.net

can lead to the increase of flavonoids and antioxidants synthesis in plants (Chalker-Scott, 1999; Winkel-Shirley, 2002; Fini et. al., 2011; Schulz et. al., 2016).

It was found that cold stress led to the changes in plant gene expression and resulted in the increased accumulation of anthocyanins and flavonols in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. plants (Schulz et. al., 2016). The influence of cold stress on the secondary metabolites accumulation in plant shoots was determined in numerous studies (Chalker-Scott, 1999; Fini et. al., 2011; Schulz et. al., 2016), but the effect of abiotic stresses on plant roots is still underexplored.

The study of abiotic stress influence on the synthesis of biologically active compounds in medicinal plants is of a particular interest. Plants of the *Artemisia* L. genus are the medicinal ones and traditionally are used in America, Europe and Asia. Antioxidants, flavonoids and other biologically active compounds (BAC) were found to synthesize in different *Artemisia* spp.

Artemisia rhizogenes-mediated genetic transformation is one of the methods for increasing of the content of biologically active compounds. It was shown that transgenic plants and “hairy” roots can accumulate BAC in a larger quantity than initial non-transformed plants. This is due to the transfer of alien genes into the plant genome after agrobacterial transformation and their influence on the activity of other plant genes.

However, the influence of stress factors including cold stress on the secondary metabolites accumulation in transgenic roots is still remained underexplored. Therefore, the aim of this work was to determine the effect of short-term cold stress on the growth, antioxidant activity and flavonoids accumulation in *Artemisia tilesii* Ledeb. “hairy” roots culture.

Materials and methodology

We have used 5 *Artemisia tilesii* “hairy” root cultures obtained earlier by *Artemisia rhizogenes*-mediated transformation as the starting material for our study (Matvieieva et. al., 2016). The control “hairy” root cultures were grown in the sterile conditions on the Petri dishes with Murashige and Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) (Murashige and Skoog, 1962) basal medium at the temperature +24 °C during 4 weeks. The influence of the cold stress was investigated by roots cultivating during the one, two and five days at +10 °C and subsequent growing (up to 4 weeks) at +24 °C. The increment of roots mass was determined by direct weighing. The amount of total flavonoids in rutin equivalent (RE) in 70% ethanolic extracts was determined by modified aluminium chloride colorimetric essay (Pękal and Pyrzynska, 2014). Antioxidant activity of “hairy” root ethanolic extracts was studied by DPPH-method (Semenov, 1985). Statistical analysis of the results was performed using Microsoft Excel ($p < 0.05$) application software packages.

Results and discussion

The lines of transgenic roots differed in the growth rate. For example, mass increase of root line No. 3 was twice then mass increase of root line No. 2 in case of cultivation in the control conditions (+24 °C). Transgenic root lines also differed in growth rate in case of short-term cold stress (+10 °C). Particularly, the growth rate of root lines No. 2 and No. 3 did not fall during one-day cultivation at the reduced temperature. At the same time, the growth rate of the root lines No. 1, No. 4 and No. 5 significantly decreased even under one-day low temperature stress. Inhibition of roots growth for the all lines after 5 days cultivation at the temperature +10 °C was quite expected (Figure 1).

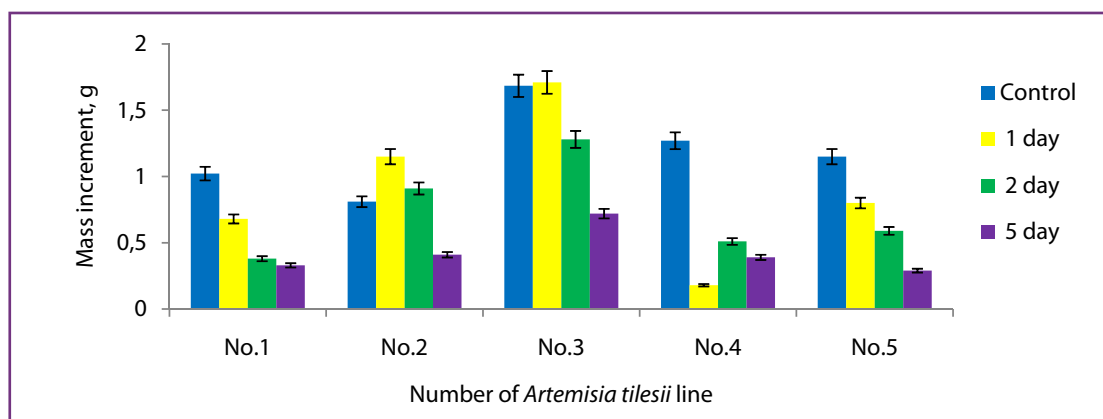


Figure 1 The influence of cold stress on mass increment of *Artemisia tilesii* "hairy" root cultures during one, two and five days cultivation at +10 °C

It was shown that transgenic root lines differed in flavonoid content during cultivation under control conditions. The highest flavonoids content was found in the root line No. 4–15 mg RE/g. The lowest content of flavonoids was found in transgenic root line No. 5.

Response of root lines No.1, No. 2, No. 3 to short-term cold stress did not differ significantly and resulted in a decrease of flavonoid content in 1.7–2 times as compared to the control. The flavonoids content in root line No. 4 under these cultivation conditions was in three times less than in the control. Root line No.5 differed from all other lines and was characterized by the absence of flavonoids content decrease for cultivating at lowered temperature. Root line No. 5 differed from all studied ones because of absence of the flavonoids content decrease after the cultivation at low temperature (Figure 2).

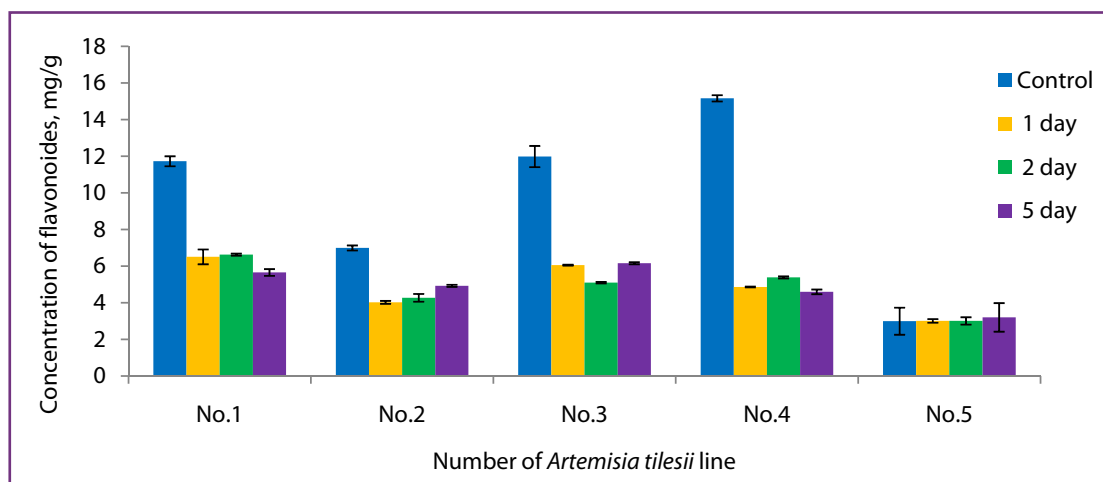


Figure 2 The influence of cold stress (one, two and five days cultivation at +10 °C) on flavonoids accumulation of *Artemisia tilesii* "hairy" roots cultures

In our experiments it was found out that there were any significant differences in antioxidant activity of root lines No. 1–4 extracts after cold stress. However, the antioxidant activity of the root line No. 5

extract has increased during cultivation at the low temperature cultivation during one and two days (Figure 3). Thus, the transgenic root line No.5 differed from other ones by the response to the cold stress effect both for the flavonoids content and for level of antioxidant activity.

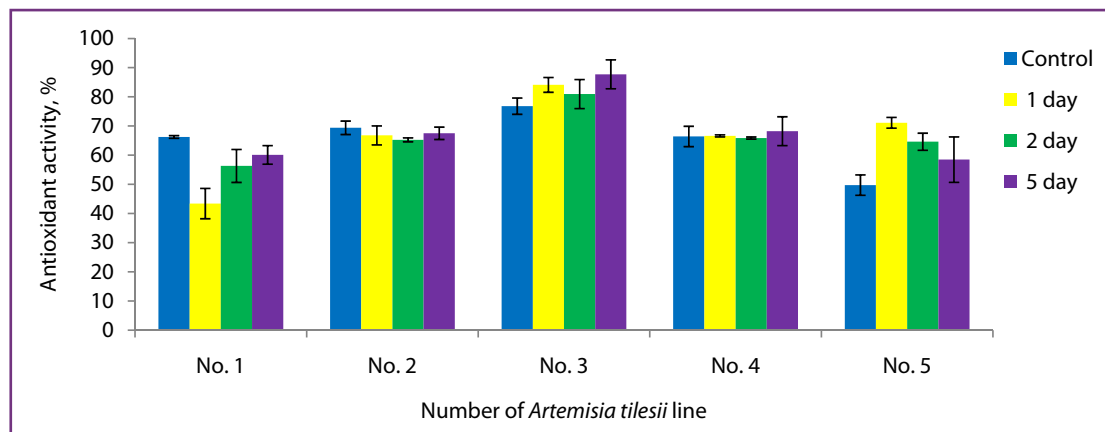


Figure 3 The influence of cold stress (one, two and five days cultivation at +10 °C) on antioxidant activity of *Artemisia tilesii* “hairy” roots cultures

Conclusions

The root lines differed in sensitivity to short-term temperature decrease up to +10 °C. Stress factor action resulted in a reduction of mass increment in 1.7–3 times. At the same time, two lines were found to be less sensitive to the cold stress since the cultivation for a short period at the low temperatures did not suppress their growth. Transgenic root lines also differed in the flavonoids content which was up 3–15 mg RE/g. Cultivation of “hairy” roots under short-term cold stress has led to decrease of the flavonoids content in all “hairy” root lines except line No. 5. Cold stress did not lead to the significant changes of antioxidant activity in any of the studied root lines except root line No. 5 where the greater antioxidant activity was observed in one- and two-day cold stress. Thus, short-term cold stress have suppressed the “hairy” roots growth, inhibited flavonoids accumulation, and had no effect on the antioxidant activity (except one roots line).

Acknowledgments

Publication is based on the research provided by the grant support of the State Fund For Fundamental Research, Ukraine (No Ø73/2-2017).

References

- Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochem. Photobiol.*, vol. 70, p. 1–9. DOI: [10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x](https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x)
- Finì, A., Brunetti C., Ferdinando M., Ferrini F., Tattini M. 2011. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signal Behav.*, vol. 6, no. 5, p. 709–711. DOI: [10.4161/psb.6.5.15069](https://doi.org/10.4161/psb.6.5.15069)
- Matvieieva, N., Shakhovskiy, A., Belokurova V., Drobot K. 2016. *Artemisia tilesii* Ledeb hairy roots establishment using *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, vol. 46, no. 4, p. 342–345. DOI: [10.1080/10826068.2015.1031393](https://doi.org/10.1080/10826068.2015.1031393)
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, vol. 15, no. 3, p. 473–497. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)

- Pękal, A., Pyrzynska, K. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, vol. 7, no. 9, p. 1776–1782. DOI: [10.1007/s12161-014-9814-x](https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x)
- Semenov, V., Yarosh A. 1985. Method for determining the antioxidant activity of biological material. *Ukrainian Biochemical Journal*, vol. 57, no. 3. p. 50–52. Available at: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/67673>.
- Schulz, E., Tohge, T., Zuther, E., Fernie, A. R., Hinch, D.K., 2015. Natural variation in flavonol and anthocyanin metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant, Cell and Environment*, vol. 38, no. 8, p. 1658–1672. DOI: [10.1111/pce.12518](https://doi.org/10.1111/pce.12518).
- Ramakrishna, A., Ravishankar, G. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal Behav*, vol. 6, no. 11, p. 1720–1731. DOI: [10.4161/psb.6.11.17613](https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613)
- Winkel-Shirley B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr Opin Plant Biol*, vol. 5, no. 3, p. 218–223. DOI: [10.1016/S1369-5266\(02\)00256-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00256-X)
- Yadav, S. K. 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. *Agron. Sustain. Dev*, vol. 30, p. 515–527. DOI: [10.1051/agro/2009050](https://doi.org/10.1051/agro/2009050).



PHENOLIC COMPOUNDS IDENTIFIED IN *CHRYSANTHEMUM CORONARIUM* L. INTRODUCED IN UKRAINIAN POLISSYA

Ivashchenko Iryna

Zhytomyr National Agroecological University, Zhytomyr, Ukraine

ФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ, ІДЕНТИФІКОВАНІ В РОСЛИНАХ *CHRYSANTHEMUM CORONARIUM* L. ЗА ІНТРОДУКЦІЇ В ПОЛІССІ УКРАЇНИ

Іващенко Ірина

Received 24. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The paper shows the results of chromatographic analysis of phenolic compounds extracted from a valuable vegetable, medicinal, decorative plant – garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium* L.), introduced in Ukrainian Polissya. Introduction studies were carried out on experimental plots of Botanical Gardens of Zhytomyr National Agroecological University. *Chrysanthemum coronarium* phenolic compounds were studied by high-performance liquid chromatography (HPLC) method. As a result of the research, 24 compounds of phenolic nature have been detected, from which 13 have been identified: chlorogenic acid, caffeic acid, cafeoylquinic acid, n-coumaroylquinic acid, 3-methylquercetin-7-bioside, 3-methylquercetin-3-bioside, rutin, luteolin-7-glycoside, isochlorogenic acid, apigenin-7-glucoside, luteolin, 3-methylquercetin, kaempferol. The analysis proves that the dominant components are isochlorogenic acid (35.48% amount of fenolic compounds), caffeic acid (10.25%), cafeoylquinic acid (17.18%) and luteolin-7-glycoside (7.85%). The amount of the detected phenolic compounds in air-dry raw material constitutes 2.18%. The research testifies to the fact that garland chrysanthemum contains an important group of biologically active substances (hydroxycinnamic acids and flavonoids) and is a promising plant for further study and application in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: *Chrysanthemum coronarium* L.; Asteraceae; phenolic compounds; flavonoids; chromatography; introduction; Ukrainian Polissya

Вступ

Хризантема увінчана (*Chrysanthemum coronarium* L.) – однорічна трав'яниста рослина родини Asteraceae Dumort., триби Anthemideae. Ботанічні синонімічні назви : *Glebionis coronaria* L. Cassini ex Spach, *Glebionis coronaria* var. *discolor*, *Glebionis coronaria* var. *coronaria*, *Chrysanthemum roxburghii* Desf., *Glebionis roxburghii* (Desf.) Tzvelev, *Xantophthalmum coronarium* (L.) P.D. Sell., *Matricaria coronaria* (L.) Desr. Вона відома як харчова, лікарська, декоративна рослина; містить вітаміни, каротини, мікро- і макроелементи, прості та складні вуглеводи, протеїни, лактони, ефірну олію (Tawaha and Hudaib, 2010; Geest et al., 2016; Wan et al., 2017). Хризантема увінчана – багате джерело фенольних сполук з різноманітною біологічною активністю (Harborne et al., 1970;

*Corresponding author: Iryna Ivashchenko, Zhytomyr National Agroecological University, Zhytomyr, Ukraine, ✉ kalateja@ukr.net

Chuda et al., 1996; Ibrahim et al., 2007; Lai et al., 2007), її можливо розглядати як перспективну біологічно активну добавку, що сприятливо впливатиме на організм людини.

Цінність хризантеми увінчаної визначає актуальність досліджень з вивчення компонентного складу фенольних сполук за умов інтродукції в зоні Полісся України.

Метою роботи було вивчення методом ВЕРХ якісного та кількісного вмісту окремих фенольних сполук надземної частини рослин хризантеми увінчаної за інтродукції в Поліссі України для встановлення можливості її використання у харчовій та фармацевтичній промисловості.

Матеріали та методи

Інтродукційні дослідження проводили на експериментальних ділянках ботанічного саду Житомирського національного агроекологічного університету. Насіннєвий матеріал *Chrysanthemum coronarium* отримано із Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України. Сировину збирали у фазу цвітіння рослин.

Фенольні сполуки *Chrysanthemum coronarium* вивчали на високоефективному рідинному хроматографі Prominens 20 фірми «Shimadzu» (Японія). Комплектація хроматографа: мікропунктерна насосна станція LC – 20 AD з модулем чотириканального градієнта низького тиску LPG і проточним вакуумним дегазатором DGU – 20 A3; система автоматичного введення проби SIL – 20A; термостат колонок CTO-20A; спектрофотометричний діодно-матричний детектор SPD-M20A з аналітичною проточною мікрокюветою. Колонка хроматографічна: Supelco Discovery HS C18 розміром 150 × 2,1 мм, заповнена зворотнфазним сорбентом із зернінням 3мкм.

Екстракти рослин для хроматографічних досліджень отримували настоюванням повітряно-сухої сировини у 50%-му метанолі протягом 7 діб (1 : 4).

Розділення здійснювали в градієнтному режимі. Розчинниками слугували: розчин А – 0,5 %-й розчин перхлоратної кислоти (рН 1,5) у дистильованій воді; розчин В – суміш 40 % метанолу кваліфікації для ВЕРХ (Merck), 40 % ацетонітрилу кваліфікації для ВЕРХ (Lab-Scan), 20 % розчину А. Швидкість потоку розчинників становила 0,2 мл/хв. Об'єм проби для введення – 1мкл. Детектування здійснювали за 280, 310, 330, 360, 525 нм одночасно.

Спектральні характеристики реєстрували за даними сканування в момент виходу піка в діапазоні довжин хвиль 235 – 550 нм. Піки ідентифікували методом зіставлення із стандартними зразками за часом виходу і спектром, а також за методом добавок. Належність до тієї чи іншої групи природних сполук визначали за подібністю спектральних характеристик. Градування здійснювали за розчинами стандартних зразків відомої концентрації. Концентрації в досліджуваних пробах розраховували за площею піків із використанням програмного забезпечення LC Solution (Shimadzu).

Результати та їх обговорення

В результаті проведеного хроматографічного аналізу в рослинах хризантеми увінчаної виявили 24 сполуки фенольної природи, з яких ідентифікували хлорогенову, ізохлорогенову, кавову, кофеїлхінну, п-кумароїлхінну кислоти та флавоноїди: 3-метилкверцетин-7-біозид, 3-метилкверцетин-3-біозид, рутин, лютеолін-7-глікозид, апігенін-7-глікозид, лютеолін, 3-метилкверцетин, кемпферол (рис. 1, табл. 1). Домінуючими компонентами виявились ізохлорогенова кислота (35,48 %), кавова кислота (10,25 %), кофеїлхінна кислота (17,18 %) та лютеолін-7-глікозид (7,85 %). Вміст виявлених фенольних сполук у повітряно-сухій сировині становив 2,18 %.

Отримані нами результати узгоджуються з даними зарубіжних дослідників, які виявили в рослинах хризантеми увінчаної хлорогенову кислоту, ізомери дикофеїлхінної кислоти, рутин, лютеолін, лютеолін-7-О-глікозид, мірицитин-3-О-галактозид, трицин та 4-сукциніл-3,5-

дикофеїлхінну кислоту (Lai et al., 2007; Hosni et al., 2013). Проте, мірицитин-3-О-галактозид, трицин та 4-сукциніл-3,5-дикофеїлхінна кислота нами не ідентифіковані.

Таблиця 1 Компонентний склад та кількісний вміст фенольних сполук надземної частини рослин *Chrysanthemum coronarium* L., ідентифікованих методом ВЕРХ

Table 1 Composition and quantitative content of phenolic compounds in *Chrysanthemum coronarium* L. areal parts, identified by HPLC-method

Час утримання, хв.	Сполука	Вміст у повітряно-сухій сировині, мг/г	Частка суми виявлених фенольних сполук, %
17,16	хлорогенова кислота	0,10 ±0,007	0,48
21,31	кавова кислота	2,23 ±0,003	10,25
22,67	кофеїлхінна кислота	0,08 ±0,002	0,37
23,77	<i>n</i> -кумароїлхінна кислота	0,09 ±0,001	0,39
26,61	–	0,09 ±0,003	0,04
28,65	3-метилкверцетин-7-біозид	0,77 ±0,016	3,55
30,91	3-метилкверцетин-3-біозид	0,04 ±0,002	0,19
31,85	Рутин	0,39 ±0,003	1,77
32,33	лютеолін-7-глікозид	1,71 ±0,014	7,85
34,07	ізохлорогенова кислота	0,26 ±0,025	35,48
34,6	ізохлорогенова кислота	6,31 ±0,018	–
37,03	ізохлорогенова кислота	1,16 ±0,009	–
37,87	апїгенін-7-глікозид	0,09 ±0,002	0,44
38,99	кофеїлхінна кислота	3,66 ±0,017	16,81
43,54	–	0,09 ±0,004	0,04
44,38	лютеолін	1,42 ±0,017	6,54
45,63	3-метилкверцетин	0,17 ±0,004	0,78
49,34	–	0,31 ±0,005	0,14
52,92	–	0,52 ±0,006	0,24
54,33	кемпферол	0,18 ±0,004	0,25
56,28	–	0,67 ±0,005	0,31
56,88	–	0,62 ±0,009	0,28
57,55	–	0,62 ±0,006	0,28
58,68	–	0,17 ±0,003	0,08

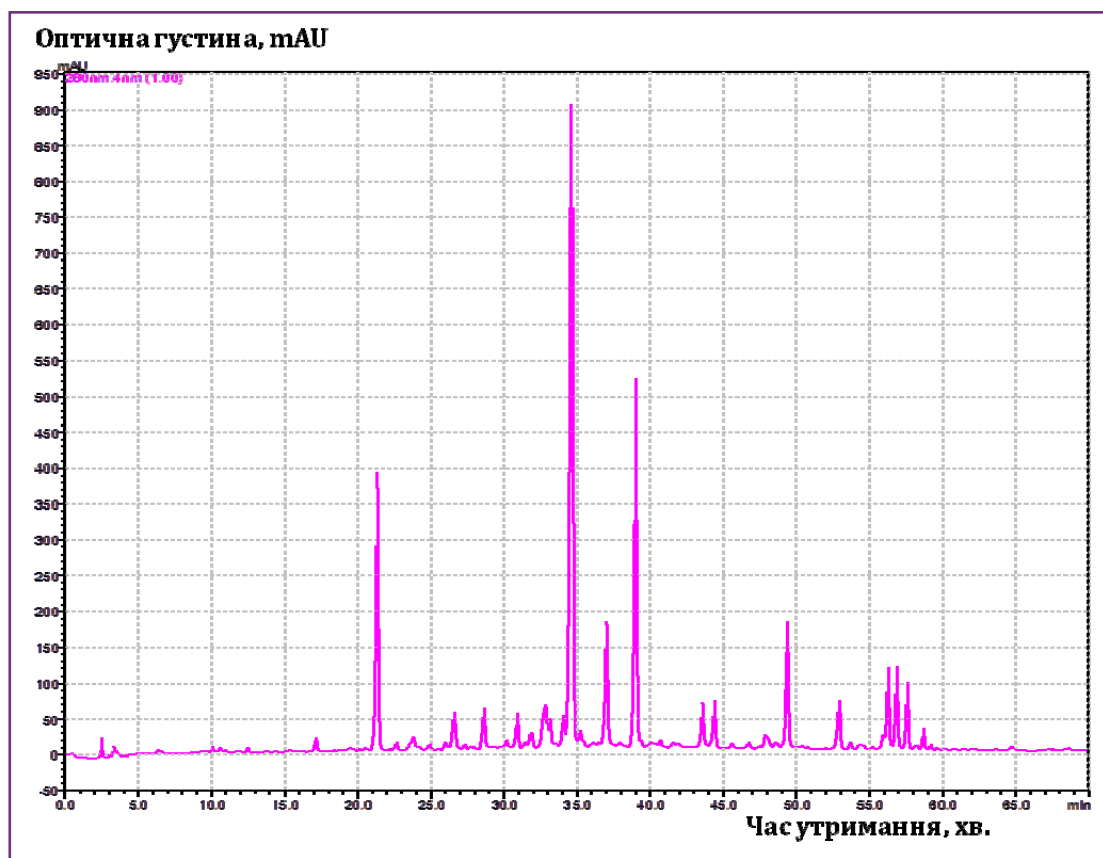


Рисунок 1 Хроматограма фенольних сполук екстракту *Chrysanthemum coronarium* L.
Figure 1 Chromatogram of phenolic compounds obtained from *Chrysanthemum coronarium* L. extract

Відомо, що фенольні сполуки проявляють захисну роль в канцерогенезі, запаленні, атеросклерозі, тромбозі, а також мають високу антиоксидантну активність, антимікробні властивості (Nishiumi et al., 2011; Valdes et al., 2015). Згідно літературних джерел, рослини хризантеми овочевої характеризуються високим показником антиоксидантної активності та виявляють антимікробні властивості, що, можливо, пов'язано із вмістом фенольних сполук (Chuda, 1996; Lograda et al., 2013; Ivashchenko, 2017).

Висновки

Методом ВЕРХ в рослинах хризантеми увінчаної виявили 24 сполуки фенольної природи, ідентифікували хлорогенову, ізохлорогенову, кавову, кофеїлхінну, п-кумароїлхінну кислоти та флавоноїди: 3-метилкверцетин-7-біозид, 3-метилкверцетин-3-біозид, рутин, лютеолін-7-глікозид, апігенін-7-глікозид, лютеолін, 3-метилкверцетин, кемпферол. Вміст виявлених фенольних сполук у повітряно-сухій сировині становив 2,18%.

Основні компоненти, %: ізохлорогенова кислота (35,48), кавава кислота (10,25), кофеїлхінна кислота (17,18) та лютеолін-7-глікозид (7,85).

Результати досліджень свідчать, що хризантема увінчана містить важливу групу біологічно активних речовин – гідроксикоричних кислот та флавоноїдів і є перспективною культурою для подальшого вивчення і застосування у харчовій промисловості та фармації.

Література

- Chuda, Y., Ono, H., Ohnishi-Kameyama, M., Nagata, T., Tsushida, T. 1996. Structural identification of two antioxidant quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, p. 2037–2039. DOI: [10.1021/jf960182](https://doi.org/10.1021/jf960182)
- Geest, G., Choi, Y. H., Arens, P., Post, A., Liu, Y., Meeteren, U. 2016. Genotypic differences in metabolomic changes during storage induced-degreening of chrysanthemum disk florets. *Postharvest Biology and Technology*, vol. 115, p. 48–59. DOI: [10.1016/j.postharvbio.2015.12.008](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.12.008)
- Harborne, J. B., Heywood, V. H., Saleh, N. A. M. 1970. Chemosystematics of the compositae: Flavonoid patterns in the *Chrysanthemum* complex of the tribe Anthemideae. *Phytochemistry*, vol. 9 (9), p. 2011–2017. DOI: [10.1016/S0031-9422\(00\)85354-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85354-6)
- Hosni, K., Hassen, I., Sebei, H., Casabianca, H. 2013. Secondary metabolites from *Chrysanthemum coronarium* (Garland) flowerheads: chemical composition and biological activities. *Industrial Crops and Products*, vol. 44, p. 263–271. DOI: [10.1016/j.indcrop.2012.11.033](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.033)
- Ibrahim, L. F., El-Senousy, W. M. & Hawas, U. W. 2007. NMR spectral analysis of flavonoids from *Chrysanthemum coronarium*. *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 43, no. 6, p. 659–662. DOI: [10.1007/s10600-007-0222-y](https://doi.org/10.1007/s10600-007-0222-y)
- Ivashchenko, I. 2017. Chemical composition of essential oil and antimicrobial properties of *Chrysanthemum coronarium* (Asteraceae). *Biosystems Diversity*, vol. 25, no. 2, p. 119–123. DOI: [10.15421/011709](https://doi.org/10.15421/011709)
- Lai, J.-P., Lim, Y. H., Su, J., Shen, H.-M., Ong, C. N. 2007. Identification and characterization of major flavonoids and caffeoylquinic acids in three *Compositae* plants by LC/DAD-APCI/MS. *Journal of Chromatography B*, vol. 848, no. 2, p. 215–225. DOI: [10.1016/j.jchromb.2006.10.028](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.10.028)
- Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., G. Figueredo, G., Silini, H., Kenoufi, M. 2013. Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of Algerian populations of two chrysanthemum species. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, vol. 3 (8 Suppl 1), p. 6–11. DOI: [10.7324/JAPS.2013.38.S2](https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.38.S2)
- Nishiumi, S., Miyamoto, S., Kawabata, K., Ohnishi, H., Mukai, R., Murakami, A., Ashida, H., Terao, J. 2011. Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. *Front Biosci. (Schol. Ed.)*, vol. 3, p. 1332–1336.
- Tawaha, K., Hudaib, M. 2010. Volatile oil profiles of the aerial parts of Jordanian garland, *Chrysanthemum coronarium*. *Pharmaceutical Biology*, v. 48, no. 10, p. 1108–1114. DOI: [10.3109/13880200903505641](https://doi.org/10.3109/13880200903505641)
- Valdés, L., Cuervo, A., Salazar, N., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., González, S. 2015. The relationship between phenolic compounds from diet and microbiota: impact on human health. *Food Funct.*, vol. 6, no. 8, p. 2424–2439.
- Wan, C., Li, S., Liu, L., Chen, C., and Fan, S. 2017. Caffeoylquinic Acids from the Aerial Parts of *Chrysanthemum coronarium* L. *Plants*, vol. 6, no. 10, p. 1–7. DOI: [10.3390/plants6010010](https://doi.org/10.3390/plants6010010)



RECEIVING PLANTING MATERIAL OF MOUNTAIN SAVORY (*SATUREJA MONTANA* L.) AT A VEGETATIVE REPRODUCTION

Jelezniak Tamara*, Vorniku Zinaida

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau

ПОЛУЧЕНИЕ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЧАБЕРА ГОРНОГО (*SATUREJA MONTANA* L.) ПРИ ВЕГЕТАТИВНОМ РАЗМНОЖЕНИИ

Железняк Тамара, Ворнику Зинаида

Received 18. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 27. 11. 2017

Are shown data about a vegetative reproduction of mountain savory (*Satureja montana* L.). This method will allow receiving the saplings possessing all qualitative signs of a maternal plant. The next ways of receiving planting material were studied: by rooting of green cuttings and lignified 2–3-year and 4–5 summer cuttings. Green cuttings 7–8 cm long landed in the greenhouse on a depth of 4–5 cm to expressly paved way and took roots with the keeping of express heating environments and at the increased humidity. Lignified cuttings were shortened to 15–18 cm of length and planted on a depth of 10–12 cm on the open site with a possibility of watering. During vegetation in all options, an apical part of plants for the best development of side escapes and accumulation of root weight was removed, watering and loosening of row spacings were regularly carried out. The received planting material was qualitative with well-developed root system, with a diameter of 8–11 cm and length of the main root of 15–22 cm. The thickness of a root neck depending on a way of receiving saplings made 5–22 cm, the number of skeletal escapes of 5–15 units. Saplings from lignified cuttings were considerably more developed, than from green. So, the mass of 10 plants averaged 230 g and 250 g against 70 g, and the mass of a root part of 10 plants of 134 g and 313 g of 41 g. Green cuttings have a good root developing ability, but strongly suffer from drying and are subject to rotting, therefore, their rooting and further body height requires the creation of special conditions. Lignified cuttings have the greatest reserve of nutrients, therefore, the root forming at them proceeds more successfully at preventing from drying of the high layer of the soil. The rooting of green cuttings made 49%, lignified cuttings of 83–89%, at the same time from them 80–85% corresponded to the first category on biomorphological features.

Keywords: mountain savory; vegetative reproduction; planting material; green cutting; lignified cutting

Введение

В настоящее время актуальным является вопрос разработки эффективных способов размножения видов и сортов растений. Среди множества лекарственных и ароматических растений, акклиматизированных в Республике Молдова, особый интерес представляет чабер горный (*Satureja montana* L.), который широко используется в медицине, парфюмерии, кулинарии и в декоративном озеленении (Дудченко и др., 1989; Diug et al., 1994). Как

*Corresponding author: Tamara Jelezniak, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, ✉ galinajelezneac@gmail.com

лекарственное растение, он имеет дезинфицирующее, вяжущее, мочегонное и потогонное действие. Его назначают при расстройствах пищеварения, колитах, рвоте. Горный чабер входит в состав лечебных чаев, используется для улучшения вкуса лекарств.

Сухие и свежие листочки применяют в кулинарии как пряность при приготовлении мясных и овощных блюд, придавая им пикантный вкус и облегчая их усвоение. Эфирное масло, получаемое из этого растения, обладает антибактериальным, антимикробным и фунгицидным действием (Дудченко, 1997).

В природе Республики Молдова чабер горный не встречается, произрастает он в диком виде преимущественно в странах Средиземноморья, встречается в Крыму. В культуре распространен в Португалии, на юге Франции, севере Италии, на юге Украины и России.

Основой создания высокопродуктивных плантаций этой культуры является посадочный материал. Самым простым и дешевым способом является семенное размножение. Однако чабер горный как полиморфное растение при семенном размножении дает неоднородное по биологическим и производственным признакам потомство, поэтому, по мнению некоторых авторов, его вегетативное размножение является предпочтительным, так как этот метод позволяет получать материал, обладающий всеми качественными признаками материнского растения (Иванова, 1982; Машанов et al., 1988). Размножение растений с помощью стеблевых черенков – один из наиболее распространенных способов вегетативного размножения, позволяющий в кратчайшие сроки получить нужное количество высококачественных саженцев (Поликарпова и Пилюгина, 1991; Musteata, 1999; Мустяцэ и др., 2014).

Материалы и методы

Исследования проводились на изолированном открытом участке, с возможностью осуществления полива и в защищенной теплице Института Генетики, Физиологии и Защиты Растений АН Молдовы. Были изучены следующие способы получения посадочного материала: путём укоренения зелёных черенков и одревесневших 2 – 3-летних и 4 – 5-летних черенков.

Для зеленого черенкования в первой декаде мая с материнских растений четвертого года вегетации, из середины куста ранним утром отбирались побеги текущего года длиной 7 – 8 см с 4 – 5 парами листьев, при этом нижние пары листьев обрывались. Зеленые черенки, не допуская их увядания, высаживались в теплице в почву, состоящую из смеси лесной земли, торфа и песка в соотношении 2 : 1 : 1, на которую сверху насыпался песок, слоем 1 – 2 см. Черенки высаживались по схеме 5 × 5 см на глубину 4 – 5 см под пленочное покрытие, закрепленное на высоте 30 – 40 см от растений. Первые 10 – 15 дней растения притенялись для защиты от чрезмерного количества солнечной энергии при помощи экрана из ткани. В этих условиях при регулярном поливе и проветривании поддерживалась повышенная влажность почвы и воздуха.

Одревесневшие черенки длиной 18 – 20 см отбирались в первой декаде апреля с маточных растений плантаций 5 – 6 года вегетации с хорошо освещенной части кроны. Черенки укорачивались до 15 – 18 см длины, сохраняя все верхние побеги с осенними листьями. Заглубление производилось таким образом, чтобы на поверхности оставалось 5 – 6 см длины черенков, во избежание их обезвоживания. Посадку осуществляли на участке открытого грунта с возможностью полива в хорошо подготовленную почву, куда предварительно были внесены удобрения $N_{60}P_{60}$, двустрочной лентой 20 – 22 см на глубину 10 – 13 см. Расстояние между рядами 60 см, между растениями в ряду 12 – 13 см. Систематически осуществлялся полив таким образом, чтобы не допускалось пересыхания верхнего 0 – 20 см слоя почвы. В течение вегетации во всех вариантах регулярно проводились прополки, рыхления междурядий, подкормки. Периодически удалялась верхушечная часть растений с цветками и бутонами для стимулирования развития боковых побегов и наращивания корневой системы.

В конце вегетации во всех вариантах производилась выборка посадочного материала и давалась оценка его качества по биоморфологическим признакам. У саженцев определялись такие показатели, как толщина корневой шейки (в наиболее широкой ее части), высота облиственной части, количество скелетных побегов, параметры корневой системы (диаметр и длина основного корня), масса надземной и корневой части растений, уровень оводненности надземной части и корней растений.

Результаты и их обсуждение

Зеленые черенки к концу мая начинают укореняться, отмечается активный рост в верхней части растений. В это время было снято пленочное и притеняющее покрытия. В первой половине июня появляются новые побеги, в начале августа черенки достигают фазы ветвления – бутонизации. В начале цветения верхушечная часть растения была удалена, при этом оставлено 11 – 13 см длины растений для активизации роста корневой системы и формирования новых побегов. Во второй половине октября саженцы были выкопаны, классифицированы согласно значениям биоморфологических показателей.

Таблица 1 Показатели продуктивности и качества посадочного материала у чабера горного (*Satureja montana* L.), полученного при вегетативном размножении

Table 1 Indexes of efficiency and quality of planting material of mountain savory (*Satureja montana* L.), received at a vegetative reproduction

Показатели продуктивности и качества саженцев, единицы измерения	Материал к укоренению		
	зеленые черенки	одревесневшие 2 – 3 летние черенки	одревесневшие 4 – 5 летние черенки
Количество черенков к укоренению, ед.	160	228	228
Количество полученного посадочного материала, ед.	78	188	203
В том числе:			
– 1 категории, ед.*	60	158	168
– 2 категории, ед.**	18	30	35
Степень укоренения, %	48,8	82,5	89,0
Внешний вид	саженцы имеют окраску типичную для чабера горного, без видимых повреждений		
Толщина корневой шейки, мм.	4,6	13,1	21,7
Высота надземной части, см.	18,4	22,8	23,9
Количество скелетных побегов, ед.	5,3	9,9	15,0
Диаметр корневой системы, см.	8,1	11,9	11,1
Длина основного корня, см.	14,8	18,2	21,5
Масса надземной части 10-ти растений, г.	69,5	231,5	251,8
Масса подземной (корневой) части 10-ти растений, г.	41,0	134,2	313,2
Уровень оводненности, %			
– в надземной части	61,9	51,0	47,9
– в подземной (корневой) части	49,8	41,3	42,8

* – к 1-й категории относились саженцы с толщиной корневой шейки более 4 мм и количеством скелетных побегов – более 4-х; ** – ко 2-й категории относились саженцы с толщиной корневой шейки не менее 2 мм и количеством скелетных побегов – не менее 2-х

У одревесневших черенков к концу апреля отмечается начало укоренения и последующая вегетация побегов. Во второй декаде мая на однолетних побегах отмечается фаза формирования 6 – 8 пар листьев, к концу месяца – начало ветвления. В начале июля отмечается начало цветения и в это время и в последующем в начале августа была удалена верхушечная часть растений с цветками и бутонами на 5 – 6 см длины. В конце октября была произведена выборка и сортировка укорененных черенков, определены их показатели продуктивности и качества.

Укореняемость зелёных черенков составила 48,8 %, при этом 77 % из них соответствовали 1-ой категории. Укореняемость одревесневших черенков была намного выше и составила 83 % для 2 – 3-х летних и 89 % для 4 – 5-ти летних черенков, из которых 82 и 84 % соответственно были 1-ой категории. Укоренение одревесневших черенков произошло на 70–80 % успешнее, чем у зеленых черенков. Полученный посадочный материал был высокого качества с хорошо развитой корневой системой, диаметр которой составлял 8 – 11 см, длина 15 – 22 см и по количеству скелетных побегов, толщине корневой шейки, высоте надземной части соответствовал имеющимся нормативам. Саженцы, полученные из одревесневших черенков, были значительно более развиты, чем саженцы из зелёных черенков. Так, масса 10 растений в среднем составила 232 – 252 г против 70 г, показав превышение в 230 – 260 %. Корневая система особенно сильно развита у саженцев из 4 – 5-ти летних черенков – их масса достигала в среднем 312 г, что в 2 раза выше, чем у саженцев, полученных из 2 – 3-х летних черенков и в 7 раз выше, чем из зеленых черенков.

Выводы

Зелёные черенки имеют хорошую корнеобразовательную способность (укоренение составило 48,8 %), но они сильно страдают от пересыхания, чаще поражаются болезнями и подвергаются загниванию, поэтому их укоренение и дальнейший рост возможны при поддержании их жизнеспособности путем создания особых температурных условий и высокой влажности воздуха.

Саженцы, полученные из зеленых черенков, имеют толщину корневой шейки около 5 см, количество скелетных побегов – более 5-ти. Диаметр корневой системы составляет 8 см, длина основного корня 15 см.

У одревесневших черенков имеется наибольший запас питательных веществ, поэтому корнеобразование у них протекает гораздо успешнее – масса подземной части 10 укорененных из них растений составляет 134 и 312 г против 41 г у саженцев, полученных при зеленом черенковании.

При условии недопущения пересыхания одревесневших черенков, при систематическом поливе, их укоренение происходит на уровне 83 – 89 %. Толщина корневой шейки при этом составляет 13 – 22 мм, количество скелетных побегов – 10 – 15 единиц.

Литература

- Diug, E., Prisacaru, V., Bodrug, M. 1994. The elaboration of the medicine with antiseptic action based of volatil oil. *Plante medicinale – realizari si perspective: Simpozion National*, Ed. IV. Piatra Neamt, p. 92–93.
- Musteata, G. 1999. *Cimbru de munte – Satureja montana* L. Chisinau: UASM. 48 p.
- Дудченко, Л. 1997. *Ароматы здоровья. Эфирные масла и эфиромасличные растения в ароматерапии*. Киев: Глобус. 150 с.
- Дудченко, Л., Козьяков, А., Кривенко, В. 1989. *Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения: Справочник*. Киев: Наукова думка. 304 с. ISBN 5-12-000483-0.

Иванова, З. 1982. *Биологические основы и приёмы вегетативного размножения древесных растений стеблевыми черенками*. Киев: Наукова думка. 288 с.

Машанов, В., Андреева, Н., Логвиненко, И. и др. 1988. *Новые эфиромасличные культуры*. Симферополь: Таврия. 160 с.

Мусяцэ, Г., Ворнику, З., Железняк, Т., et al. 2014. Продуктивные качества семенного и вегетативного потомства чабера горного (*Satureja montana* L.). *Материалы конференции. Симферополь*, с. 223–225.

Поликарпова, Ф., Пилюгина, Я. 1991. *Выращивание посадочного материала зеленым черенкованием*. Москва: Росагропромиздат. 96 с.



BACTERIA OF *APIS MELLIFERA* GASTROINTESTINAL TRACT: COUNTS, IDENTIFICATION AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

Kačániová Miroslava^{1,2*}, Gasper Jaroslav¹, Brindza Ján³, Schubertová Zuzana³, Ivanišová Eva⁴

¹Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia

²Department of Bioenergetics and Food Analysis, Faculty of Biology and Agriculture, University of Rzeszow, Poland

³Department of Genetics and Plant Breeding, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia

⁴Department of Storing and Processing Plant Products, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia

Received 26. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The aim of the present study was to identify of bacterial species inhabiting the intestinal tract of *Apis mellifera* L. Content on intestinal tract was cultured for isolation of Gram-negative and Gram-positive bacteria. Content of gut was streaked onto MacConkey agar which was incubated for 24–48 h at 37 °C aerobically. For cultivation of Gram-positive and Gram-negative microflora, the inoculated Tryptone soya agar was incubated for 48–72 h at 30 °C. Then, the identification of isolates with MALDI-TOF MS Biotyper was done. After bacteria identification antibiotic resistance testing was done. Disc diffusion methods was applied and the following antibiotics discs were used: amikacin AMK (10 µg), gentamicin GEN (10 µg), tigecycline TGC (10 µg) and chloramphenicol CM (10 µg). Results show that the Gram-positive bacteria counts were from 2.17 ± 0.04 to 3.21 ± 0.02 log CFU/g and Gram-negative counts ranged from 2.36 ± 0.14 to 4.05 ± 0.04 log CFU/g in honey bee gut samples. Lactococcaceae, Micrococcaceae, Staphylococcaceae and Enterobacteriaceae were identified from Gram-positive and Gram-negative bacteria in bees gut. The Enterobacteriaceae were the most abundant and were represented with 8 bacterial species. The Gram-positive and Gram-negative bacterial species recovered exhibited the antimicrobial resistance to the antibiotics. Gram-positive and Gram-negative bacterial showed the more frequently resistance to tigecycline (9.5%) and amikacin (8.2%). The resistance to gentamycin (6.5%) and chloramphenicol (4.1%) was observed less frequently.

Keywords: *Apis mellifera*; Gram-positive and Gram-negative bacteria; antibiotic resistance

Introduction

Insects are the most diverse animal group on Earth, which evolutionary adapted to feed on a variety of substrates and matrices ranging from wood or phloem sap to blood. These nutritionally unbalanced diets are exploited and/or complemented with participation of microbiota insect. Insect microflora also played a major role in their adaptation and evolution (Rosenberg and Zilber-Rosenberg, 2011). Among the insects, the honeybees have great importance worldwide because of the pollination

*Corresponding author: Miroslava Kačániová, Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia,
✉ Miroslava.Kacaniova@uniag.sk

activity of crops, fruit and wild plants. The honeybees are essential for ecosystem and for a sustainable agriculture production. Microflora of honeybee is important for the bees community.

The microflora of gut could act actively against the bee pathogens and parasites, enhance bees immunity, and thus indirectly to increase the protection of honeybees' health (Evans and Lopez, 2004). Therefore, the studies on identification of the intestinal microflora of honey bees are needed. The aim of the present study was to estimate the counts of several specific groups of bacteria in the midgut and rectum of *Apis mellifera* with the detection of bacterial species and their antibiotic resistance.

Materials and methodology

Adult worker honey bees (*Apis mellifera*) were used for experiments. The worker honey bees were originated from the apiary from Middle Slovakia ($n = 50$) the specimens were obtained from the hive. The workers were decapitated and their midgut and rectum were removed and weighed to obtain a 0.1 g of gut content material.

Gram-positive and Gram-negative bacteria in bees gut were detected. Content of gut was streaked onto MacConkey agar (MCA, Merck, Germany) which was incubated for 24–48 h at 37 °C aerobically. For cultivation of Gram-positive and Gram-negative microflora, the inoculated Tryptone soya agar (TSA, Oxoid) was incubated for 48–72 h at 30 °C.

Qualitative analysis of intestinal microflora was performed with MALDI-TOF Mass Spectrometry (Bruker Daltonics, Germany). Generated spectra were analyzed on MALDI-TOF Microflex LT (Bruker Daltonics) instrument using Flex Control 3.4 software and Biotyper Realtime Classification 3.1 with BC specific software. Criteria for reliable identification were a score of ≥ 2.0 at species level and ≥ 1.7 at genus level.

At least 100% of isolated bacterial strains of each bacterial species were used for antimicrobial susceptibility testing. A amount of 100 μ l of bacterial suspension in physiological solution with 0.5 McF^o density was spread with sterile L-rods on the surface of Mueller Hinton agar (Oxoid, UK). Disc diffusion methods was applied and the following antibiotics discs (Oxoid, UK) were used: amikacin AMK (10 μ g), gentamicin GEN (10 μ g), tigecycline TGC (10 μ g) and chloramphenicol CM (10 μ g). Inoculated agars were incubated at 35 ± 2 °C for 16–20 h according to the EUCAST (2013). Interpretation of inhibition zones were done in line with EUCAST (2015).

Results and discussion

Recent non-culture based investigations of the honey bee microbiome have focused on bees captured from within the hive, sampling either the entire alimentary tract, or only the midgut and hindgut (Mohr and Tebbe, 2006; Babendreier et al., 2007; Cox-Foster et al., 2007; Martinson et al., 2011; Disayathanoo et al., 2011; Ahn et al., 2012; Moran et al., 2012; Sabree et al., 2012). Less attention has been paid to the microbial diversity of foraging bees, food stores and the pollination environment. Independent findings from solitary and social pollinators suggest that both potentially pathogenic and beneficial microbes are regularly vectored from the pollination environment or floral sources (Batra et al., 1973; Gilliam et al., 1989; Singh et al., 2010; McFrederick et al., 2012; 2013).

The Gram-positive bacteria counts were from 2.17 ± 0.04 to 3.21 ± 0.02 log CFU/g and Gram-negative counts ranged from 2.36 ± 0.14 to 4.05 ± 0.04 log CFU/g in honey bee gut samples.

Lactococcaceae, Micrococcaceae, Staphylococcaceae and Enterobacteriaceae were identified from Gram-positive and Gram-negative bacteria in bees gut. The Enterobacteriaceae were the most abundant and were represented with 8 bacterial species. The bacterial species identified with MALDI TOF MS Biotyper in bees gut are shown in Table 1.

Table 1 Isolated bacterial strains of *Apis mellifera* gut

Family	Bacterial species
Lactococcaceae	<i>Lactococcus garvieae</i>
Micrococcaceae	<i>Kocuria kristinae</i>
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus capitis</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
	<i>Staphylococcus hominis</i>
	<i>Staphylococcus warneri</i>
Enterobacteriaceae	<i>Hafnia alvei</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Morganella morganii</i>
	<i>Pantoea ananatis</i>
	<i>Pantoea agglomerans</i>
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
	<i>Raoultella planticola</i>
	<i>Serratia fonticola</i>

The symbiotic microflora of the digestive tract of adult honeybees (*Apis mellifera*) consist of Gram-negative, Gram-positive and Gram-variable bacteria, moulds, and under some conditions also yeasts. The normal microflora is obtained from consumption of pollen, other food, and through contacts with older bees in the colony. The typical honeybee gut microflora are often consists of *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Bifidobacteria* (Kačániová et al., 2004).

Altogether, three bacterial genera were identified among Gram-positive and Gram-negative bacteria and they were *Lactococcus*, *Kocuria*, *Staphylococcus*, *Hafnia*, *Morganella*, *Pantoea*, *Raoultella* and *Serratia*. Scores of MALDI-TOF MS Biotyper identification of *Lactococcus garvieae* ranged from 2.015 to 2.026, *Kocuria kristinae* ranged from 2.035 to 2.563, *Staphylococcus capitis* ranged from 2.035 to 2.503, *Staphylococcus epidermidis* ranged from 2.050 to 2.445, *Staphylococcus haemolyticus* ranged from 2.152 to 2.341, *Staphylococcus hominis* ranged from 2.150 to 2.345, *Staphylococcus warneri* ranged from 2.053 to 2.545, *Hafnia alvei* ranged from 2.296 to 2.563, *Morganella morganii* from 2.198 to 2.578, *Pantoea ananatis* ranged from 2.196 to 2.363, *Pantoea agglomerans* ranged from 2.341 to 2.466, *Raoultella ornithinolytica* ranged from 2.051 to 2.550, *Raoultella planticola* ranged from 2.198 to 2.428 and *Serratia fonticola* from 2.190 to 2.251 that indicated the reliable identification of bacterial species.

Taxonomically, 53% of isolates belonged to Proteobacteria while 40% to *Firmicutes* phyla and 7% to *Actinobacterium* phyla. All the Gram-negative bacteria isolates belonged to Enterobacteriaceae family (100%) of *Proteobacteria* phylum. Gram-positive bacteria belonged to Lactococcaceae, Micrococcaceae, Staphylococcaceae of *Actinobacteria* and *Firmicutes* phylum. Unidentified Gram-variable pleomorphic bacteria and bacteria belonging to the genus *Bacillus* and the family Enterobacteriaceae are the most numerous microbes of the honeybee gut and our results were in agreement with previous findings (Rada et al., 1997, Kačániová et al., 2004). The intestinal flora of the honey bee is susceptible to various chemotherapeutics and its species composition varies seasonally, therefore the present study provide useful information on the content of gut microflora of honey bee obtained from the hives in Eastern Slovakia.

Altogether, 338 isolates from gut of 50 bees were originated. The Gram-positive and Gram-negative bacterial species recovered exhibited the antimicrobial resistance to the antibiotics. Gram-positive and Gram-negative bacterial showed the more frequently resistance to tigecycline (9.5%) and amikacin (8.2%). The resistance to gentamycin (6.5%) and chloramphenicol (4.1%) was observed less frequently (Table 2).

Table 2 Antibiotic susceptibility testing of bacteria isolated from bees gut

Antibiotic tested	AMK	GEN	TGC	CM
Resistance/Sensitivity	R/S	R/S	R/S	R/S
<i>Lactococcus garvieae</i>	0/15	0/15	0/15	0/15
<i>Kocuria kristinae</i>	5/35	2/38	3/37	0/40
<i>Staphylococcus capitis</i>	3/28	3/28	3/28	0/32
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2/23	4/21	5/20	1/24
<i>Staphylococcus haemoliticus</i>	0/20	0/20	2/18	2/18
<i>Staphylococcus hominis</i>	1/14	0/15	2/13	3/12
<i>Staphylococcus warneri</i>	2/8	0/10	2/8	1/9
<i>Hafnia alvei</i>	2/19	2/19	5/16	2/19
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2/30	3/29	2/30	1/31
<i>Morganella morganii</i>	0/23	1/22	3/20	1/22
<i>Pantoea ananatis</i>	4/30	2/32	3/31	1/33
<i>Pantoea agglomerans</i>	0/20	1/19	2/18	1/19
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2/10	2/10	0/12	0/12
<i>Raoultella planticola</i>	2/12	1/13	0/14	1/13
<i>Serratia fonticola</i>	3/22	1/24	0/25	2/23

AMK – amikacin (10 µg), GEN – gentamicin (10 µg), TGC – tigecycline (10 µg), CM – chloramphenicol (10 µg)

Several studies have shown that the use of antibiotics causes alterations in the microbiomes of humans and livestock. Therefore, the effects of antibiotic treatment on the honeybee gut microbiome are of major interest alongside with the importance of the gut microbiome in animal, including bees,

health (Koch and Schmid-Hempel, 2011; Engel et al., 2012; Lee et al., 2015; Schwarz et al., 2016) and in context with the unexplained decline of honeybee colonies (Robinson et al., 2010). This making the studies of composition and the pattern of antimicrobial resistance important for understanding the honey bees nutritional and health-related issues (Potts et al., 2010).

Conclusions

Bacteria from the family Enterobacteriaceae was predominant in gut microflora of *Apis mellifera*. Resistant Gram-positive and Gram-negative isolates are an issue of concerns with resistance to all the antimicrobials were implicated in the present study. Our study confirms that the gut of *Apis mellifera* can be a reservoir of pathogenic and resistant to antibiotics bacterial strains. Thus, is essential to continue studies on the composition and the antimicrobial resistance of the gut microflora isolates.

Acknowledgments

The study was funded by the European Community project No. 26220220180: Building Research Centre “AgroBioTech” and VEGA 1/0411/17.

References

- Ahn, J.H., Hong, I.P., Bok, J.I., Kim, B.Y., Song, J, et al. 2012. Pyrosequencing analysis of the bacterial communities in the guts of honey bees *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Korea. *Journal of Microbiology*, vol. 50, p. 735–745. DOI: [10.1007/s12275-012-2188-0](https://doi.org/10.1007/s12275-012-2188-0)
- Babendreier, D., Joller, D., Romeis, J., Bigler, F., Widmer, F. 2007. Bacterial community structures in honeybee intestines and their response to two insecticidal proteins. *FEMS Microbiological Ecology*, vol. 59, p. 600–610. DOI: [10.1111/j.1574-6941.2006.00249.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00249.x)
- Batra, L.R., Batra, S.W.T., Bohart, G.E. 1973. The mycoflora of domesticated and wild bees (Apoidea). *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, vol. 49, p. 13–44. DOI: [10.1007/BF02057445](https://doi.org/10.1007/BF02057445)
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., et al. 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, vol. 318, p. 283–287. DOI: [10.1126/science.1146498](https://doi.org/10.1126/science.1146498).
- Disayathanoowat, T., Young, J.P.W., Helgason, T., Chantawannakul, P. 2011. T-RFLP analysis of bacterial communities in the midguts of *Apis mellifera* and *Apis cerana* honey bees in Thailand. *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 79, p. 273–281. DOI: [10.1111/j.1574-6941.2011.01216.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01216.x)
- Engel, P., Martinson, V.G., Moran, N.A. 2012. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 109, p. 11002–11007. DOI: [10.4161/gmic.22517](https://doi.org/10.4161/gmic.22517)
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial susceptibility testing: Eucast disk diffusion method, version 3.0 from April 2013.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 5.0 valid from 2015-01-01.
- Evans, J.D., Lopez, D.L. 2004. Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, vol. 97, p. 752–756. DOI: [10.1603/0022-0493\(2004\)097\[0752:BPIAIR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2004)097[0752:BPIAIR]2.0.CO;2)
- Gilliam, M., Prest, D.B., Lorenz, B.J. 1989. Microbiology of pollen and bee bread: taxonomy and enzymology of molds. *Apidologie*, vol. 20, p. 53–68. DOI: [10.1051/apido:19890106](https://doi.org/10.1051/apido:19890106)
- Kačániová, M., Chlebo, R., Kopernický, M., Trakovická, A. 2004. Microflora of the Honeybee Gastrointestinal Tract. *Folia Microbiologica*, vol. 49, no. 2, p. 169–171. DOI: [10.1007/BF02931394](https://doi.org/10.1007/BF02931394)

- Koch, H., Schmid-Hempel, P. 2011. Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 108, p. 19288–19292. DOI: [10.1073/pnas.1110474108](https://doi.org/10.1073/pnas.1110474108)
- Lee, F.J., Rusch, D.B., Stewart, F.J., Mattila, H.R., Newton, I.L.G. 2015. Saccharide breakdown and fermentation by the honey bee gut microbiome. *Environmental Microbiology*, vol. 17, p. 796–815. DOI: [10.1111/1462-2920.12526](https://doi.org/10.1111/1462-2920.12526)
- Martinson, V.G., Danforth, B.N., Minckley, R.L., Rueppell, O., Tingek, S., et al. 2011. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Molecular Ecology*, vol. 20, p. 619–628. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2010.04959.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04959.x)
- McFrederick, Q.S., Wcislo, W.T., Taylor, D.R., Ishak, H.D., Dowd, S.E., et al. 2012. Environment or kin: whence do bees obtain acidophilic bacteria? *Molecular Ecology*, vol. 21, p. 1754–1768. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2012.05496.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05496.x)
- McFrederick, Q.S., Cannone, J.J., Gutell, R.R., Kellner, K., Plowes, R.M., et al. 2013. Specificity between Lactobacilli and Hymenopteran Hosts Is the Exception Rather than the Rule. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 79, p. 1803–1812 DOI: [10.1128/AEM.03681-12](https://doi.org/10.1128/AEM.03681-12)
- Mohr, K.I., Tebbe, C.C. 2006. Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field. *Environmental Microbiology*, vol. 8, p. 258–272. DOI: [10.1111/j.1462-2920.2005.00893.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00893.x)
- Moran, N.A., Hansen, A.K., Powell, J.E., Sabree, Z.L. 2012. Distinctive Gut Microbiota of Honey Bees Assessed Using Deep Sampling from Individual Worker Bees. *PLoS One*, vol. 7, e36393 Available: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0036393>. DOI: [10.1371/journal.pone.0036393](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036393)
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 25, p. 345–353. DOI: [10.1016/j.tree.2010.01.007](https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007)
- Rada, V., Máčková, M., Huk, J., Marounek, M., Dušková D. 1997. Microflora in the honeybee digestive tract: counts, characteristics and sensitivity to veterinary drugs. *Apidologie*, vol. 28, p. 357–365. DOI: [10.1051/apido:19970603](https://doi.org/10.1051/apido:19970603)
- Robinson, C.J., Bohannan, B.J.M., Young, V.B. 2010. From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities. *Microbiology and Molecular Biology Review*, vol. 74, p. 453–476. DOI: [10.1128/MMBR.00014-10](https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-10)
- Rosenberg, E. Zilber-Rosenberg, I. 2011. Symbiosis and development the hologenome concept. *Birth Defects Research Part C*, vol. 93, p. 56–66 DOI: [10.1002/bdrc.20196](https://doi.org/10.1002/bdrc.20196)
- Sabree, Z.L., Hansen, A.K., Moran, N.A. 2012. Independent Studies Using Deep Sequencing Resolve the Same Set of Core Bacterial Species Dominating Gut Communities of Honey Bees. *PLoS One* 7: e41250 Available: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0041250>
- Singh, R., Levitt, A.L., Rajotte, E.G., Holmes, E.C., Ostiguy, N., et al. 2010. RNA Viruses in Hymenopteran Pollinators: Evidence of Inter-Taxa Virus Transmission via Pollen and Potential Impact on Non-Apis Hymenopteran Species. *PLoS One*, vol. 5, e14357 Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov>. DOI: [10.1371/journal.pone.0014357](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014357)
- Schwarz, R., Moran, N.A., Evans, J.D. 2016. Early gut colonizers shape parasite susceptibility and microbiota composition in honey bee workers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 113, p. 9345–9350. DOI: [10.1073/pnas.1606631113](https://doi.org/10.1073/pnas.1606631113)



UNDERUTILIZED MEDICINAL SPECIES OF *CRAMBE* L. OF THE FLORA OF UKRAINE

Kalista Mariia

National Museum of Natural History of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

It was pointed out that 8 species of the genus *Crambe* L. are in the flora of Ukraine. All of them are subject of protection at the different levels, therefore they should be cultivated for their conservation. The species of the genus *Crambe* are mostly semirossette caudex perennial herbaceous polycarpic. Different representatives have inflorescences from 0.4 to 1.5–2.5 m length, which gives them a special decorative value. The chemical-biological features of these species show the necessity for their widespread introduction and cultivation in farming. They are promising for use in fodder, food, decorative and medicinal purposes. It was shown that cultivation of these species is easy and doesn't need many investments of money. These plants have a significant ability to grow after mowing. Low temperatures of germination of seeds are most important adaptations to the cool early spring period, which is good for growing under weather condition of Ukraine. Seeds of *Crambe* species keep their viability for 5 years or more. The norm of sowing is 5 kg of seeds per hectare. These species is adapted very well to the lack of moisture. Most species of *Crambe* were tested as forage plant, they shows easy process of cultivation and reach yields. Growing them for medicinal purpose (to extract vitamins and very important for human health substances) is very perspective for farming, because they content linoleic and linolenic acids, vitamin C and B₁, carotene, and *Crambe koktebelica* has the antioxidant activity. Three species are cultivated *in vitro* and biochemical composition of their *in vitro* plants was found out and it showed significantly high content of important substances for medicine.

Keywords: *Crambe* L.; rare species; medicinal plant; seed germination; farming

Introduction

There are 8 species of the genus *Crambe* L. in the flora of Ukraine (Льїнська та ін., 2007): *Crambe aspera* M. Bieb., *Crambe grandiflora* DC., *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch, *Crambe maritima* L., *Crambe mitridatis* Juz., *Crambe pinnatifida* W. T. Aiton, *Crambe steveniana* Rupr. and *Crambe tataria* Sebeòk. All of them are subject of protection at the state level, because they are listed in the Red Book of Ukraine (Червона книга..., 2009) as vulnerable species, and *Crambe koktebelica* as rare species. Such species as *Crambe grandiflora* and *Crambe koktebelica* are also protected by the International Union for Conservation of Nature and they have categories DD – Data Deficient (EU), NE – Not Evaluated (EU 27) (The IUCN Red List..., 2013). Three species have categories DD – Data Deficient (EU), NE – Not Evaluated (EU 27) (*Crambe grandiflora*, *Crambe koktebelica*, *Crambe steveniana*), two species have category LC – Least Concern (EU, EU 27) (*Crambe maritima*, *Crambe tataria*) and *Crambe aspera* has categories VU – Vulnerable (EU), NE – Not Evaluated (EU 27) in The European Red List (Bilz et

*Corresponding author: Mariia Kalista, National Museum of Natural History of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ crambe@ukr.net

al., 2011). It should be mentioned that there are not enough data to make an assessment of risk of extinction or it has not yet been evaluated against the criteria for majority of protected species. That's why these species need to be investigated in detail in natural habitats. It should also be noted that *Crambe koktebelica* and *Crambe tataria* are protected by the Bern Convention (Convention on..., 2013).

However, not only the high zoological status of all representatives of the genus *Crambe* of the flora of Ukraine indicates the need for their widespread introduction and cultivation, but also the chemical-biological features of these species that make them promising for use in fodder, food, decorative and medicinal purposes (Калистая, 2016). This genus is one of important germplasms for vegetable production and industrial uses of its oil (Rudloff and Wan, 2011).

Materials and methodology

The literature data about chemical composition of 8 species (*Crambe aspera*, *Crambe grandiflora*, *Crambe koktebelica*, *Crambe maritima*, *Crambe mitridatis*, *Crambe pinnatifida*, *Crambe steveniana* and *Crambe tataria*) of the genus *Crambe* in the flora of Ukraine are analysed for purpose of using them in farming as medicinal plants.

Results and discussion

Species of the genus *Crambe* are mostly semirossette caudex perennial herbaceous polycarpic (only *Crambe koktebelica* is mostly conodial perennial monocarpic) (Калиста та Щербакова, 2012a) with massive smooth (with bluish bloom) or with varying degrees of pubescence, which turn into the flowering phase at the age of 2–5 year. Different representatives have inflorescences from 0.4 to 1.5–2.5 m length, which gives them a special decorative value. Fruits are large single-seeded pods with varied surface structure. The root system is pivotal, about 5 m long with several massive lateral skeletal roots, due to which they adapt very well to the lack of moisture.

Crambe aspera has vitamin C and carotene in the aerial parts (Амирханов и др., 1974), as well as such flavonoids as glycosides of quercetin and kaempferol. Seeds contain 25% fatty oil. Roots and young shoots (mature hard and strongly pubescent) of this species are used for edible purposes as a vegetable, and in boiled form as an asparagus. Also, the plant was tested as fodder and source of vitamins in Uzbekistan (Амирханов, 1974; Амирханов и др., 1978).

Crambe grandiflora is a vitamin, decorative, fodder, edible and anti-erosive species (Червона книга..., 2009), a purposeful study of its chemical properties, unfortunately, was not carried out, but it also has a very high potential for cultivation.

The leaves of *Crambe koktebelica* (incl. *C. mitridatis*) contains vitamin C and carotene (Амирханов и др., 1974), and their seeds have about 21% of fatty oil with oleic, erucic, linoleic, eicosinic, linolenic, palmitic, eicosalic, stearic, palmitolenic and myristic higher fatty acids (Доля и др, 1977). The species was tested as fodder in Uzbekistan (Амирханов и др., 1978) Also it shows antibacterial activity (Дикорастущие растения..., 2001), therefore it is promising for medicinal purposes (Калиста, 2013). It was also shown that aseptic cultivation of this species benefits to saturated fatty acid accumulation and increases protein content but on the other hand it reduces unsaturated fatty acid amount and polyfructan content as well as antioxidant activity of plant material. Obtained data confirms the prospect of biotechnology approach to biodiversity conservation and suggest the necessity of further *in vitro* cultivation effect on biochemical composition of plant (Pushkarova et al., 2016a).

Crambe maritima contains such flavonoids as quercetin glycoside and kemiferol in the aerial parts and vitamin C, B₁ and carotene in the leaves (Амирханов и др., 1974), and its seeds contain 45% of fatty oil, which contains erucic, oleic, linoleic, arachine, linolenic, palmitic, eicosenic, stearic acids. У Etiolated shoots of *Crambe maritima* is mainly used for food and leaves are eaten as salads, boiled shoots is used as asparagus (Растительные ресурсы..., 1985). Probably, this species was known even in ancient Rome, and from the XVII century and it began to be used as a delicious vegetable in England, France and the colonies of North America (Rudloff, Wan, 2011). This species is a honeycomb and an ornamental plant (Растительные ресурсы..., 1985). *Crambe maritima* was also tested as fodder in the arid zone of Uzbekistan (Амирханов и др., 1978).

Crambe pinnatifida contains erucic, oleic, linoleic, linolenic, eicosenic, lignoceric, docosaenoic, palmitic, eicosalic and myristic acids in the fatty oil of its seeds (Доля и др, 1977). Its shoots, leaves and roots are used for food (Дикорастущие растения..., 2001; Растительные ресурсы..., 1985).

Crambe steveniana has vitamin C in its roots (Растительные ресурсы..., 1985), and its seeds have about 19% of fatty oil containing erucic, linoleic, oleic, eicosenic, palmitic, lignoceric, docosadenoic, palmitolenic and myristic acids (Доля и др, 1977). Its roots are used for food as an acute seasoning (Растительные ресурсы..., 1985). It was also tested as a feed in Uzbekistan (Амирханов и др., 1978). The high α -linolenic acid amount in the samples from *in vitro* grown plants was established. Significantly high erucic acid content was shown for seed samples (Пушкарьова та ін., 2016).

Crambe tataria contains vitamin C and carotene in its leaves (Амирханов и др., 1974), and seeds to have 43% fatty oils with oleic, linoleic, linolenic, eicosenoic, linoleic, palmitic, eicosadinoic, stearic, arachidic, palmitoleic and myristic acids (Доля и др, 1977). There is a lot of starch, sugars, many vitamins – ascorbic acid, thiamin, riboflavin, nicotinic acid, rutin, and mineral salts in the roots (Дудченко и др, 1989). Caudexes accumulates calcium (Дикорастущие растения..., 2001). Its roots have medicinal action as therapeutic general restorative (especially for children) (Растительные ресурсы..., 1985). According to their taste and nutritional qualities, the roots and caudexes approach the common horseradish (*Armoracia rusticana* P. Gaertn., B.Mey. & Scherb.) and they are widely used in cooking in raw and canned form, in various sauces and salads (Циунель, 2008). The shoots and young leaves of *Crambe tataria* (matured is very hard and densely pubescent) are used as lettuce or asparagus (Растительные ресурсы..., 1985). Fat oil from its seeds is suitable for soap making, it is also used for food, despite the bitter taste, which resembles the taste of redhead oil. The plant has phytoncidal properties (Дудченко и др., 1989). Also, the species was tested as a forage plant in Uzbekistan (Амирханов и др., 1978) and it can be used as a feed for large and small cattle. Fat oil from seeds is suitable for soap making, it is also used for food, despite the bitter taste, which resembles the taste of redhead oil. The plant has phytoncidal properties (Dudchenko et al, 1989). Also, the species was tested as a forage plant in Uzbekistan (Amirkhanov et al, 1978) and it can be used as a feed for large and small cattle. *Crambe tataria in vitro* plants had high AOA and total soluble protein content along with high total FA content along with high content of α -Linolenic acid and absence of erucic acid. (Pushkarova et al., 2016).

The seeds of representatives of the genus *Crambe* germinate only after a long stratification – the influence of low temperatures and moisture, which destroy its veils. Therefore, it is better to sow these plants in the autumn (the optimal period is the beginning of October and the end of November). Based on the results of our research (Канисра і Щепбакова, 2012b), the stratification of seeds during the day at 0 °C provides 5% germination on the 41st day, and when the seeds are soaked for 24 hours at 0 °C, followed by removal of the seed coat – 95% germination on 5 day after embryo planting in

Petri dishes. The rest of the seeds is due solely to the effect of the inhibitors of integuments (Коломиец и др., 1968), and not the embryo, therefore, when the veils are removed, the embryos germinate without cold stratification. Spermoderm, due to the presence of phenolic inhibitors, restricts the flow of water to the embryo, which in natural places of growth under conditions of insufficient moisture supply prevents the germination of seeds in the soil.

Most species of *Crambe* were tested as a forage plant in Uzbekistan, they shows easy process of cultivation and reach yields (Амирханов, 1974). Therefore cultivation them for medicinal purpose (to extract vitamins and very important for human health acids of fat oil) is very perspective for farming.

Conclusions

Representatives of the genus *Crambe* of the flora of Ukraine are very promising for vegetable growing, industrial use of oil, due to its relatively high content in seeds, as a very useful, vitamin-containing feed for livestock, and some species as a source of substances for medicinal purposes. All species are also especially ornamental plants. The chemical-biological features of these species show the necessity for their widespread introduction and cultivation in farming. They are promising for use in fodder, food, decorative and medicinal purposes. It was shown that cultivation of these species is easy and doesn't need many investments of money.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» and within the project ITMS 25 110 320 104.

References

- Bilz, M., Kell, S.P., Maxted, N., Lansdown, R.V. 2011. *European Red List of Vascular Plants*. Luxembourg. 130 p.
- Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. 2013. Access mode: <http://conventions.coe.int/Treaty/Commun/QueVoulezVous.asp?NT=104&CM=8&DF=06/08/2013&CL=ENG>
- Pushkarova, N., Kalista, M., Kharkhota, M., Rakhmetov, D., Kuchuk, M. 2016b. *Crambe tataria* Sebeók seeds and plants grown *in vitro* and *in vivo* fatty acid composition comparison. *Potravinarstvo*, vol. 10, no. 1, p. 489–498. DOI: 10.5219/646.
- Pushkarova, N.O., Kalista, M.S., Kharkhota M.A., Rakhmetov, D.B., Kuchuk, M.V. 2016a. Biotechnological approaches for conservation of the endangered species *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch and effect of aseptic *in vitro* cultivation on its biochemical properties. *Biotechnologia Acta*, vol. 9, no. 4, p. 19–27. <https://doi.org/10.15407/biotech9.04.019>
- Rudloff, E., Wan, Y. 2011. *Crambe. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Oilseeds. Berlin. 295 p.
- Амирханов, Н.А. 1974. Катран (*Crambe* (Tourn.) L.) в Узбекистане : автореф. диссертации. Ташкент : ТОТКЗГУ им. В.И. Ленина. 41 с.
- Амирханов, Н.А., Мукумов, Х.Р., Хамракулов, Ш.С. 1974. Содержание витаминов и макроэлементов в некоторых видах *Crambe* L. *Растительные ресурсы*, т. 10, вып. 3, с. 422–426.
- Амирханов, Н.А., Хамракулов, Ш.С., Мукумов, Х.Р. 1978. Некоторые итоги интродукции видов рода Катран в Узбекистане. *Тезисы Всесоюзного совещания по технологии возделывания новых кормовых культур*, ч. 2, с. 32–34.
- Дикорастущие полезные растения России*. 2001. Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. Санкт-Петербург. 663 с.

- Доля, В.С., Шкурупий, Е.Н., Каминский, Н.А., Магеря Е.Д. 1977. Масла семян девяти видов рода *Crambe*. *Химия природных соединений*, №1, с. 18–20.
- Дудченко, Л.Г., Козьяков, А.С., Кривенко, В.В. 1989. *Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения*. Киев. 304 с.
- Ільїнська, А.П., Дідух, Я.П., Бурда, Р.І., Коротченко, І.А. 2007. *Екофлора України*. Київ, т. 5. 584 с.
- Калистая, М.С. 2015. Перспективы культивирования некоторых представителей рода *Crambe* L. (Brassicaceae Burnett). *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*, Nitra, part 1, p. 318–321.
- Каліста, М.С. 2013. Перспективи інтродукції та особливості культивування катрана коктебельського – *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch (Brassicaceae Burnett). *Нетрадиционные, новые и забытые виды растений: теоретические и практические аспекты культивирования*. Київ : Книгоноша, с. 54–55.
- Каліста, М.С., Щербакова, О.Ф. 2012а. Біоморфогенез *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch в умовах Карадзького природного заповідника. *Інтродукція рослин*, № 4, с. 16–24.
- Каліста, М.С., Щербакова, О.Ф. 2012b. Особливості насіннєвого розмноження та репродуктивна стратегія *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch. *Вісті Біосферного заповідника «Асканія Нова»*, т. 14, с. 440–447.
- Коломиец, И.А., Парфенова, Т.М., Теплицкая, Е.В. 1968. Физиологические особенности покоя и прорастания семян катрана сердцелистного. *Физиология растений*, т. 15, № 6, с. 979–987.
- Пушкарьова, Н.О., Каліста, М.С., Белокурова В.Б., Кучук М.В. 2016. Отримання культури рослин *in vitro* зникаючого виду *Crambe steveniana* та вивчення впливу асептичних умов культивування на їх біохімічний склад. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Series "Biology"*, № 27, с. 155–162.
- Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Раеопіасеae – Thymelaeaceae*. 1985. Отв. ред. П.Д. Соколов. Ленинград. 336 с.
- Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Раеопіасеae – Thymelaeaceae*. Отв. ред. П.Д. Соколов. Ленинград. 336 с.
- Циунель, М. 2008. Заменитель хрена. *Приусадебное хозяйство*, №6, с. 40.
- Червона книга України. Рослинний світ. 2009. Під заг.ред. Я.П. Дідуха. Київ. 900 с.



STUDIES OF ECOTOXICITY OF HERBICIDES TO INFLUENCE THE SOIL FAUNA

Khyzhnyak Svitlana*, Sterlikova Oksana, Poloschyk Sergiy, Bulanchuk Yuliya, Samkova Oksana

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ГЕРБИЦИДІВ ЗА ЇХ ВПЛИВОМ НА ГРУНТОВУ ФАУНУ

Хижняк Світлана, Стерлікова Оксана, Поліщук Сергій, Буланчук Юлія, Самкова Оксана

Received 23. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The study of the ecotoxicity of post-emergence and pre-emergence herbicides, which are related to organochlorine pesticides, was carried out. The test objects of the soil fauna were used, since the regulation of the safe use of plant protection products requires an examination of their influence on the soil biota. During the laboratory biotesting the representatives of soil invertebrates – earthworms *Eisenia fetida*, which play an important role in soil-forming processes, were used as the test object. The changes of the functional status of soil microorganisms (the number of basic taxonomic, ecological, trophic and physiological groups of microorganisms, the biomass of soil microorganisms, the potential nitrification ability of the soil) were also monitored. Differences in the ecotoxicity of herbicides A, CE (active ingredient – acetochlor, 900 g/l) and K, RK (active ingredient – clopyralid, 300 g/l) were revealed in terms of the median lethal concentration (LC_{50} , 14 days) for a representative of soil mesofauna *Eisenia fetida* and the effects on soil microorganisms. The preparation A (a.i. acetochlor) according to a defined value of the median lethal concentration which is 479 mg/kg of substrate (under artificial substrate conditions) for the use of *Eisenia fetida* is classified as slightly toxic (hazard class III). The obtained results allow to assume the potential ecological risks for the stable functioning of the microbiocenosis with the use of the preparation A (a.i. acetochlor) in conditions of a typical black soil. When using the preparation K (a.i. clopyralid) there is no effect on the survival rate of *Eisenia fetida*. There are also no significant changes in the quantitative-group composition of the microbial cenosis under conditions of dark gray soil and the typical black soil, no changes in the index of the total biomass of the metabolically active pool of microorganisms and the potential of nitrate accumulation. This indicates its safety in compliance with the recommended application rates. Attention is focused on the high content of the active substance of herbicide A (a. i. acetochlor), compared with K (a.i. clopyralide), its use as an emulsion concentrate, which, along with the proposed high pesticide load, creates potential environmental risks of this preparation for soil fauna.

Keywords: agroecosystem; pesticide; ecotoxicity; soil fauna; test-objects

*Corresponding author: Svitlana Khyzhnyak, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ khs2014@ukr.net

Вступ

Агроценози – штучні екосистеми, які створюються та контролюються людиною, та, на відміну від природних екосистем, не відрізняються видовим різноманіттям. Як правило в них культивується певний вид рослин, а з іншими видами борються шляхом використання пестицидів. Очевидним є факт загрози цих препаратів не лише для видів-мішеней, але як для корисних культур (Butani and Shukla, 1994; Arif and Vahidy, 1996; Танский, 1998) так і агроценозу в цілому (Харина, 2000).

У зв'язку з цим проведення досліджень з визначення токсичності пестицидів, залишається актуальним напрямком прикладної екології. В даному аспекті регламентація безпечного використання засобів захисту рослин, окрім дослідження фітотоксичності, потребує експертизи їх впливу на ґрунтову біоту. Типовими представниками ґрунтових безхребетних є земляні черви *Eisenia fetida*, для яких ґрунт – це середовище для існування, росту і розвитку. Відіграючи важливу роль у ґрунтоутворюючих процесах, ці організми є чутливими індикаторами змін стану середовища існування, що дозволяє використовувати їх як тест-об'єкти при проведенні біотестування (Танский, 1998; Харина, 2000). Крім того, при обґрунтуванні екологічної безпечності агровиробничого застосування хімічних препаратів важливо визначити їх вплив на мікробні ценози ґрунту, відслідковувати зміни функціонального статусу ґрунтових мікроорганізмів.

Мета даної роботи – порівняльне дослідження екотоксичності гербіцидів різних хімічних груп та препаративних форм за їх впливом на ґрунтову фауну.

Матеріали та методи

Вплив препаратів на мікробні ценози ґрунту оцінювали за наступними показниками:

1. чисельність основних таксономічних, еколого-трофічних та фізіологічних груп мікроорганізмів;
2. біомаса ґрунтових мікроорганізмів (ДСТУ 14240-2:2003);
3. потенційна нітрифікаційна здатність ґрунту (ДСТУ ISO 14238:2003).

Для проведення мікробіологічних аналізів відбирали наважки ґрунту (маса 300 г), зволожували до 65 – 70 % повної вологості, з метою стабілізації мікробіологічних процесів, та компостували протягом 3 діб, а потім обробляли водним розчином досліджуваного препарату. Контролем слугував відповідний тип ґрунту зволожений еквівалентним об'ємом стерильної дистильованої води. Дослідні і контрольні зразки компостували протягом 14 діб. Після інкубації визначали чисельність основних таксономічних, фізіологічних та еколого-трофічних груп та активність біологічних процесів ґрунту.

Для визначення чисельності ґрунтової мікробіоти проводили висів ґрунтової суспензії на агаризовані поживні середовища (Звягинцев, 1991). Кількість мікроорганізмів виражали в колоній-утворюючих одиницях (КУО) на один грам абсолютно сухого ґрунту з урахуванням коефіцієнту вологості та розведення ґрунтової суспензії.

Досліджували поведінкову реакцію *Eisenia fetida* та визначали (LC_{50} , 14 діб) препаратів за показником відсотку смертності черв'як із застосуванням штучного субстрату згідно (ДСТУ ISO 11268-1:2003). Тестовими об'єктами слугували дорослі статевозрілі особини ґрунтових черв'як *Eisenia fetida*, віком від 2 місяців, вагою від 300 до 500 мг. Штучний субстрат наступного складу: тонко розмелений сфагновий торф – 10 %; каолінова глина – 20 %; промисловий кварцовий пісок – 70 % вмісту на суху масу. Субстрат готували за добу до початку досліджень. Субстрат загальною масою 500 г (за сухою речовиною) поміщали у скляний контейнер місткістю 2 дм³ та перемішували з розчинами препаратів у відповідних концентраціях. Контрольним варіантом слугував штучний субстрат зволожений дистильованою водою. Надалі у кожному з контейнерів розміщували по 10 особин тест-об'єктів *Eisenia fetida*. Дослід проводили у чотирьохкратній повторності, його тривалість становила 14 днів.

Об'єктом дослідження слугували сучасні препарати:

1. гербіцид А, КЕ (діюча речовина – ацетохлор, 900 г/дм³) – концентрат емульсії, селективний доскодовий гербіцид, який використовується шляхом внесення до ґрунту, для знищення однорічних одно- і дводольних бур'янів на посівах сої, кукурудзи, соняшнику. Максимальна норма витрат 2,0 – 3,0 дм³/га при однократній обробці;
2. гербіцид К, РК (діюча речовина – клопіралід, 300 г/ дм³) – розчинний концентрат, системний післясходовий гербіцид з високою активністю по відношенню до бур'янів, стійких до арилоксиалканкарбонових кислот та їх похідних, а також вибірковістю по відношенню до зернових, культур родин крестоцвітних, льону та цукрових буряків. Поглинається рослинами як листям та корінням, так, можливо, лише листям (Куликова, 2010). Максимальна норма витрат 0,5 дм³/га при однократній обробці.

Робочі розчини препаратів готували безпосередньо перед експериментом.

Для обробки первинних результатів досліджень використовували статистичні методи аналізу із застосуванням стандартного пакета програми MS Excel. Визначення половинної медіанної летальної концентрації (LC₅₀) препарату здійснювали з використанням методу пробіт-аналізу (Платонов, 2010).

Результати та їх обговорення

Проведено дослідження впливу гербіциду А (д.р. – ацетохлор) в концентраціях 200, 400, 600, 800 та 1 000 мг/кг субстрату на черви за досліджуваними показниками. Спостереження за поведінковими реакціями особин показали, що за концентрації препарату 200 мг/кг субстрату будь-яких змін не відбувається. Черви були рухливі та однаково реагували як на світлове, так і на механічне подразнення. При концентраціях препарату від 400 мг/кг субстрату та вище черви на початку досліду не заривалися в субстрат протягом 2 – 3 год, повзали по поверхні субстрату або були скручені в клубок. На 7 день експозиції за концентрації препарату від 400 мг/кг субстрату і вище спостерігалось зниження рухливості червів, загальмованість їх реакції на світлове і механічне подразнення. Крім того, за концентрації 600 мг/кг субстрату спостерігалась 17,5 ± 0,3 % ($P < 0,05$) загибель тест-організмів, а за концентраціях 800 та 1 000 мг/кг субстратів відмічена 100 % загибель організмів. На 14 день експозиції спостерігалась 65,5 ± 0,4 % ($P < 0,05$) та 57,2 ± 0,3 % ($P < 0,05$) загибель тест-організмів за концентраціях препарату 400 та 600 мг/кг субстрату відповідно.

Визначена величина медіанної летальної концентрації (LC₅₀) на 14 добу експозиції становить 479 мг/кг. Згідно класифікації (Руководство по классификации экологической опасности пестицидов, 2010) досліджуваний препарат за використання тест-організмів належить до слаботоксичних (клас небезпечності III).

Аналогічно проведено дослідження впливу гербіциду К (д.р. клопіралід) в концентраціях 10, 100 та 1000 мг/кг субстрату на черви. Спостереження за поведінковими реакціями дослідних особин показали, що на початку досліду, як і в контрольному варіанті, черви не заривалися в субстрат протягом 15 – 20 хв. На 7 день експозиції у всіх дослідних та контрольній групах загибелі тест-організмів або інших змін не було виявлено. На 14 день експозиції загибелі тест-організмів не було виявлено, черви реагували на механічне та світлове подразнення, як у контрольному варіанті. Тобто негативного впливу на поведінкові реакції червів не виявлено.

Визначена величина медіанної летальної концентрації (LC₅₀) за 14 діб експозиції була більшою за 1 000 мг/кг субстрату. Згідно класифікації (Руководство по классификации экологической опасности пестицидов, 2010) за використання тест-організмів, досліджуваний препарат належить до практично нетоксичних та малонебезпечних препаратів (клас небезпечності IV).

Дослідження функціонування мікробного ценозу ґрунту – є одним з діагностичних критеріїв оцінки його екологічного стану та родючості, а з іншого боку використовується для оцінки екотоксичності гербіцидів. В роботі досліджували чисельність основних таксономічних, фізіологічних та еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів (амоніфікуючі, амілолітичні, педотрофні, оліготрофні, фосформобілізуючі, актиноміцети, міксоміцети).

За впливу препарату А (д.р. ацетохлор) спостерігали токсикологічний вплив щодо мікроміцетів та оліготрофних мікроорганізмів в умовах чорнозему типового, чого не спостерігали в умовах темно сірого ґрунту. Для препарату К (д.р. клопіралід) не виявлено впливу на чисельність основних таксономічних, фізіологічних та еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів в умовах чорнозему типового та темно-сірого ґрунту.

Один з важливих показників активності мікробіологічних процесів – продуктивність ґрунтових мікроорганізмів. Мікробна біомаса має надзвичайне значення у процесах колообігу речовин та енергії, геохімічних перетвореннях елементів у трофічних ланцюгах. За отриманими результатами впливу препарату А (д.р. ацетохлор) біомаса мікроорганізмів знижується на 12 % відносно контролю в умовах чорнозему типового. Для препарату К (д.р. клопіралід) не виявлено впливу на біомасу мікроорганізмів (табл. 1).

Таблиця 1 Показники екотоксичності гербіциду А (д.р. ацетохлор, 900 г/л) та К (д.р. клопіралід, 300 г/л) за впливу на ґрунтову фауну

Table 1 Indices of ecotoxicity of herbicides А (a.i. acetochlor, 900 g/l) and К (a.i. clopyralid, 300 g/l) by their influence on soil fauna

Варіант досліджу	А, КЕ (д.р. ацетохлор, 900 г/ дм ³)	К, КС (д.р. клопіралід, 300 г/дм ³)
Медіанна летальна концентрація (LC ₅₀ , 14 діб) для <i>Eisenia fetida</i>	479 мг/кг субстрату	>1 000 мг/кг субстрату
Потенційна нітрифікаційна здатність ґрунту, мг N-NO₃/кг ґрунту		
В умовах чорнозему типового		
Контроль	96,7 ±24,51	128,6 ±17,15
Дослід	247,7 ±37,15*	126,5 ±18,18
В умовах темно-сірого ґрунту		
Контроль	127,6 ±19,15	126,6 ±18,05
Дослід	126,5 ±18,98	125,1 ±18,76
Біомаса ґрунтових мікроорганізмів, мкг С/г сухого ґрунту		
В умовах чорнозему типового		
Контроль	252,9 ±13,56	253,1 ±13,50
Дослід	221,8 ±6,80*	248,7 ±6,80
В умовах темно-сірого ґрунту		
Контроль	75,2 ±0,10	70,2 ±0,14
Дослід	70,8 ±3,17	73,3 ±3,11

* P <0,05 порівняно з контролем

Нітрифікаційна здатність ґрунту, яка є об'єктивним показником впливу хімічних препаратів на ступінь ґрунтової родючості, за впливу препарату А (д.р. ацетохлор) знижується на 17 % відносно контролю в умовах чорнозему типового.

Таким чином, отримані результати дозволяють припустити потенційні екологічні ризики для стабільного функціонування мікробоценозів при застосуванні препарату А (д.р. – ацетохлор) в умовах чорнозему типового. На фоні застосування препарату К (д.р. клопіралід) не відбувається істотних зрушень кількісно-групового складу мікробного ценозу досліджуваних

ґрунтів, показника загальної біомаси метаболічно активного пулу мікроорганізмів та потенціалу нітратонакопичення, що свідчить про його безпечність при дотриманні рекомендованих норм внесення.

При використанні пестицидів необхідно враховувати їх препаративні форми та рекомендовані норми витрат. Зокрема А (д.р. ацетохлор) використовують у вигляді концентрату емульсії (КЕ), препаративна форма, що містить 90 % діючої речовини, а також розчинники та емульгатори. Внаслідок високої концентрації препарат здатен викликати пошкодження рослин, він легко проникає крізь шкіру тварин, зокрема епідерміс шкіри черв'як чи їх травний канал, що призводить до прояву токсичної дії. Препарат К (д.р. клопіралід) – розчинний концентрат (РК), що містить 30 % діючої речовини. Згідно рекомендованої максимальної норми внесення використання гербіциду А (д.р. ацетохлор) обумовлює більше пестицидне навантаження у порівнянні з К (д.р. клопіралід).

Висновки

Порівняльне дослідження екоотоксичності досходового А, КЕ (діюча речовина – ацетохлор, 900 г/дм³) та післясходового К, РК (діюча речовина – клопіралід, 300 г/дм³) гербіцидів, які належать до хлорорганічних пестицидів, показало відмінності за їх впливу на тест-організми представників ґрунтової фауни (мікроорганізми та ґрунтові черви). Отримані результати дозволяють припустити потенційні екологічні ризики гербіциду А, КЕ (діюча речовина – ацетохлор, 900 г/дм³) для ґрунтової фауни.

Література

- Arif, M., Vahidi, A.A. 1996. Toxicity of fungicides Nimrod and Dithane M-45 on mitotic cells of *Allium cepa* L. Phillip. *J. Sci.*, vol. 125, no. 4, p. 271–289. ISSN 0031-7683.
- Butani, J.V., Shukla, P.T. 1994. Cytological effects of pesticides on onion (*Allium cepa* L.) root tip Gujarat. *Agr. Univ. Res. J.*, vol. 20, no. 1, p. 60–65. ISSN 0250-5193.
- ДСТУ 14240-2:2003. *Якість ґрунту. Визначення ґрунтової мікробної біомаси. Частина 2: Фумігаційно-екстракційний метод*. 2004. К.: Держспоживстандарт України. 8 с.
- ДСТУ ISO 14238:2003. *Якість ґрунту. Біологічні методи. Визначання мінералізації азоту і нітрифікації в ґрунтах та впливу хімічних речовин на ці процеси*. 2004. К.: Держспоживстандарт України. 8 с.
- ДСТУ ISO 11268-1:2003 (ISO 11268-1:1993, IDT). *Якість ґрунту. Вплив забрудників на земляних черв'яків (*Eisenia fetida*). Частина 1. Визначання гострої токсичності з використанням штучного субстрату*. 2004. К.: Держспоживстандарт України. 8 с.
- Куликова, Н.Ф. 2010. *Гербициды и экологические аспекты их применения*. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». 152 с. ISBN 978-5-397-01431-1.
- Методы оценки экологической безопасности пестицидов при их регистрации* (Руководство по классификации экологической опасности пестицидов). 2010. *Большие Вяземы*. 14 с.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии*. Под ред. Д.Г. Звягинцева. 1991. М.: Изд. МГУ. 304. ISBN 5-211-01675-0.
- Платонова, А.Г. Ахалая, М.А. 2010. *Применения метода пробит-анализа в радиобиологии. Расчет полулетальной дозы ЛД50*. М.: НИЯУМИФИ. 36 с.
- Таинский, В.И., Логинова, Л.Н., Солдатова, Н.К. 1998. Влияние инсектицидов на некоторые физиолого-морфологические показатели и продуктивность зерновых культур. *Агрохимия*, № 5, с. 79–85. ISBN 0002-1881.
- Харина, С.Г. 2000. Воздействие интенсивного применения средств химизации на агроэкосистемы Верхнего Приамурья. *Агро*, т. XXI, № 7, с. 17.



DIRECTIONS OF BREEDING OF GRAIN SORGHUM IN THE LOWER VOLGA REGION OF RUSSIA

**Kibalnik Oksana*, Semin Dmitry, Gorbunov Vyacheslav,
Zhuzhukin Valery, Efremova Irina, Kukoleva Svetlana,
Starchak Victoria, Arhipov Aleksey, Kameneva Olga**

Federal State Budgetary Scientific Institution Russian Research and Design Institute of sorghum
and corn "Rossorgo", Russia

НАПРАВЛЕНИЯ СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВОГО СОРГО В НИЖНЕВОЛЖСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

**Кибальник Оксана, Семин Дмитрий, Горбунов Вячеслав,
Жужукин Валерий, Ефремова Ирина, Куколева Светлана,
Старчак Виктория, Архипов Алексей, Каменева Ольга**

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Sorghum bicolor L. Moench is a versatile crop, corn which is used for forage and fodder (for feeding agricultural animals, birds, fishes), as well as a source of raw materials for the food processing industry. Especially important is the cultivation of sorghum in the lower Volga region of Russia, characterized by frequent soil and air droughts. In "Rossorgo" scouting for earliness, high yield, improved grain quality, resistance to diseases and pests. The test sorghum genotypes were conducted at the experimental field of center "Rossorgo" in 2014–2016. All records of productivity elements of productivity and biochemical evaluation of grains are made according to standard techniques. The results of long-term work were identified and approved for use in the lower Volga region 12 varieties and 2 hybrids of sorghum. Varieties Pischevovoe 35, Pischevovoe 614, Kremovoe, Fakel can be used in the food industry. Grits from grain of sorghum has a higher ratio of the cooking property in comparison with cereals from other cultures. The early-maturing varieties Perspektivny 1 and Start, intended for planting with different width of spacing – 15, 45 and 70 cm were bred. Varieties of Granat, Volzhskoe 44, Avans and hybrids Irgiz, Volgar, combine high yields (5.31–10.8 t/ha) and 11.32–12.56% of crude protein in grain. Heterotic hybrids of Irgiz and Volgar are by tall (149.6 of 175.9 cm) and highest grain yield (8.02–10.8 t/ha). As raw material for starch varieties recommended Avans, Volzhskoe 44, Sarmat, Perspektivny 1, Geliofor, Volzhskoe 4, Topaz and hybrid Volgar with content in grain starch 72.31–75.60%. New varieties (Azart, Geliofor, Magistr, Bogdan, Bakalavr, Granat) characterized by a high content of starch (71.47–74.50%) and medium protein (the 11.04–12.59%), pass state testing. Thus, "Rossorgo" offers a farmer a range of cultivars and hybrids of grain sorghum, allowing the obtaining stable yields of grain and extending the use of culture in the region.

Keywords: sorghum; breeding; yield; directions for use; maturity; protein; starch

***Corresponding author:** Oksana Kibalnik, Federal State Budgetary Scientific Institution Russian Research and Design Institute of sorghum and corn "Rossorgo", Russia,
✉ kibalnik79@yandex.ru

Введение

Зерновое сорго является одной из наиболее засухо- и жароустойчивых, высокоурожайных сельскохозяйственных культур, которая возделывается во многих регионах мира с острозасушливым климатом. Сорго используют в основном для производства зернофуража и моноорма (Алабушев и др., 2003), а также в пищевой и перерабатывающей промышленности (Ковтунов и Горпиниченко, 2011; Никитин и др., 2016).

Селекционная работа с сорго в России началась в начале 20 века с районов Северного Кавказа (Алабушев и др., 2017). Высокая питательная ценность зерна сорго (12 – 14 % белка, 70 – 80 % крахмала и т.д.) способствовали его интродукции в более северные регионы страны. Так, в 1973 г. была образована лаборатория генетики и селекции сорговых культур при Саратовском сельскохозяйственном институте, на базе которой сформирован ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» (2003 г.). Одним из направлений деятельности института является выведение новых скороспелых, высокоурожайных сортов и гибридов сорго с улучшенным качеством зерна, стабильно вызревающих и позволяющих организовать промышленное семеноводство в условиях Нижневолжского региона России (Горбунов, 2016).

Материалы и методы

Объектами исследований являются 18 сортов и 2 гибрида сорго (разного направления использования), которые высевали на опытном поле ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» в 2014 – 2016 гг. ширококрядным способом (с междурядьем 70 см). Густота стояния – 100 тыс. раст./га. Площадь делянки 25 м², размещение рендомизированное, повторность трехкратная. Все учеты урожайности зерна, элементов продуктивности выполнены согласно общепринятой методике (1989). Определение биохимического состава зерна проводилось в лаборатории биотехнологии ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» (Ермаков, 1987). Экспериментальные данные обработаны дисперсионным анализом с помощью программы Агрос 2.09.

Результаты и их обсуждение

Селекционная работа проводится в нескольких направлениях: скороспелость, высокая урожайность, устойчивость к болезням и вредителям, применение в пищевой и перерабатывающей промышленности. В результате применения метода межсортовой гибридизации с последующим отбором создан генетически разнообразный исходный материал, на основе которого выведены и допущены к использованию по Нижневолжскому региону 12 сортов, различающихся по продолжительности вегетационного периода, урожайности и биохимическому составу зерна. Развивается гетерозисная селекция: на основе ЦМС типа А2 получены гибриды Иргиз и Волгарь, характеризующиеся высоким гетерозисом по продуктивности. Проходят государственное сортоиспытание 6 сортов: Азарт, Гелеофор, Магистр, Богдан, Бакалавр, Гранат.

Сорта селекции «Россорго» представлены тремя группами спелости: раннеспелые, среднеранние и среднеспелые. Для получения сортов зернофуражного направления основное внимание уделяется высокой и стабильной урожайности. Также с целью повышения питательности концентрированного корма необходимы сорта с высоким содержанием в зерне протеина. В институте «Россорго» селекционерами решается эта проблема: сельхозпроизводителям представлены сорта Гранат, Волжское 44, Аванс и гибриды Иргиз, Волгарь, сочетающие высокую урожайность 5,31 – 10,8 т/га и 11,32 – 12,56 % в зерне сырого протеина (табл. 1).

В настоящее время технология возделывания зернового сорго ориентирована на использование семян сортов, отвечающих требованиям ресурсосберегающей технологии. В связи с чем, развивается направление селекции тонкостебельного сорго, толерантного к загущению посевов (Семин и др., 2016). Такие линии были получены в результате скрещивания

зернового сорго с суданской травой и получили название – судзерны. На их основе выведены сорта Перспективный 1 и Старт.

Таблица 1 Характеристика сортов зернового сорго по основным агрономическим признакам (2014 – 2016 гг.)

Table 1 Characteristic of grain sorghum varieties by the main agronomic features (2014–2016)

Сорт, гибрид	Высота растений, см	Длина соцветия, см	Масса зерна с одной метелки, г	Масса 1000 зерен, г	Урожайность зерна, т/га	Содержание в зерне, %	
						сырой протеин	крахмал
Раннеспелые							
Перспективный 1	110,3	14,1	3,0	29,0	3,24	13,71	72,99
Старт	126,8	23,7	9,5	28,5	4,05	13,54	67,96
Топаз	125,3	22,0	12,3	27,1	3,88	11,23	75,60
Факел	145,9	26,6	16,7	30,1	5,27	12,48	73,73
Аванс	119,2	25,9	21,9	37,4	5,84	12,56	72,31
Среднеранние							
Волжское 615	137,1	25,4	13,2	29,9	4,33	12,10	69,01
Азарт	122,5	20,7	12,2	36,7	4,97	12,59	72,52
Гелеофор	125,7	22,0	19,7	30,6	4,92	11,04	74,50
F1 Волгарь	175,9	25,5	35,8	29,9	10,8	11,32	73,29
F1 Иргиз	149,6	26,5	20,3	23,0	8,02	11,66	70,61
Среднеспелые							
Кремовое	130,1	27,7	13,8	30,1	3,96	14,30	70,69
Пищевое 614	119,2	24,3	11,9	24,1	3,57	12,27	68,96
Волжское 4	140,6	28,6	16,6	26,7	4,76	10,57	75,06
Волжское 44	130,8	27,0	15,0	23,5	5,39	12,15	72,77
Пищевое 35	149,7	24,1	13,6	25,2	3,70	12,90	73,97
Гранат	114,5	23,2	12,7	32,0	5,31	11,81	71,34
Сармат	130,3	18,7	14,9	36,9	4,56	11,54	73,02
Магистр	123,7	16,2	13,2	34,3	4,37	11,30	72,03
Богдан	127,3	26,7	25,3	30,3	4,81	11,81	72,57
Бакалавр	137,0	23,4	28,2	40,1	4,42	11,30	71,47
F05	4,46*	5,03*	3,08*	2,47*	2,19*	1,26	1,04

* $p \leq 0,05$

Для расширения ассортимента крупяных изделий селекционерами созданы сорта пищевого направления: Пищевое 35, Пищевое 614, Кремовое, Факел. Сорговая крупа используется для приготовления разнообразных блюд в виде различных каш, гарниров, супов, пудингов, хлопьев. Исследования показали, что по вкусовым качествам и консистенции каша из сорго не уступает перловой, кукурузной, пшеничной, гречневой и рисовой.

Преимуществом крупы из сорго является более высокая развариваемость и набухаемость по сравнению с крупами из других культур. Коэффициент развариваемости равен 3,27 (Семин и др., 2017). Мука из сорго не содержит глютена, поэтому хлебобулочные и кондитерские изделия рекомендуются в питании больных гипертонией, целиакией, диабетом (Костина и др., 2012). Изучение хлебопекарных качеств зерна сорго показало, что большим объемом и лучшей пористостью обладают изделия, испеченные из пшеничной муки в смеси с сорговой в соотношении 90 : 10 %.

В институте проводится селекционная работа по созданию сортов и гибридов сорго, зерно которых может быть использовано в качестве сырья для крахмалопаточной промышленности. В селекционную программу был включен исходный материал со светлой окраской зерна и содержанием крахмала не менее 70 – 72 %. В настоящее время выведены сорта, соответствующие данным требованиям: Аванс, Волжское 44, Сармат, Перспективный 1, Гелеофор, Волжское 4, Топаз и гибрид Волгарь. Количество крахмала в зерне варьирует от 72,31 до 75,60 % в зависимости от сортовых особенностей.

Выводы

Сельхозпроизводителям представлен ассортимент сортов и гибридов зернового сорго, различающихся по морфологическим признакам и биологическим свойствам, пригодных для возделывания по современным технологиям.

Литература

- Алабушев, А., Анипенко, Л., Гурский, Н., Коломиец, Н., Костылев, П., Мангуш, П., Алабушева, О. 2003. *Сорго (селекция, семеноводство, технология, экономика)*. Ростов на Дону, 368 с.
- Алабушев, А., Шишова, Е., Романюкин, А., Ермолина, Г., Горпиниченко, С. 2017. Происхождение сорго и развитие его селекции. *Научный журнал КубГАУ*, т. 3, № 127, с. 1–14. DOI: [10.21515/1990-4665-127-017](https://doi.org/10.21515/1990-4665-127-017)
- Горбунов, В. 2016. Результаты инновационной деятельности ФГБНУ РосНИИСК «Россорго». *Кукуруза и сорго*, № 3, с. 3–5.
- Ермаков, А. 1987. *Методы биохимического исследования растений*. Л. 430 с. ISBN (ББК) 28.57
- Ковтунов, В., Горпиниченко, С. 2011. Основные направления использования сорго зернового. *Зерновое хозяйство России*, № 6, с. 28–32.
- Костина, Г., Семин, Д., Ефремова, И., Кибальник, О., Пешкова, В. 2012. Селекция зернового сорго на пищевые цели в условиях Нижнего Поволжья. *Кукуруза и сорго*, № 2, с. 3–6.
- Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур*. 1985. М., вып. 2, 267с.
- Никитин, И., Свечников, А., Зоц, А., Алфимова, А., Татраев, Д., Мириев, М. 2016. Анализ применения зерна сорго и продуктов его переработки в технологии хлебобулочных и мучных кондитерских изделий. *Технические науки – от теории к практике*, т. 30, № 12, с. 123–129.
- Семин, Д., Горбунов, В., Кибальник, О. 2016. Технология возделывания новых сортов зернового сорго. *Кукуруза и сорго*, № 3, с. 10–13.
- Семин, Д., Кибальник, О., Каменева, О., Куколева, С., Старчак, В. 2017. Селекция зернового сорго на пищевые цели в условиях Нижневолжского региона РФ. *Таврический вестник аграрной науки*, т. 9, № 1, с. 72–78.



EFFECTS OF LINAROSIDE ON SOYBEAN SEED GERMINATION

**Kirilov Alexandru*, Cozmic Raisa, Kharchuk Oleg,
Bashtovaia Svetlana, Kirilov Eleonora, Kistol Marchela**

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ВЛИЯНИЕ ЛИНАРОЗИДА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН СОИ

**Кириллов Александр, Козьмик Раиса, Харчук Олег,
Баштовая Светлана, Кириллова Элеонора, Кистол Марчела**

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The effect of glycoside linaroside on the germination of soybean seeds *Glycine max* L. was studied. Exogenous treatment of soybean seeds variety Amelina was carried out by swelling the seeds for 1.5 hours between sheets of filter paper moistened with distilled water (control) or 0.001% aqueous solution of linaroside. Then, control (treatment with distilled water) seeds and seeds treated with a 0.001% solution of linaroside were placed on Petri dishes with different solutions: distilled water and solutions with osmotic pressure of 0.5 MPa: water stress (PEG 6000), salt stress (sodium bicarbonate) and complex water-salt stress (PEG 6000 + sodium bicarbonate). The number of germinated seeds and lengths of their primary root were counted at 3 and 6 days of germination at 25 °C. Upon all stresses the energy of germination, germination and root length were significantly reduced. Exogenous seed treatment with linaroside resulted in an increase in germination energy upon complex (water-salt) stress and in an increase in germination upon sodium bicarbonate.

Keywords: soybean seeds; germination; exogenous treatment; linaroside

Введение

Семейство Подорожниковых (Plantaginaceae), является источником многих биологически активных веществ. Samuelsen (2000), взяв в качестве примера широкоизвестный подорожник большой, *Plantago major* L., отмечает, что компоненты растительных экстрактов из растений семейства подорожниковых обладают разным действием: антиокислительным, противовоспалительным и т.п. Кириллов и др. (2012) изучали применение гликозида линарозида для внекорневой обработки растений винограда с целью оптимизации роста и созревания тканей побегов; урожай повысился на 10 – 30 %, улучшено качество урожая по соотношению между содержанием сахара и кислот в соке ягод: увеличение содержания сахара в ягодах на 0,8 – 1,4 % и уменьшение содержание кислот в них на 0,5 – 1,5 %. В настоящей работе поставлена задача изучить действие гликозида линарозида на прорастание семян сои *Glycine max* L.

*Corresponding author: Alexandru Kirilov, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ kharchuk.biology@mail.ru

Материалы и методы

Объект исследования – районированный в Республике Молдова сорт сои Амелина. Влияние линарозида на прорастание семян сои сорт Амелина проводили в лабораторном опыте на разных фонах прорастания (дистиллированная вода, а также на растворах осмотическим давлением 0,5 МПа: раствор полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000, бикарбоната натрия и комплексном стрессе, ПЭГ 6000 + бикарбонат натрия). Все варианты проводили в 3х повторностях при поддержании температуры среды 25 °С. Amooghaie and Moghym (2011) для выявления экзогенного действия полиаминов на устойчивость семян сои использовали экзогенную обработку семян перед применением стрессового фактора. В нашей работе экзогенную обработку семян проводили набуханием семян в течение 1,5 часов между листами фильтровальной бумаги, смоченной дистиллированной водой (контроль) или 0,001 % водным раствором гликозида линарозид. Затем контрольные (обработка дистиллированной водой) семена и семена, обработанные 0,001 %-ным раствором линарозида, помещали на чашки Петри с разными фоновыми растворами на 6 суток, проводя учеты прорастания семян и длины черешка через 3 и 6 суток прорастания при 25 °С.

Результаты и их обсуждение

В таблицах 1 и 2 приведены данные прорастания семян сои сорт Амелина на разных фонах прорастания после экзогенной обработки семян дистиллированной водой (контроль) и 0,001 %-ным раствором линарозида.

Таблица 1 Энергия прорастания и длина корешка прорастающих семян сои сорт Амелина через 3 суток прорастания

Table 1 Energy of germination and radicle length of soybean seeds variety Amelina after 3 days of germination

Среда прорастания	Энергия прорастания, %		Длина корешка, мм	
	без БАВ (контроль)	гликозид	без БАВ (контроль)	гликозид
Вода	100 ± 0	95 ± 5	50 ± 7	48 ± 7
ПЭГ	48 ± 26	52 ± 5	8 ± 6	7 ± 1
Соль	86 ± 8	91 ± 5	16 ± 3	20 ± 3
ПЭГ + соль	57 ± 14	76 ± 17	8 ± 2	10 ± 1

Через 3 суток прорастания изучаемые стресс-факторы оказали существенное влияние на показатели прорастания контрольных (обработанных дистиллированной водой) семян сои сорт Амелина: энергия прорастания уменьшилась на 14 – 52 % (относительно 100 % при прорастании на дистилляте), а длина корешка уменьшилась на 34 – 42 мм (относительно 50 мм при прорастании на дистилляте). По сорту Амелина в среднем по всем стрессовым фонам уменьшение энергии прорастания составило 36 ± 11 %, а снижение длины корешка составило 79 ± 5 %; при этом минимальное изменение было на фоне повышенного содержания бикарбоната натрия ($\Delta = -14$ % и -34 мм, соответственно).

Экзогенная обработка семян линарозидом через 3 суток прорастания не оказала существенного влияния на показатели прорастания семян сои сорт Амелина на стрессовых фонах: по энергии прорастания $\Delta = +4 \div +19$ % (при снижении на 5% на дистилляте), по длине корешка $\Delta = -1 \div +4$ мм (при -2 мм на дистилляте). По сорту Амелина в среднем по всем стрессовым фонам влияние экзогенной обработки линарозидом недостоверно выразилось в увеличении энергии прорастания, на 10 ± 5 %, и длины корешка, на 3 ± 3 %), при максимальной величине

эффекта линарозида на фоне комплексного (водно-солевого) стресса: увеличение энергии прорастания на 20 %.

Изучаемые стресс-факторы через 6 суток прорастания оказали существенное влияние на всхожесть контрольных (обработанных дистиллированной водой) семян сои сорт Амелина: всхожесть снизилась на 9 – 14 % (при 100 %-ном прорастании на дистилляте), длина корешка сильно уменьшилась: на 76 – 91 мм (при длине 114 мм на дистилляте). По сорту Амелина в среднем по всем стрессовым фонам существенно уменьшились всхожесть, на 12 ± 2 %, и длина корешка, на 73 ± 4 %.

Таблица 2 Всхожесть и длина корешка прорастающих семян сои сорт Амелина через 6 суток прорастания

Table 2 Germination and radicle length of soybean seeds variety Amelina after 6 days of germination

Среда прорастания	Всхожесть, %		Длина корешка, мм	
	без БАВ (контроль)	гликозид	без БАВ (контроль)	гликозид
Вода	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	114 $\pm$ 32	90 $\pm$ 15
ПЭГ	86 $\pm$ 14	95 $\pm$ 5	38 $\pm$ 18	35 $\pm$ 6
Соль	86 $\pm$ 8	100 $\pm$ 0	30 $\pm$ 8	33 $\pm$ 5
ПЭГ + соль	91 $\pm$ 5	86 $\pm$ 14	23 $\pm$ 6	26 $\pm$ 6

Экзогенная обработка семян линарозидом через 6 суток прорастания оказала определенное влияние на показатели прорастания семян сои сорт Амелина: при повышенном содержании бикарбоната всхожесть повысилась на 14 % (при одинаковой, 100 %, всхожести на дистилляте). При усреднении по всем стрессовым фонам экзогенная обработка линарозидом практически не повлияла на всхожесть ($+2 \pm 6$ %) и длину корешка ($+1 \pm 2$ %).

Выводы

При прорастании семян сои сорт Амелина на всех стрессовых фонах существенно уменьшились энергия прорастания, всхожесть и длина корешка. Экзогенная обработка семян линарозидом выразилась в увеличении энергии прорастания на фоне комплексного (водно-солевого) стресса и в увеличении всхожести на фоне бикарбоната натрия.

Благодарность

Работа поддерживалась грантом 15.817.05.08F «Evaluarea mecanismelor de formare a rezistenței complexe a plantelor la factorii nefavorabili (secetă, arșiță, răcire, dezechilibru nutritiv) și fundamentarea metodelor de inducere a cros-toleranței».

Литература

- Agenția de Stat Pentru Proprietatea Intelectuală. Procedeu de tratare a plantelor de viță de vie. Patent owner: Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM (Chirilov A., Cozmic R., Harciuc O., Baștovaia S., Mașcenco N., Chirilov E., Chistol M.). Republic of Moldova. Patent no. MD 1012. 2016-10-31.
- Amooghaie, R., Moghym, S. 2011. Effect of polyamines on thermotolerance and membrane stability of soybean seedling. *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 47, p. 9673–9679 DOI: [10.5897/AJB10.2446](https://doi.org/10.5897/AJB10.2446)
- Samuelsen, A., 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 71, no. 1–2, p. 1–21. DOI: [10.1016/S0378-8741\(00\)00212-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00212-9)



BIOLOGICAL BASES OF SEED AND VEGETATIVE REPRODUCTION OF CORNELIAN CHERRY (*CORNUS MAS* L.) IN NATURE AND CULTURE

Klymenko Svitlana*, Grygorieva Olga, Onyshuk Lyudmila

M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕМЕННОЙ И ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕПРОДУКЦИИ КИЗИЛА ОБЫКНОВЕННОГО (*CORNUS MAS* L.) В ПРИРОДЕ И КУЛЬТУРЕ

Клименко Светлана, Григорьева Ольга, Онищук Людмила

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) is a valuable fruit, medical, decorative, meliorative plant. It is rarely cultivated due to the lack of studies on ways of its seed and vegetative reproduction. In recent decades in Ukraine, as well as in other countries, interest on cornelian cherry has increased significantly, but the demand for cultivar planting material is not being satisfied because of insufficient knowledge of the tested methods of seed and vegetative reproduction. The department of Acclimatization of fruit plants of NBS works on breeding of cornelian cherry, the selection fund of which is represented by several dozen cultivars, 14 of them are entered in the State Register of Plant Cultivars of Ukraine. The methods of seed and vegetative reproduction have been studied. Despite the fact that the seed method of reproduction of the cornelian cherry has not lost its importance for growing the rootstock, as well as seedlings for the creation of forest cultures, during creating mono-gardens from cornelian cherry, vegetative reproduction of promising cultivars is necessary, since the seed method of reproduction doesn't ensure the fixation of all economically valuable characteristics of the cultivars in the progeny. In addition, seedlings begin to bear fruit only for the 6th–8th year, and vegetative reproduced plants – for the 2nd–3rd year. Reproduction of the cornelian cherry in nature is caused by the enhanced ability to form the sprouts. This type of formation of young shoots has continued for many tens of years due to the continuous restoration of dying subordinate trunks. We have studied the reproduction of cornelian cherry by spring and summer grafting, lignified and summer cuttings. The emergence of the regenerative ability in the cutting depends on various endogenous and exogenous factors. In the average conditions cornelian cherry doesn't reproduce well by cuttings. However, following factors such as high humidity, sufficient warmth, treatment of cuttings using physiologically active substances increase the percentage of rooting, the overall number of roots and their total length. Cuttings of 10–15 cm length should have 2–4 pairs of leaves. Leaves have a great value for cornelian cherry during the cuttings propagation: the leaf blade doesn't get shorter, hence promoting the fast and intensive growth of roots, in comparison with traditionally prepared cuttings. By the end of the vegetative period the cornelian cherry rooted cuttings are weakly developed and thus are planted for cultivation in the early spring (end of March – beginning of April), with the planting scheme 20 × 35 cm. By the end of the II vegetative period the cuttings reach height of 70–80 cm, the diameter of the root stocks is 8–10 mm, the plants form 3–4 side shoots and can be planted to a permanent place. The ability of the cornelian cherry to form a large number of sprouts depends on its longevity. The most effective

*Corresponding author: Svitlana Klymenko, M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine, ✉ cornusklymenko@gmail.com

methods of vegetative reproduction are budding and green cuttings. The yield of planting material during the reproduction of the cornelian cherry by budding is 90–95%, the layers 85–90%, the green cuttings 75–80%, the lignified cuttings 40–60%, the spring graft 40–60%.

Keywords: cornelian cherry; *Cornus mas* L.; seed and vegetative reproduction; forest-steppe; Ukraine

Введение

Кизил обыкновенный (*Cornus mas* L.) – ценное плодовое и лекарственное растение – заслуживает большего внимания в связи с рядом преимуществ перед другими плодовыми культурами: ежегодное стабильное плодоношение, высокая ценность плодов, содержащих необходимые для человека биологически активные вещества (Клименко, 1990, 2000, 2013; Сорта плодовых..., 2013).

Известный в культуре в течение многих столетий кизил выращивается мало. Только в последние десятилетия наблюдается возрождение этого замечательного растения.

Мы считаем, что недостаточное культивирование кизила в промышленных и фермерских садах объясняется отсутствием опробованных способов семенного и вегетативного размножения.

Изучение биологических особенностей размножения растений имеет важное теоретическое – для понимания вопросов филогенеза и онтогенеза и практическое значение – для репродукции растений семенным и вегетативным способами.

В практике садоводства и лесоведения используются разнообразные методы и способы преодоления покоя у семян для размножения и ускоренного получения посадочного материала (Радулов, 1996; Ализаде, 1997). В то же время у многих видов растений способность семян не прорасти сразу после созревания закреплена филогенетически, обеспечивая таким образом сохранение их для воспроизводства потомства (Chopra, 1965).

Способность семян длительное время, не прорастая, сохранять жизнеспособность, является одной из важнейших приспособительных особенностей растений, считает М.Г. Николаева (1967). Основные пути проявления этих особенностей – вынужденный и органический покой семян. Причины, вызывающие его, разные.

У многих видов семена находятся в таком глубоком покое, что в естественных условиях они прорастают только через 1 – 2 года после посева.

Классификация типов семян, разработанная М.Г. Николаевой (1967) построена на основе 2 характеристик – причина торможения прорастания и способ его преодоления. У семян кизила сложный механизм покоя: экзогенный, обусловленный физико-химическими свойствами и эндогенный, связанный с состоянием зародыша. Такой покой называется комбинированным.

В последнее время сформировано несколько моделей стратификации семян плодовых растений (Chopra, 1965; Seely and Damavandy, 1985; Suszka, 2002).

В зависимости от вида растений, вначале семена могут проходить «теплую фазу» при постоянной или циклически-переменной температуре, имитирующей осенние природные условия. А в дальнейшем, независимо от породы, последняя 10 – 16-недельная фаза стратификации всегда проходит на холоде, лучше всего при температуре +3 °С. Посев семян после окончания стратификации надо проводить не раньше, чем наклюнется треть семян. Польские исследователи (Suszka, 2002) стратификацию семян рекомендуют заканчивать после появления первых проростков у 10 % семян. После этого семена сеют, а если это невозможно – прорастание можно задержать на несколько недель охлаждением семян до -3 °С. За 2 – 3 дня до посева такие семена прогревают до +15 – 20 °С. Для кизила в начале стратификации температуру рекомендуют циклически менять в пределах + 20... + 30 °С (Майборода, 2003).

С целью разработки методов ускоренного прорастания семян кизила работало достаточно много исследователей – А.К. Нароян (1951), С.Н. Литвиненко (1955), А.И. Ильина (1958), Д.Д. Минин (1968), М.Г. Колотова (1982) и др. Использовались различные приемы обработки семян химическими веществами (кислотами, щелочами и др.). Все эти приемы были различны по эффективности прорастания семян. Однако, универсального, легкодоступного метода предпосевной подготовки семян рекомендовано не было. Заслуживают внимание опыты, проведенные Д.Д. Мининым: 10-дневное замачивание семян (с ежедневной сменой воды) и дальнейшей стратификацией во влажном песке в течение 3 месяцев при температуре 20 °C и в течение 4 месяцев при 0 – 3 °C. В результате было получено 70 – 75 % всходов.

П.Я. Вановский и Ф.К. Воронцов (1952) рекомендуют метод ускоренной стратификации в парнике, где температура поднималась до 16 – 18 °C благодаря горению навоза. Такую предпосевную подготовку авторы рекомендуют делать за 40 – 45 дней до высева семян в питомник. Они отмечают, что прорастание семян в парнике шло достаточно дружно и быстро.

Обработка семян разными стимуляторами роста способствует сокращению периода стратификации до 7 – 8 месяцев (Іванніков, 1999). Хорошие результаты получены при обработке замоченных семян 0,1 %-ным раствором гиббереллина в течение недели, а также 0,05 %-ным раствором этрела в течение суток.

Цель наших исследований – изучение различных способов семенного и вегетативного размножения кизила, оценка эффективности каждого из них.

Материалы и методы

Объекты исследований – растения кизила селекционного генофонда Национального ботанического сада им. Н.Н. Гришко НАН Украины (НБС) посадки 1985, 1990, 2000 гг. Размножение семенами включали экспериментальные исследования по подзимнему посеву, посеву стратифицированными семенами в условиях традиционной (холодной) подготовки и переменной – тепло-холодной стратификации, посеву летом семенами, извлеченными из незрелых плодов и с околоплодниками.

Вегетативное размножение проводили зелеными черенками, весенней и летней прививкой, для размножения отводками использовали 8 – 10-летние растения. Укоренение зелеными черенками проводили в туманообразующей установке, где автоматически регулируются температура и влажность.

Черенки длиной 12 – 15 см с двумя–четырьмя парами листьев нарезали рано утром из верхней части побега, связывали в пучки по 25 – 30 шт. и помещали в раствор стимулятора ИМК (индолилмасляная кислота) – 25 мг/л при экспозиции 20 – 24 часа или опудривали стимулятором БИ-12. Можно использовать и любые другие стимуляторы с ауксиновой активностью.

Техника окулировки такая же, как и для других плодовых растений – за кору в Т-образный разрез на подвое. Длина продольного разреза коры 1,5 – 2,0 см, поперечного – 1/3 – 1/2 толщины подвоя. Край коры раздвигают и вставляют щиток привоя с тонкой полоской древесины (или без нее) и почкой в середине. Место прививки обвязывают полихлорвиниловой пленкой длиной 20 – 25 см и шириной 1,0 – 1,2 см.

Окулируют также способом вприклад, выполнение которого не связано с состоянием и отделением коры на подвое. Этот способ дает возможность при необходимости продлить сроки окулировки до конца августа и выполнять эту работу даже в сентябре.

Как подвой использовали двухлетние сеянцы кизила, выращенные из семян сортовых растений.

Очень большое значение имеет состояние подвоя и привоя. За неделю перед окулировкой, а если очень сухо, то еще раз за 2 – 3 дня необходимо полить подвой. Для большего выхода посадочного материала при необходимости можно сделать подокулировку. Очень важным

приемом является своевременное снятие обвязок в годы с хорошими погодными условиями, достаточным количеством осадков, когда подвой продолжает интенсивно расти и до конца сентября – начала октября обвязка сильно врезается в подвой и он может переламываться. После того как обвязка снята, заокулированные сеянцы окучивают, чтобы защитить глазки от подмерзания, особенно в бесснежные зимы.

Технология дальнейшего выращивания заокулированных растений такая же, как и др. плодовых растений (речь идет о срезании на шип и дальнейшем уходе за растениями).

Размножение весенней прививкой провели способами в боковой зарез, вприклад и улучшенной копулировкой.

Отводки на укоренение закладывали в марте – до набухания почек, как только можно было обрабатывать почву. При большом объеме работ отводки можно закладывать и осенью. Для укоренения отводков необходимы постоянная влажность, умеренная температура и хорошо подготовленная почва. Для размножения отводками материнское растение кизила выращивают в виде куста. Молодые побеги в возрасте от 1 до 3 лет, растущие близко к поверхности почвы, укладывают в специально вырытые бороздки, оставляя снаружи загнутый под прямым углом конец длиной около 20 см. Кору под листовым узлом подрезают в том месте, где ветка загибается вверх, это стимулирует корнеобразование. Верхушку ветки прикрепляют к вертикальному колышку, обрезают ее на 1/3 – 1/4 длины, что стимулирует пробуждение нижерасположенных почек. Боковые разветвления обрезают, ветку закрепляют деревянными или проволочными дужками. Сверху ветку засыпают землей, слегка утрамбовывают и поливают. Почву необходимо тщательно подготовить. Глубина бороздки должна быть 12 – 15 см. На бедных почвах бороздки заправляют плодородной почвой или смесью торфа, почвы и песка. За влажностью почвы надо следить, особенно в сухую погоду. Отводки укореняются обычно в течение вегетации. Уход за отводками состоит в рыхлении почвы, подкормке, борьбе с сорняками.

Результаты и их обсуждение

Семена кизила для размножения заготавливали в августе-сентябре-октябре, когда созревают плоды. В процессе созревания плодов семена (косточка и семя используются как синонимы, так как в практике плодоводства семя из косточки не вынимают) переходят в состояние покоя – вокруг семени формируются плотные покровы косточки и потому, как и семена многих других плодовых растений, требует предпосевной подготовки – стратификации, которая может длиться в зависимости от условий от 11 до 18 месяцев. На стратификацию семена кизила мы закладываем сразу после сбора плодов, не подсушивая их, – в опилки, мох, перегной, обеспечивая постоянное увлажнение.

К сожалению, на практике семена, вынутые из плодов, не сразу закладывают на стратификацию. Это – большая ошибка. В результате часто удлиняются сроки предпосевной подготовки, ухудшается, а иногда и теряется всхожесть семян.

На это еще в 30-е годы прошлого столетия обращал внимание известный украинский ученый Н.Ф. Кащенко (1925). Он писал: «Если семена сеют сразу после сбора, то результаты получают наилучшие. Не высевайте семена деревьев и кустарников ни в какое другое время, как только сразу после сбора».

В наших исследованиях семена, заложенные на стратификацию сразу после извлечения их из плодов, в условиях обычной стратификации прорастают уже через 16 – 17 месяцев. При постоянном промывании сроки предпосевной подготовки можно сократить до 10 – 11 месяцев.

Проведенные нами в течение многих лет исследования по семенному размножению показали, что эндосарп кизила не является препятствием для прорастания семени, так как количество поглощенной им воды на 9 – 11 суток составляет 125 % (Клименко, 2000). Интересно, что

изолированное из эндокарпа семя кизила не прорастает, а изолированные зародыши прорастают на 15 – 19 день (Парфенова, 1974).

Анатомическое его строение свидетельствует о тесной связи с оболочкой семени (рис. 1, 2), а также проходящих в нем сложных биохимических процессах (Erdelska and Szukukalek, 1980; Tylkowski, 1991), в связи с наличием ингибиторов, тормозящих прорастание семени, которые удаляются из него при достаточном обеспечении водой во время подготовки семян к посеву разными способами, что способствует процессу прорастания (Майборода, 2003).

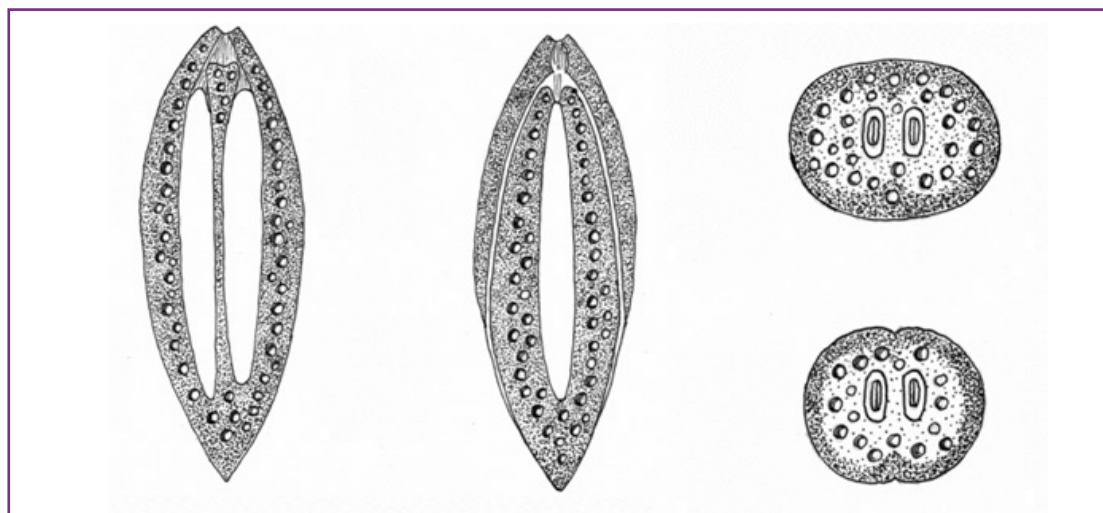


Рисунок 1 Эндокарп кизила. Продольный и поперечный разрезы
Figure 1 Endocarp of cornelian cherry. Longitudinal and transverse sections

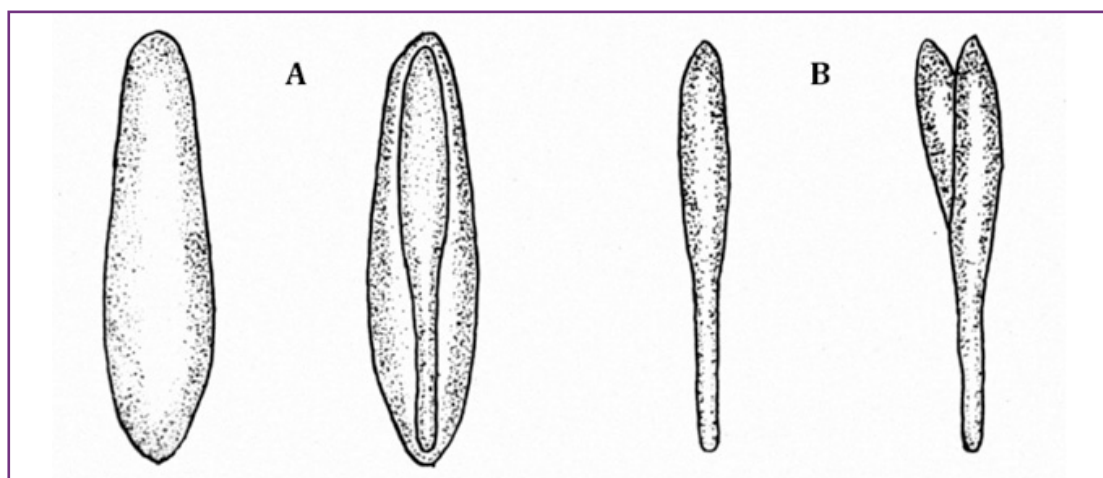


Рисунок 2 Семя кизила
А – в эндокарпе; В – извлечено из эндокарпа
Figure 2 Cornelian cherry seed
А – in the endocarp; В – isolated from endocarp

Традиционно считается, что наиболее благоприятные условия подготовки семян к прорастанию складываются при высокой влажности и хорошем поступлении воздуха во время действия низких положительных температур (Seely, 1985). Для этого в течение всего периода стратификации влажность субстрата поддерживают на уровне 45 – 50 %, а температуру в пределах 0 ... +5 °C (холодная стратификация) или +20 – 25 °C – в первые 2 – 3 недели и 0 ... +5 °C – до конца рекомендованного периода (тепло-холодная стратификация) (Надточій, 1998).

В наших исследованиях эффективными методами подготовки семян и получения сеянцев были стратификация семян в течение 1 – 2-х лет и посев их осенью или весной, посев свежесобранными семенами, когда всходы были получены через 18 месяцев после посева. Лучшим из способов проращивания семян в наших исследованиях была двухэтапная стратификация с изменением температурного режима: 3-месячная стратификация при температуре 20 – 22 °C и 4-месячная при 0 – 5 °C. В результате через 8 месяцев было получено 70 % всходов (Клименко, 2000).

Очень важное значение имеет субстрат, используемый для стратификации. В наших исследованиях лучшими были мох и опилки, хуже результаты получены в песке (здесь наблюдается недостаточная аэрация в результате уплотнения песка). Мох и опилки очень хорошо удерживают влагу и достаточно аэрируются.

У кизила, как и у других косточковых, семена из эндокарпа выходит при прорастании. Разница в том, что у кизила при этом открывается только небольшая часть эндокарпа в виде треугольника (рис. 3), а у других косточковых эндокарп распадается на две половины.

Наклюнувшиеся семена кизила надо сеять сразу, так как у переросших семян очень легко отламываются зачаточные корешки (они мясистые и хрупкие) (рис. 3). Глубина заделки семян – 2 – 3 см (при осеннем посеве – не менее 5 см) (Клименко, 2000). Семядольные листья у всходов кизила сохраняются до 20 – 25 дней (рис. 4).

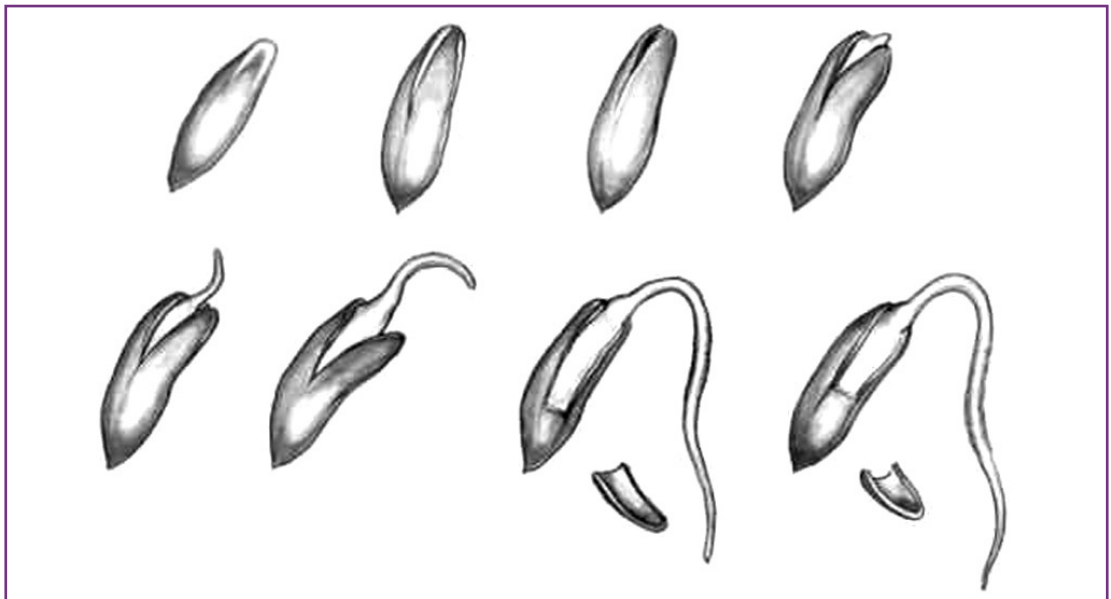


Рисунок 3 Проросшие семена кизила
Figure 3 Germinated seeds of cornelian cherry

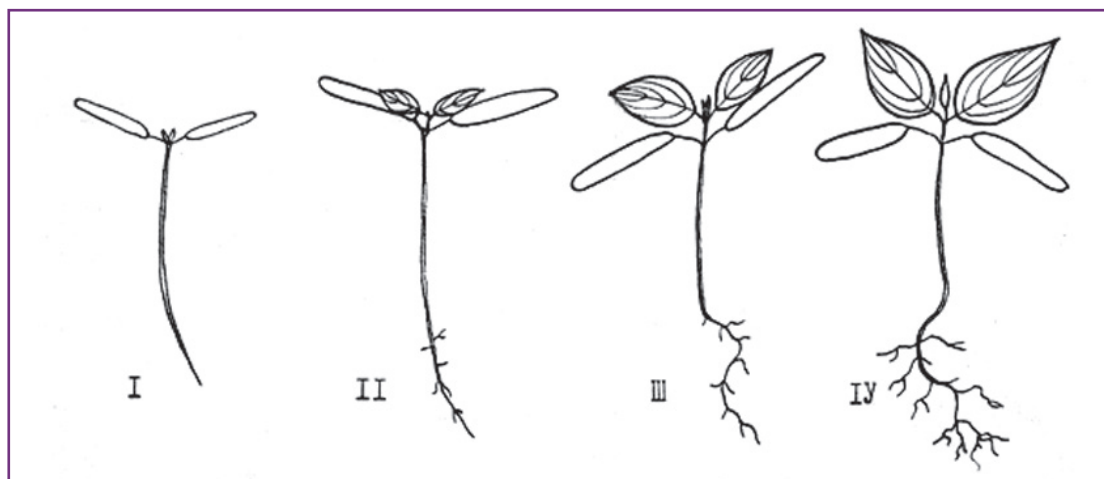


Рисунок 4 Проростки кизила

I – с семядольными листьями, II – начало появления I пары настоящих листьев, III–IV – семядольные листья сохраняются до 20 – 25-дневного возраста

Figure 4 Cornelian cherry seedlings

I – with cotyledon leaves, II – beginning of appearance of the first pair of true leaves, III–IV – cotyledon leaves preserved until age of 20 – 25 days

В течение лета сеянцы достигают размеров 35 – 40 см, диаметр штамбика у них 0,4 – 0,5 см, в хороших условиях питания и увлажнения эти показатели могут быть значительно выше.

По нашим данным, у дикорастущих и культурных растений кизила наблюдается самосев (в результате автобарохорного опадания плодов) в пределах кроны.

Семенное размножение кизила в природе затруднено в связи с его биологическими особенностями и, прежде всего, требовательностью к освещению, самосев гибнет, не выдерживая конкуренции других видов растений (Клименко и Мельничук, 2005).

В то же время в культуре на периодически обрабатываемых приствольных кругах, как это имеет место в насаждениях НБС, самосев образуется в пределах кроны, где приствольные круги мульчируются, плоды опадают и семена прорастают по мере того, как мульча перегнивает, и создаются условия для их прорастания (Клименко, 2013).

Сеянцы кизила используют как подвой при размножении окулировкой. Это единственный подвой для кизила. Мы испытывали как подвои разные виды кизила, но, кроме кизила лекарственного, ни один из других видов кизилов не совместим с кизилом обыкновенным так как они очень далеки в систематическом отношении.

Несмотря на то, что семенной способ размножения кизила не утратил значения для выращивании подвоя, а также сеянцев для создания лесных культур, при создании моносадов из кизила необходимо размножение перспективных форм вегетативно, поскольку семенной способ размножения не обеспечивает закрепления в потомстве всех хозяйственно ценных признаков сорта. Кроме того, сеянцы кизила начинают плодоносить лишь на 6 – 8-й год, а вегетативно размноженные растения – на 2 – 3-й год.

Известно, что каждая форма растений размножается преимущественно одним из способов – вегетативным или семенным. Размножение одного и того же вида одинаково легко и вегетативно и семенами не наблюдается. Большую или меньшую способность какой-либо породы к вегетативному размножению, присущий ей морфофизиологический тип корнеобразования связывают с условиями происхождения (Правдин, 1938). Основой такого подхода является сравнительное экологическое учение о развитии растительности

в сочетании с климатическими, почвенными и биологическими условиями существования, космическими и земными факторами среды.

Очевидно, что способность растений к вегетативному размножению генетически обусловлена.

Существует прямая зависимость способности породы к придаточному корнеобразованию от характера внешних условий, формирующих наследственную природу вида. Среди этих условий первое место занимает влага. Считают, что растения, которые легко укореняются, формировались во влажных регионах (Правдин, 1938; Фаустов, 1985).

Кизил в природе растет на сухих склонах южных экспозиций и почвах, сформированных на карбонатных породах (рис. 5). Этим, по-видимому, и объясняется его плохое укоренение без влагообеспечения. Способность хорошо укореняться в условиях повышенной влажности подтверждает мысль о том, что когда-то существовали природные древние леса с участием кизила и при других условиях – на юге и востоке Приднепровской возвышенности, что позволяет считать кизил реликтом позднего плиоцена – видом, пережившим похолодание в четвертичном периоде *in situ* (Удра, 1984).



Рисунок 5 Вековые растения кизила в природе
Figure 5 Age-old cornelian cherry plants in nature

Размножение кизила в природе обусловлено усиленной способностью к образованию поросли. Этот тип образования молодых побегов продолжается в течение многих лет вследствие непрерывного восстановления надземной части взамен отмирающих придаточных стволов. В Винницкой, Закарпатской (Черная гора), Кировоградской (Цыбульово – Черный лес), Ивано-Франковской, Тернопольской, Черкасской (село Деренковец, Чигирин), областях в местах природного произрастания кизила мы наблюдали порослевые куртины кизила с несколькими десятками штамбов, образовавшихся по периферии огромных старых пней, которые некогда были главными (первичными, центральными) штамбами (Клименко и Мельничук, 2005).

Такие же старые деревья (возрастом 100 – 150 лет и более) каждое с несколькими десятками штамбов мы наблюдали и в культуре: в Винницкой, Днепропетровской (Демурино-Варваровка), Житомирской, Закарпатской, Ивано-Франковской, Киевской, Львовской, Тернопольской, Хмельницкой (село Лавриновцы), Черкасской областях и в Крыму (в старых татарских садах).

Склонность в природе к образованию многочисленной корневой поросли, очевидно, компенсирует ослабленную способность кизила к размножению семенами. Способностью кизила образовывать большое количество порослевых побегов обусловлена его долговечность (Клименко и Мельничук, 2005).

Поддержание и сохранение природных популяций кизила основано на вегетативном размножении – репродуктивной регенерации вследствие непрерывного восстановления надземной части взамен отмирания придаточных стволов. В условиях достаточного увлажнения наблюдается усиленный ризогенез на стеблях, наклоненных к земле или засыпанных ею.

Вегетативное размножение кизила в природных условиях, очевидно, является его особенностью, обеспечивающей выживание вида, однако, как считает И.Ф. Удра (1984), оно не обеспечивает сохранение кизила на протяжении длительного геологического периода. Этот вид размножения имеет значение в сочетании с семенным, которое способствует захвату новых территорий.

В природе вегетативное размножение кизила преобладает над семенным. Для отдельных представителей покрытосеменных растений вегетативное размножение, как отмечает В.В. Фаустов (1985), является единственным способом возобновления.

Форма репродуктивной регенерации – восстановление целостного организма из части (корневищами, отпрысками, порослью, отводками) широко распространена в естественном мире (Кренке, 1950; Фаустов, 1985). Отмечается, что процессы регенерации и способы вегетативного размножения у цветковых растений в сравнении с низшими более сложны и специализированы, особенно в суровых условиях среды обитания. Например, многие представители цветковых растений в аридной зоне переходят на преимущественно вегетативное размножение. По данным В.И. Запрягаевой (1964) в крайне засушливых аридных редколесьях Средней Азии у дикорастущих плодовых растений семенное размножение подавлено и превалирует вегетативное, особенно у грецкого ореха, инжира, хурмы, облепихи, граната, ююбы, многих видов яблони, груши, сливы, рябины, лоха, ежевики и др. Наличие нескольких форм размножения, включая и вегетативное, приобретает «первостепенную важность в стратегии выживания и процветания высших растений» (Фаустов, 1985).

Однако, как считают исследователи (Удра, 1988) вегетативное размножение, хотя и способствует закреплению вида вблизи материнской особи и в определенных пределах переживанию им экстремальных условий, все же не обеспечивает его сохранности в течение длительного геологического периода. При помощи вегетативного размножения растения расселяются на очень незначительные расстояния (за исключением видов, способных к придаточному корнеобразованию) в пределах нескольких сантиметров или десятков сантиметров в год. Поэтому при изучении расселения, особенно миграционных способностей, надо анализировать все этапы его генеративного размножения, а не только дессиминацию.

В культуре вегетативное размножение используется для получения материала без изменения генотипа. Оно, как форма неполового размножения, осуществляется соматическими частями – стеблевыми и корневыми черенками, отводками, прививкой стеблевыми черенками, почкой (окулировка) (рис. 6).

Размножение черенками

Зелеными и особенно одревесневшими черенками в обычных условиях кизил размножается плохо. Однако в условиях повышенной влажности и температуры, а также при обработке черенков физиологически активными веществами значительно увеличивается количество укорененных черенков, общее количество корней и их суммарная длина (Балабак, 1990; Надточій, 2005).

Оптимальные условия для черенкования зелеными (летними) черенками, по нашим данным: влажность 95 – 100 %, температура 24 – 28 °С, субстрат – торф и песок в соотношении 1 : 1, толщина слоя 25 – 30 см, верхний слой толщиной 4 – 5 см – чистый песок (Клименко, 2000).

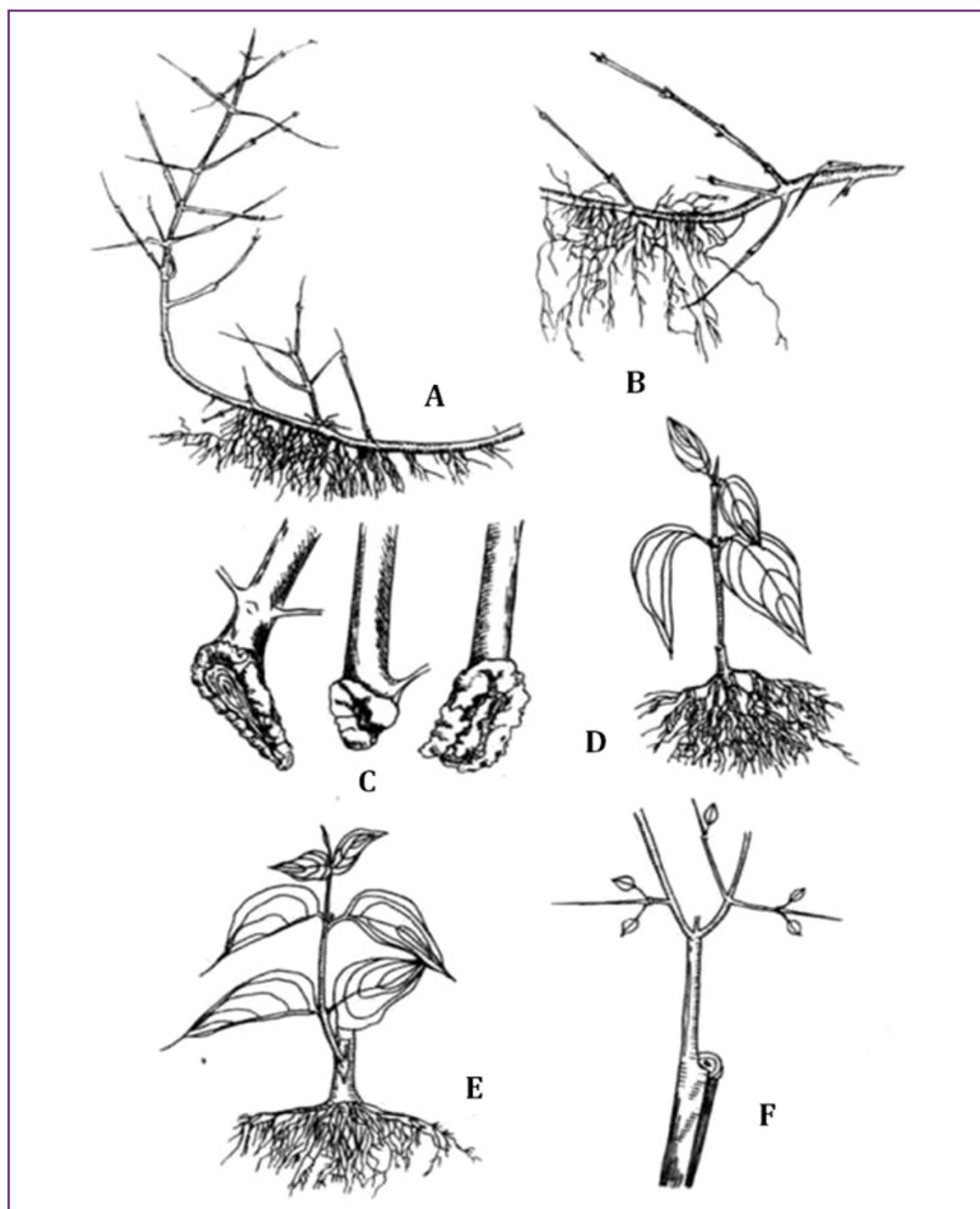


Рисунок 6 Вегетативное размножение кизила

A, B – укорененные отводки; C – одревесневшие черенки с каллюсом; D – укорененный зеленый черенок; E – окулянт кизила (летняя окулировка глазком); F – двухлетняя привитая ветка кизила (весенняя прививка)

Figure 6 Vegetative reproduction of the cornelian cherry

A, B – rooted layers; C – lignified cuttings with callus; D – rooted green cutting; E – grafted plant (summer budding); F – two-year-old grafted cornelian cherry branch (spring graft)

Оптимальные сроки черенкования летними черенками совпадают с периодом интенсивного роста побегов, в условиях Лесостепи Украины это приходится на I – III декады мая – I декаду июня.

Сроки заготовки черенков ежегодно варьируют до двух–трех недель и зависят от погодных условий, возраста и состояния маточных растений. Надо сказать, что мы испытывали разные сроки заготовки черенков, как ранние, так и более поздние. Основными факторами при определении сроков заготовки черенков являются период активного роста и небольшое одревеснение нижней части побега.

С увеличением длины побега и его возраста регенерационная способность значительно снижается, процент укоренения ниже, корневая система, образовавшаяся только у части черенков, слабее (Надточій, 2005).

Стимуляторы роста очень способствуют укоренению черенков, их присутствие активизирует деятельность нативных ауксинов, которые вырабатываются растениями. У кизила при зеленом черенковании нельзя укорачивать листовые пластинки с целью уменьшения транспирации, так как они являются источником образования органических веществ. Уменьшить транспирацию можно другими способами, например, герметизацией. У черенков с целыми листьями происходит более быстрое и интенсивное нарастание корней в сравнении с черенками, подготовленными традиционным способом. От площади листьев зависит количество и длина корней, которые образуются при черенковании. Укоренение начинается через 12 – 15 дней и полностью заканчивается через 45 – 60 дней. Пересадку укорененных черенков на доращивание надо проводить осенью в контейнеры, а весной – можно и в открытый грунт (Клименко, 2000).

Как показали наши исследования, высадка растений в открытый грунт осенью чревата потерей растений из-за плохой перезимовки, растения слабо укореняются и выпадают. Высаживали растения в октябре, в более ранние сроки корневая система черенков недостаточно развита. Осеннее высаживание растений в контейнеры обеспечило хорошую перезимовку растений. Весенняя пересадка укорененных черенков, оставленных на зиму в туманообразующей установке была успешнее – 80 % прижившихся растений в сравнении с 40 % - при осенней посадке в открытый грунт. Схема высадки растений в обоих случаях была одинаковой – 35 – 40 см между рядами и 15 см между растениями в ряду (Клименко, 2000).

Размножение окулировкой

В наших исследованиях – это эффективный способ размножения. Он обеспечивает получение достаточного количества саженцев, которые отвечают требованиям производства.

Окулировку надо делать в период повышенной физиологической активности подвоев и привоев. В условиях Лесостепи Украины лучшие сроки окулировки кизила – с 25 июля до конца августа.

Сложилось мнение (Нароян, 1951), что окулировка, как способ размножения, для кизила неприемлема. Вероятно, это произошло из-за недостатка экспериментальных исследований. В Абхазии окулировку применил Л.Х. Хашба (1962).

К привитым растениям в полной мере относятся закономерности старения и омоложения растений, вегетативно размноженных собственными корнями. Омолаживающее влияние при прививке определяется совместимостью привоя и подвоя. Очень важным обстоятельством при этом является обогащение природы растения.

При соединении двух наследственных основ появляются большие возможности управления ростом и плодоношением растений в разнообразных условиях.

Несмотря на то, что при прививке разрезают ткани, у привитых растений при удачном подборе привоя и подвоя не наблюдается признаков угнетения. Разрезанные ткани привоя и подвоя

быстро срастаются, и привитые части дают сильный прирост. Это особенно видно на примере кизила, так как в основном его размножают семенами и получают сеянцы, достигающие в 1-й год небольших размеров – 30 – 35 см, диаметр штамба – 0,4 – 0,5 см, с мелкими листьями (рис. 7), а окулянты в 1-й же вегетационный период достигают значительных размеров – 100 – 130 см, диаметр штамба – 1,3 – 1,5 см (рис. 8).

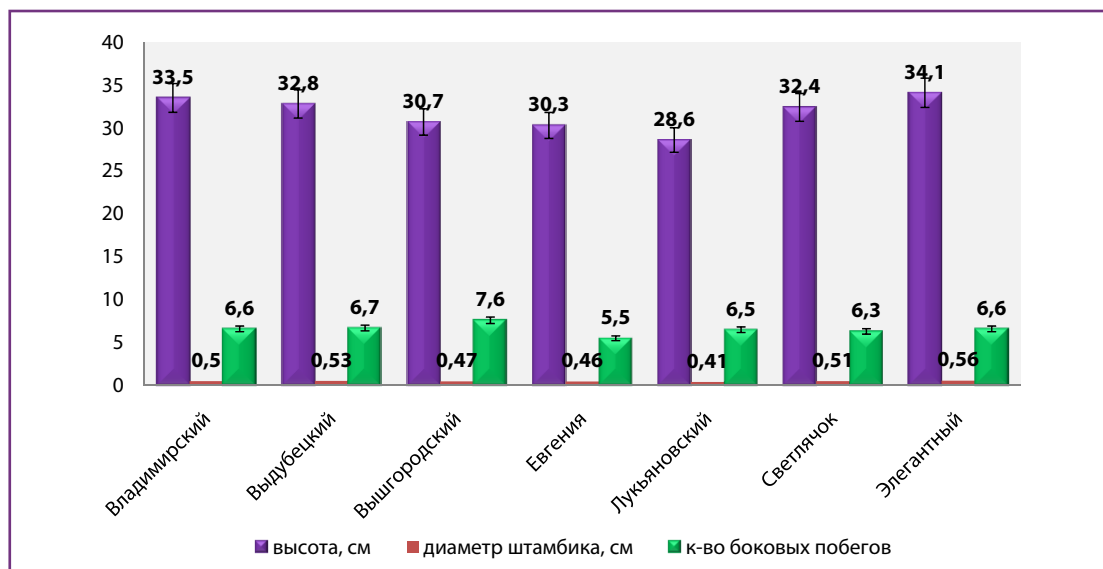


Рисунок 7 Средние показатели роста однолетних сеянцев кизила (2005 г)
Figure 7 Average growth rates of annual seedlings of cornelian cherry (2005)

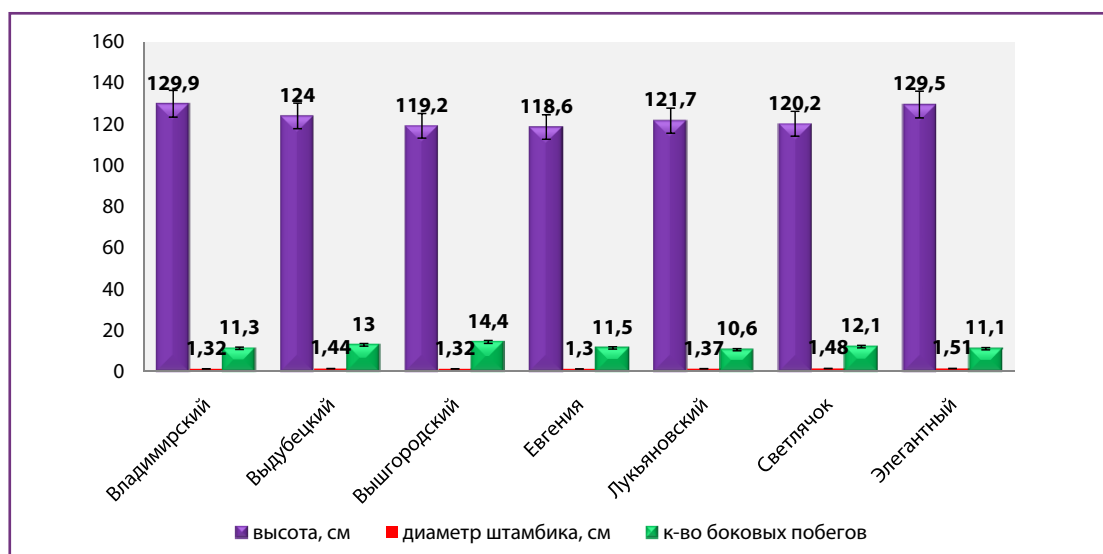


Рисунок 8 Средние показатели роста однолетних окулянтов кизила (2005 г)
Figure 8 Average growth rates of annual cornelian cherry grafted plants (2005)

Листья привитых растений кизила крупные, с ярко выраженным жилкованием. У однолетних окулянтов за вегетационный период образуется 4 – 7 боковых побега, так что уже в этом возрасте их можно высаживать на постоянное место. В хороших условиях культуры молодые саженцы кизила очень развиты: они имеют крепкий штамбик, хороший вегетативный прирост, крупные плоды, растения быстро растут и интенсивно плодоносят. Самое большое достоинство окулировки у кизила – это то, что привитые растения уже на 3-й, а часто и на 2-й год плодоносят, а 3 – 4-летний саженец дает 3 – 5 кг плодов. Сеянцы, как известно, начинают плодоносить на 5 – 8-й год.

Размножение весенней прививкой

Этот способ очень часто используют для размножения кизила. Приживаемость составляет от 40 до 70 % и очень зависит от сроков, состояния растений и техники. Хорошие результаты получены в наших исследованиях прививкой в боковой зарез, вприклад и улучшенной копулировкой. Наиболее благоприятным для прививки в условиях Лесостепи Украины является период с третьей декады марта до конца апреля (во время цветения растений). Используют разные способы прививки, но чаще всего – прививку в расщеп и за кору. Весенняя прививка удается хуже, чем летняя.

В своих опытах мы с успехом испытали и летнюю прививку (окулировку) на плодоносящих растениях – на ветках в нижней части кроны, где глазки очень хорошо приживались. Прививали 10 – 15 сортов на одном дереве и прививки уже через год вступали в плодоношение.

Размножение отводками

Это один из старых способов, который используется в садоводстве. Метод размножения состоит в стимулировании образования корней на стебле до отделения его от материнского растения.

Если образование корней на отводках хорошее, их выкапывают осенью, в октябре. За 3 – 4 недели до высаживания отводки отделяют от материнского растения, чтобы вновь образовавшиеся растения приспособились к условиям самостоятельного существования. Хорошо укоренившийся отводок выкапывают и высаживают в питомник или на постоянное место. Если же к осени корневая система достаточно не сформировалась, отводок оставляют еще на одну вегетацию.

Чем старше укорененная ветка, тем быстрее начинает плодоносить отводок – будущий саженец. Отводки из трехлетних веток начинают плодоносить уже в первый год после укоренения, из однолетних – на второй или третий год. Количество отводков, полученных с одного растения, зависит от его возраста и габитуса. С одного экземпляра можно получать в зависимости от возраста растения 5 – 8 отводков.

Выводы

Современное состояние кизила в природе обусловлено экстремальными условиями его произрастания, запасы его в природе существенно сократились. В последние десятилетия в Украине, как и в других странах, интерес к кизилу значительно возрос, однако не удовлетворяется спрос на сортовой посадочный материал из-за недостаточно опробованных способов семенного и вегетативного размножения. Вопросами размножения кизила занимается отдел акклиматизации плодовых растений НБС, селекционный фонд которого представлен несколькими десятками сортов, 14 из них внесены в Государственный Реестр сортов растений Украины (Клименко, 2013).

Изучены способы семенного и вегетативного размножения. Показано, что для размножения семенами эффективна двухэтапная стратификация – теплая (20 – 25 °C) в течение 3 – 4 месяцев и холодная (+3 – 5 °C) в течение 4-х месяцев. Эндокарп, по нашим данным, не

является препятствием для прорастания семени: количество поглощенной им воды на 9 – 11 сутки составляет 125 %. Анатомическое строение эндокарпа свидетельствует о тесной связи с оболочкой семени и наличии в последнем ингибиторов, тормозящих прорастание. Ингибиторы удаляются при достаточном обеспечении семян водой.

Семенное восстановление кизила в природе затруднено в связи с его биологическими особенностями и, прежде всего, требовательностью к освещению. Самосев кизила в природе образуется в незначительном количестве.

Размножение кизила в природе обусловлено усиленной способностью к образованию поросли. Этот тип образования молодых побегов продолжается в течение многих десятков лет вследствие непрерывного восстановления надземной части взамен отмирающих придаточных стволов. Склонность в природе к образованию многочисленной корневой поросли, очевидно, компенсирует ослабленную способность кизила к размножению семенами.

Способностью кизила образовывать большое количество порослевых побегов обусловлена его долговечность. В культуре эта способность кизила проявляется в хорошем размножении отводками. Несмотря на то, что семенной способ размножения кизила не утратил значения для выращивания подвоя, а также сеянцев для создания лесных культур, при создании моносадов из кизила необходимо размножение перспективных форм вегетативно, поскольку семенной способ размножения не обеспечивает закрепления в потомстве всех хозяйственно ценных признаков сорта. Кроме того, сеянцы начинают плодоносить лишь на 6 – 8-й год, а вегетативно размноженные растения – на 2 – 3-й год. Эффективное вегетативное размножение кизила зелеными черенками (75 – 80 %), менее успешное (40 – 60 %) – одревесневшими черенками обеспечивается условиями достаточного увлажнения (95 – 100 %) и температуры (+25 – 28 °C).

Для получения из укорененных черенков стандартных саженцев уходит два года. При хорошем уходе к концу первого вегетационного периода саженцы достигают высоты 35 – 50 см, второго – 100 – 130 см, на втором году образуется 3 – 5 боковых побегов, и саженцы готовы для высадки на постоянное место.

Количество отводков, полученных с одного растения, зависит от его возраста и габитуса. С одного экземпляра можно получить 5 – 8 отводков. Размножение отводками биологически эффективно, однако для массового получения саженцев более трудоемкое, чем другие способы вегетативного размножения, он успешно может использоваться в фермерском садоводстве.

Летняя прививка (окулировка) дает высокий выход привитого материала, однолетние окулянты достигают высоты 100 – 130 см, диаметр штамба составляет 1,3 – 1,5 см, в этом возрасте они могут быть высажены на постоянное место. Лучшие сроки проведения окулировки в Лесостепи Украины – конец июля – август. При достаточном количестве осадков сроки окулировки могут быть продлены до II декады сентября.

Весенняя прививка проводится во время цветения – в апреле, она – менее эффективна, чем летняя.

Наиболее эффективные методы вегетативного размножения – окулировка и размножение зелеными черенками.

Выход посадочного материала при размножении кизила летней прививкой (окулировкой) составляет 90 – 95 %, отводками – 85 – 90 %, зелеными черенками – 75 – 80 %, одревесневшими черенками – 40 – 60 %, весенней прививкой – 40 – 60 %.

Любой из предложенных способов вегетативного размножения может использоваться как в фермерских садах, так и в промышленных масштабах для массового получения сортового посадочного материала.

Литература

- Chopra, R.N. 1965. Kaw Harjinder. Some aspects of the embryology of *Cornus*. *Phytomorphology*, vol. 15, no. 4, p. 353–359.
- Erdelska, O., Szukukalek, A. 1980. Prispievok k embryologickemu stadium driena *Cornus mas* L. *Zb. ref. z 3-go zjazdu Slov. Bot. spolocn. pri SAV Zvolen*, p. 271–274.
- Seely, S.D., Damavandy, H. 1985. Response of seed of seven deciduous fruits to stratification temperatures and implications for modelling. *Journal American Society Horticultural Sciences*, no. 5, p. 726–729.
- Suszka, B. 2002. Przedsiewne przysposabianie nasion drzew i krzewów do kiełkowania. *Szkółkarstwo*, no. 3, p. 18–19.
- Tylkowski, T. 1991. Thermal conditions for the after – ripening and germination of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) seeds. *Arbor. Kor.*, 36, p. 165–172.
- Ализаде, З.М., Мамедов, Ш.Ш. 1997. Особенности семенного размножения кизила обыкновенного. Шекин. регион. науч. Центр АН Азерб. Респ. Шеки. 7 с.
- Балабак, А.Ф. 1990. Вплив ростових речовин на регенераційну здатність різнотипних живців кизилу. *Дослідження проблем природознавства, техніки, сільського господарства*. Черкаси, с. 26–27.
- Вановский, П.Я., Воронцов, Ф.К. 1952. Ускорение стратификации лесных семян. *Лесное хозяйство*, № 9, с. 22–27.
- Дудукал, Г.Д. 1989. Как вырастить кизил из косточек. *Садоводство и виноградарство Молдавии*, № 7, с. 60.
- Запрягаева, В.И. 1964. *Дикорастущие плодовые Таджикистана*. М.; Л. 695 с.
- Ильина, А.И. 1952. Кизил как плодовое дерево Крыма : автореф. дис. канд. биол. наук. Л. 20 с.
- Іванніков, Д.В. 1999. Прискорене пророщування насіння кизилу за допомогою біологічних стимуляторів росту. *Садівництво*, вип. 49, с. 178–182.
- Кашенко, М.Ф. 1925. *На допомогу київському Акліматизаційному саду*. К. 27 с.
- Клименко, С.В. 1990. *Кизил на Украине*. Киев: Наукова думка. 174 с.
- Клименко, С.В. 2000. *Кизил в Україні. Біологія, вирощування, сорти*. Київ: Укрфітосоціоцентр. 92 с.
- Клименко, С.В. 2013. *Кизил. Каталог сортів*. К: НПП «Интерсервис». 72 с.
- Клименко, С.В., Мельничук, О.А. 2005. Формирование природных популяций кизила (*Cornus mas* L.) в связи с регенерационной способностью. *Проблеми збереження, відновлення та збагачення біорізноманітності в умовах антропогенно зміненого середовища*. Матер. міжнар. конф. Дніпропетровськ: Проспект, с. 104–106.
- Клименко, С.В., Скрипка, Е.В. 1987. Морфология семени. 8 съезд Укр. ботан. общ-ва: тез. докл. Ивано-Франковск, с. 38.
- Клименко, С.В., Скрипка, Е.В., Жолтонога, Д.Д. 1988. Морфологическое разнообразие плодов и эндокарпов кизила. *Интрод. и акклимат. раст.*, вып. 9, с. 80–84.
- Колотова, М.Г. 1982. К вопросу получения всходов кизила. *Труды Азерб. НИИ садоводства*, № 6, с. 287–297.
- Кренке, Н.П. 1950. *Регенерация растений*. М. Л.: Изд-во Моск.ун-та. 675 с.
- Литвиненко, С.Н. 1955. Изучение некоторых биологических особенностей кизила (*Cornus mas* L.) и выявление лучших форм в условиях Киева : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев. 20 с.
- Майборода, В.П. 2003. Стратифікація насіння. *Новини садівництва*, № 3, с. 6.
- Минин, Д.Д. 1962. *Хранение и подготовка к посеву семян древесных, кустарниковых пород*. М.: сельхозгиз. 120 с.
- Надточій, І.П. 1998. Вплив способів передпосівної обробки насіння кизилу на його проростання. *Садівництво. Міжвідомчий тематичний збірник*, № 47, с. 213–216.

- Надточій, І.П. 2005. Вплив строків живцювання і метамерності зелених живців малопоширених садових культур на їх укорінення в умовах штучного туману. *Вісн. ДАУ. Агроекологія*, № 1, с. 57–63.
- Николаева, М.Г. 1967. *Физиология глубокого покоя*. Л.: Наука. 206 с.
- Парфенова, Т.М. 1974. Влияние предпосевной подготовки на ускорение прорастания и на морфологические изменения семян кизила. *Биол. основы семеноведения и семеноводства интродуцентов*. Новосибирск: Наука, с. 216–218.
- Правдин, Л.Ф. 1938. *Вегетативное размножение растений*. М.-Л.: Огиз. Сельхозгиз. 232 с.
- Радулов, Д. 1996. *Предсеитбена стратификация на дряна*. Агроколтас, вип. 12, № 2, с. 4–5.
- Сорта плодовых и ягодных растений селекции Национального ботанического сада им. Н.Н. Гришко*. 2013. Под ред. С.В. Клименко. Киев: Фитосоциоцентр. 104 с.
- Удра, И.Ф. 1984. *Cornus mas* (Cornaceae) на Украине – реликт третичных лесов. *Ботан. журн.*, № 1, с. 33–42.
- Фаустов, В.В. 1985. Проблема регенерации и вегетативного размножения в садоводстве. *Проблемы вегетативного размножения*, С. 21–32.
- Хашба, Л.Х. 1962. *Размножать лучшие сорта и формы кизила*. Сухуми: Абгосиздат. 23 с.



REPRESENTATIVES OF LAMIACEAE LINDL. FAMILY IN COLLECTION OF NON-TRADITIONAL AROMATIC PLANTS OF M.M. GRYSHKO NATIONAL BOTANICAL GARDEN OF NAS OF UKRAINE

Kovtun-Vodyanytska Svitlana

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine

ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ LAMIACEAE LINDL. В КОЛЕКЦІЇ НЕТРАДИЦІЙНИХ ЕФІРОНОСНИХ РОСЛИН НАЦІОНАЛЬНОГО БОТАНІЧНОГО САДУ ІМ. М.М. ГРИШКА НАН УКРАЇНИ

Ковтун-Водяницька Світлана

Received 16. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

In this study discussed taxonomic composition of family of Lamiaceae Lindl., which are represented in the collection of non-traditional aromatic plants in M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine. In article offered the characteristic of unconventional introduced species of three genera such as: *Nepeta argolica* Bory & Chaub., *Pycnanthemum tenuifolium* Schrad. and *Clinopodium menthifolium* (Host) Stace. The biological, morphological features, rhythms of development and methods of plant reproduction under the conditions of introduction are indicated. Collecting og plant material of investigated plants and forming of experimental collections of non-traditional aromatic plants was caried out according to scientific recommendations of Bazilevskaya and Maurin (1982, 1986). Investigashions of plants have been conducted according to Rakhmetov (2006) and Bulakh (2010). The useful properties of these plants for humans, for example, their medicinal properties are described. Analize of literature reviews showed that all investigated plants have characterized by content of biological active compounds such as flavonoids, saponins, glycozides, organic acids, tannins, vitamins, carotene etc. This fact justifies widely use of group of these plants in folk medicine.

Keywords: collection; introductions; aromatic plants; *Nepeta*; *Pycnanthemum*; *Clinopodium*

Вступ

Рослинні колекції відображають видове, формове чи сортове біорізноманіття, представлене в одній об'ємній інтродукційній популяції. Слугують джерелом вихідного матеріалу для інтродукційної, селекційної і насінницької роботи. Головною ідеєю колекціонування є збереження і дослідження рослин, практичне впровадження інтродуцентів з високим адаптивним потенціалом і певним набором корисних ознак, а також ведення просвітницької діяльності.

Формування та підтримка колекції живих рослин вимагає від дослідника комплексного підходу, що базується на синтезі теоретичної і практичної інформації, вмінні трактувати науковий фактаж

***Corresponding author:** Svitlana Kovtun-Vodyanytska, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, ✉ catta-s@ukr.net

і робити логічні висновки. Кожна колекція підлягає таксономічному ранжуванню представників згідно новітніх класифікацій, що слугує запорукою наукової достовірності дослідницької роботи. Підбір зразків, як правило, скерований на відображення призначення колекції.

Матеріали та методи

Накопичення вихідного матеріалу та формування колекції нетрадиційних ефіроносних рослин у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України (НБС) здійснюється згідно рекомендацій, викладених в роботах Н. А. Базилевської, А.М. Маурінь (1982, 1986). Вивчення рослин в умовах колекції проводяться, керуючись розробками Д.Б. Рахметова (2006), П.Є. Булаха (2010).

Результати та їх обговорення

В НБС колекцію ефіроолійних рослин започатковано наприкінці 2012 року, яку в 2017 році трансформовано в колекцію нетрадиційних ефіроносних рослин. В колекції представлені одно-, дворічні та багаторічні трав'янисті рослини, які презентують флористичне різноманіття рівнинної частини Євразії, Далекого Сходу, гірського Кавказу, Середземномор'я, Азорських островів, Американського континенту і в той же час є недостатньо відомими та малопоширеними в Україні. Зазначимо, що Україна є сприятливим регіоном для вирощування як традиційних, так і нових видів ефіроносних рослин. Проте парадоксально, що площі вирощування становлять менше, ніж 0,1 % від посівних площ у державі. Водночас натуральні ефірні олії завдяки різнобічному використанню мають високий попит на світовому ринку і їх виробництво є однією із тих галузей, що найбільш швидко розвивається.

Наразі колекційний фонд ефіроносів в НБС нараховує понад 140 таксонів рослин. Родина *Lamiaceae* Lindl. є найбільш чисельною в колекції і представлена достатньо нетрадиційним видовим складом таких родів: *Nepeta* – 24 види, *Mentha* – 12, *Salvia* – 10, *Ocimum* – 8, *Thymus* – 7, *Agastache* – 6, *Clinopodium* – 4, *Isodon* – 2, *Lavandula* – 2, *Pycnanthemum* – 2, *Teucrium* – 2, *Satureja* – 1, *Sideritis* – 1, *Scutellaria* – 1.

Рід *Nepeta* L. включає 212 таксонів, що трапляються на території Євразії переважно в районах з помірним кліматом, в північно-східній частині Африки. Зазвичай це трав'янисті багаторічники, рідше однорічники чи напівкущики. Рослини достатньо поліфункціональні з широким спектром можливого використання як ефіроолійні, лікарські, пряно-смакові, медоносні, декоративні, овочеві, вітамінні, кормові.

Майже всі представники роду мають запахну надземну частину завдяки вмісту ефірної олії з досить широкою палітрою ароматів. Також сировина містить біологічно-активні сполуки, зокрема флавоноїди, сапоніни, глікозиди, органічні кислоти, дубильні речовини, кумарини, вітаміни, каротин.

Надземна частина використовується при респіраторних захворюваннях, астмі, жовтяниці, подагрі, недокрив'ї, захворюваннях нирок і печінки, для профілактики свинцевого отруєння, як протиревматичний, потогінний, антибактеріальний і фунгіцидний, протівірусний засіб, тощо.

Маловідомим, але перспективним видом є *Nepeta argolica* Bory & Chaub. – трав'янистий полікарпик 30 – 70 см заввишки сіро-зеленого чи сріблястого кольору з м'яким опушенням. Ендемік Греції. Трапляється на кам'янистих схилах і осипах, в лісах від передгір'я до 2100 м над рівнем моря.

Надземна частина містить ефірну олію, флавоноїди, монотерпени, сесквітерпени, урсолову кислоту, тощо. Використовується в традиційній та народній медицині.

В НБС *Nepeta argolica* інтродукована в 2007 році насінним матеріалом із Швейцарії. Квітки дрібні з білим віночком формують верхівкове суцвіття – колосоподібний тирс. При насінному

розмноженні на перший рік життя рослини вступають в генеративну фазу розвитку: цвітіння розпочинається з другої половини серпня, а в подальші роки – з початком літа. Насіння досягає протягом липня.

Рослини можуть поодинокі повторно квітнути протягом серпня, а досягання насіння тоді припадає на II декаду вересня – I декаду жовтня. Вид в умовах НБС (Правобережний Лісостеп) зимостійкий. В окремі теплі зими відростання рослин можливе з кінця лютого. Добре розмножується насінним способом – сівбою та із самосіву. Вид стійкий до шкідників і хвороб. Надземна частина має потужний камфорний аромат, під час цвітіння вміст ефірної олії становить 0,96 %. Сировина виявляє високу антиоксидантну активність 80,2 % (DPPH в метанолі).

Рід *Pycnanthemum* Michx. за новітньою таксономічною обробкою нараховує 22 таксони. Природним місцезростанням видів є Північна Америка. В Україні рід достатньо маловідомий. Види представляють інтерес як ефіроолійні, лікарські, пряно-смакові, інсектицидні, декоративні рослини.

Один із видів – *Pycnanthemum tenuifolium* Schrad. має поширення в окремих районах США та Канади. Попри те, що рослину називають гірською м'ятою, вона не зростає в горах, а надає перевагу відкритим лісовим галявинам, лукам, преріям, узбережжям рік. Місцеве населення із племені Черокі використовує свіже листя у вигляді припарок при головному болю, настій – для лікування застуди, кашлю, розладів шлунку. Настій має антибактеріальний ефект завдяки вмісту в сировині ефірної олії, а також сечогінні, вітрогонні, антисептичні, потогінні властивості, тонізує, лікує запалення та виразки в ротовій порожнині. Подрібненими квітками знімають зубний біль. Концентрованим відваром трави обробляють гнійні рани на тілі. Свіжим листям натираються, щоб запобігти укусам москітів та інших комах.

Використовується надземна частина рослини, зібрана в період цвітіння, як в свіжому, так і сухому вигляді. Всі частини рослини при розтиранні мають приємний м'ятний аромат. Сировина містить біологічно активні сполуки, зокрема ефірну олію, терпени, фенольні кислоти, флавоноїди, тощо.

Рослина багаторічна. Заввишки 50 – 75 см, добре облистлена дрібними вузькими листочками. Квітки дрібні, білі чи блідо-пурпурові із пурпурними цятками зібрані у щільні верхівкові суцвіття. В умовах НБС *Pycnanthemum tenuifolium* інтродуковано в 2014 році насінним матеріалом з Німеччини. При розмноженні насінням вид потребує вирощування розсади, оскільки насіння та сходи надзвичайно дрібні, є необхідність пікірування та дорощування, перш ніж висаджувати у відкритий ґрунт. Весняне відростання починається з I – II декади березня. Цвітіння триває з III декади червня до кінця липня. Насіння досягає наприкінці вересня – початку жовтня. Добре зимує. Гарно закріплює ґрунт. Вид стійкий до шкідників. Хвороб не виявлено. Розмножується насінним та вегетативним шляхом – поділом кущів навесні; останній є пріоритетним.

Рід *Clinopodium* L. включає близько 200 таксонів. Представники роду поширені в Європі, Західній Азії, на Кавказі, в окремих районах Африки та Америки. У флорі України трапляється 5 видів, з яких 2 – лише в Криму.

Це багаторічні рослини, які за своєю життєвою формою є трав'янистими полікарпіками, кущами чи напівкущиками. Переважна їх більшість має ароматну надземну частину завдяки ефірній олії, що використовується в парфумерії. Також у рослинах виявлені сапоніни, дубильні речовини, кислоти – урсолова і олеанолова, вітамін С, тритерпеноїди, феноли та інші.

Траву використовують у народній медицині Болгарії, Великобританії, Франції, Індії як відхаркувальний, антибактеріальний засіб, як спазмолітичне, протикашльове, знеболююче, для стимуляції роботи серцевої системи, при переохолодженні, ревматизмі, при захворюваннях ШКТ (метеоризмі, диспепсії, кольках), при нервових захворюваннях, викликаних стресом, тощо. У Франції один із видів (*Clinopodium vulgare*) включено до Національної Фармакопеї.

Сировину окремих видів використовують в кулінарії та як барвник. Ряд сортів використовується в озелененні та в лікарських городах.

Clinopodium menthifolium (Host) Stace інтродуковано в НБС в 2012 році із Франції. Це трав'янисті багаторічники заввишки 25 – 40 см. Квітки дрібні пурпурові. Рослини квітнуть з кінця червня до III декади серпня. Насіння досягає наприкінці серпня. Добре зимують. Весняне відростання спостерігається в першій половині березня.

Гарно переносять пересадку та розмноження поділом кущиків. Вразливі до кореневих гнилей. Люблять притінок. Погано витримують тривалий сухий період (понад 30 діб).

Висновки

Залучення до інтродукційного процесу нових нетрадиційних видів, зокрема з родини Lamiaceae, які вирізняються поліфункціональністю, створює передумови для успішного розширення сировинної бази ефіроносних рослин у вітчизняних культурфітоценозах.

Література

- Базилевская, Н.А., Мауринь, А.М. 1982. *Интродукция растений. История и методы отбора исходного материала*. Рига : ЛГУ им. П. Стучки. 104 с.
- Базилевская, Н.А., Мауринь, А.М. 1986. *Интродукция растений. Экологические и физиологические основы*. Рига : ЛГУ им. П. Стучки. 107 с.
- Рахметов, Д.Б. 2006. Теоретичні і прикладні аспекти інтродукції лікарських та інших корисних рослин в Україні. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень*. К., с. 154–160.
- Булах, П.Е. 2010. *Теория и методы прогнозирования в интродукции растений*. К.: Наукова думка, 112 с.



COMPARING BETWEEN THE AMINO ACID COMPOSITION OF FLAX SEEDS BEFORE AND AFTER GERMINATION

Kraievska Svitlana^{1*}, Stetsenko Natalia¹, Korol Oksana²

¹National University of Food Technology, Kyiv, Ukraine

²Kyiv Cooperative Institute Business and Low, Kyiv, Ukraine

Received 21. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Flax (*Linum usitatissimum* L.) is well known for its health benefits and chemical composition. Flax seeds are emerging as one of the key sources of phytochemicals in the functional food production. In addition, to being one of the richest sources of α -linolenic acid oil and lignans, flax seed is an essential source of high-quality protein and soluble fibre. This study aimed to evaluate the amino acids changes caused by germination. Amino acids are an important component of food. They serve as "building blocks" that make up proteins. Protein deficiency in the body leads to disruption of its normal operation – loss of memory and mental relaxation opportunities and reduce the body's resistance. The effectiveness of the use of protein by the body is determined by two parameters: its balance on the content of essential amino acids and the digestible (dietary) indispensable amino acid score. DIAAS has been adopted internationally as the most suitable method for routine evaluation of protein quality of foods by the Food and Agriculture Organization/World Health Organization. (FAO Food and Nutrition 92, 2013.) We used DIAAS for protein quality evaluation in flax seed and germination flaxseed.

Keywords: flaxseed; germination ; amino acids; sprouts; DIAAS

Introduction

Flax (*Linum usitatissimum* L.) belonging to family Lineaceae is also known as linseed, which has regained popularity as potential food ingredient because of its nutritional constituents. Nowadays, flaxseed has been recognized as a potential functional food source owing to its bioactive components – omega-3 fatty acid, lignans and dietary fibre (Kajla et al., 2014). The seeds have a crisp, chewy texture and a pleasant, nutty taste. Flaxseed serves as the best and only source of omega-3 fatty acid to the vegetarian diet. Use of natural sources to enhance the nutritional quality of human health is gaining momentum. Germination is a technological application widely used for its ability to reduce the levels of anti-nutritional factors in the seeds and improves the palatability and availability of nutrients (Vidal-Valverde et al., 2002). Most commonly used sprouts to date are from pulses and cereals. Sprout consumption reduced the risk of cancer due to a presence of higher concentrations of health-protecting phytochemicals. DIAAS is the recommended method for dietary protein quality assessment for regulatory purposes, and the use of true ileal digestible amino acid contents in their own right for describing foods is also encouraged.

*Corresponding author: Svitlana Kraievska, National University of Food Technology, Kyiv, Ukraine,
✉ s.p.kraievska@gmail.com

Materials and methodology

It was studied the mature flax “Vruchiy” variety grown in the Kiev region, Ukraine. Flax seeds were cleaned thoroughly to free from dust, dirt and other foreign matter. Damaged seeds were discarded. Flax seeds are difficult to sprout due to a lot of mucilage upon soaking seeds in water. The procedure for obtaining uniformly germinated flax sprouts is described briefly below.

Growing Flax Sprouts

1. Flax seeds (40 g) were thoroughly rinsed twice (8 am and 4 pm) with a continuous flow of water using a sieve for one minute on the first day and soaked overnight in Petri dishes.
2. On the second day, the seeds were washed thoroughly to get rid of the mucilaginous gel-like material of the seeds and were uniformly spread on sprouted tray (Tribest. Freshlife. FL-3000, automatic sprouter) and were kept at room temperature. Seeds sprayed 3 times a day with fresh water.
3. On the third day spraying was continued 4 times with fresh water. The sprouted tray with germinating seeds in automatic sprouter “Freshlife FL-3000” was kept at room temperature.
4. On the fourth day, fresh sprouts washed with running water and studied the change in the amino acid composition of flax seeds before and after germination. The quality of the sprout was determined by its uniformity in sprouting, non-sticky tender appearance and fresh spout smell.

Amino acid determination

The amino acid composition of tested samples was analyzed by ion-exchange chromatography (Llames and Fontaine, 1994). The content of amino acids after hydrolysis with 6 M HCl was determined using an automatic AA analyzer (AAA T339, Prague, Czech Republic). The amino acid composition was calculated from the areas of standards obtained from the integrator and expressed as percentages of the total protein.

Nutritional quality determinations

Nutritional qualities were determined on the basis of the amino acid profiles. The Essential Amino Acid Index (EAAI) was calculated using the method of Labuda et al. (1982) according to the equation below:

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100a \cdot 100b \dots 100j}{av \cdot bv \dots jv}}$$

where: n – number of essential amino acids; $a, b \dots j$ – the concentration of essential amino acids in a test sample; $av, bv \dots jv$ – content of the same amino acids in standard protein (FAO/WHO 2013 (older child, adolescent, adult)) respectively

The digestible (dietary) indispensable amino acid score (DIAAS) is the recommended method for dietary protein quality assessment for regulatory purposes (FAO Food and Nutrition 92, 2013.) DIAAS for a food or food ingredient can be obtained from the digestible indispensable amino acid (DIAA) content in 1 g protein of food and the IAA reference ratio. These values can be calculated using the following equations:

$$DIAAS = \text{Ileal IAA digestibility} * (\text{IAA in protein} / \text{IAA requirement})$$

Results and discussion

Flax seed proteins are divided into two groups: albumins and globulins (Wanasundara, 1995). Flax is gluten-free. Amino acids are the building blocks of protein. The amino acid pattern of flax protein is similar to that of soybean protein, which is viewed as one of the most nutritious of the plant proteins (Зубцов, 2002). These are the ones that must be included in the diet because the human body cannot make them. Research showed that flax seed protein before and after germination contain 18 amino acids including 10 essential (His + Arg) (Table 1). The amino acid profile of flax showed that Arginine, Leucine, Phenylalanine + Tyrosine was the most abundant, Isoleucine – limited.

Table 1 Amino acid (g/100 g of protein) composition of flax seeds and flax sprouts

Amino acids	Flax seeds	Flax sprouts
Non-essential amino acids		
Alanine	5.58	6.16
Aspartic acid	9.09	14.01
Serine	5.83	5.79
Glutamic acid	24.14	23.58
Total	44.64	49.54
Conditionally essential amino acids		
Proline	6.16	1.64
Glycine	7.15	6.32
Arginine	9.57	7.26
Cystine	0.83	0.67
Tyrosine	2.66	3.96
Total	26.37	19.85
Essential amino acid		
Lysine	3.90	4.40
Histidine	1.89	1.75
Threonine	3.66	3.93
Methionine	2.13	2.11
Isoleucine	2.68	2.76
Leucine	6.15	6.37
Tryptophan	0.8	0.9
Phenylalanine	4.31	4.06
Valine	3.48	3.72
Total	29	30

Continuation of Table 1

Amino acids	Flax seeds	Flax sprouts
Nutritional quality		
TSAA (Meth + cystein)	2.96	2.78
TArAA (Phenyl + Tyro)	6.97	8.02
TEAAs + Arg	42.06	33.86
EAAI	1.13	1.18

TSAAs – total sulfur amino acids, TAAAs – total aromatic amino acids, TEAAs – total essential amino acids, EAAI – the essential amino acid index

The total essential amino acid profile of flax seed and germinated flax sprouts were 29 and 30 g/100g respectively. Nutritional quality of flax seeds can be improved by germination process. Germination is extensively helpful in reducing the antinutritional factors to a larger extent (Kajla et al., 2017)

Table 2 Calculation of DIAAS value for flax seed and germinated flax sprouts

Parameters	His	Ile	Leu	Lys	SAA	AAA	Thr	Trp	Val
FAO/WHO (older child, adolescent, adults)*	16	30	61	48	23	41	25	6.6	40
Flax	18.9	26.8	61.5	39	21.3	43.1	36.6	8	34.8
Sprouts	17.5	27.5	63.7	44	21.1	40.6	39.3	9	37.2
SID**	76.4	82.3	80.6	73.9	77.6	84.7	73.5	70.5	79.8
Digestible IAA ref ratio flax	90.25	73.52	81.26	60.04	71.86	89.04	107.60	85.45	69.43
Digestible IAA ref ratio sprouts	83.56	75.44	84.17	67.74	71.19	83.87	115.54	96.14	74.21
DIAAS flax	60.04 (Lys)								
DIAAS sprouts	67.74 (Lys)								

SAA – sulfur amino acids; AAA – aromatic amino acids; SID – standardized ileal amino acid digestibility; * amino acid requirements/protein requirements for the selected age groups (FAO/WHO 2013); ** the standardized ileal amino acid digestibility (SID), (Eastwood and Leterme, 2010)

Flax “Vruchiy” contains 24 percent crude protein and also contains appreciable amounts of many of the essential amino acids. The standardized ileal amino acid digestibility (SID) coefficients for the essential amino acids range from 67 to 94 percent, which affects the overall protein quality of the product.

Flax seed proteins are potent multi-functional ingredients for food formulation owing to their techno-functionalities, food preservation capacity, and health benefits. Flax seeds and germinated flax are characterized by a low Lysine content (39.44% – respectively) in comparison to other meal products and when compared to the requirements of the older child, adolescent, adults (48%) It will be critical to consider this low Lysine content and digestibility in technologies of functional products.

Conclusions

Flax seeds are a source of good fats, quality protein, fiber and minerals. DIAAS for sprouted flax is higher than flax seed by 7%, which characterizes the improvement in the combination of amino acids after sprouting. The use of germinated flaxseeds can be exploited in functional foods, gluten-free technologies, and nutraceuticals industry. Flaxseed and germinated flax are characterized by a low Lysine content (DIAAS 60.04 and 67.74 respectively), it will be critical to consider this low Lysine content and digestibility in technologies of functional products.

References

- Eastwood, L., Leterme, P. 2010. Nutritional value of flaxseed meal for swine and its effects on the fatty acid profile of the carcass. *Journal of animal science*, vol. 7, p. 3607–3619. DOI: [10.2527/jas.2008-1697](https://doi.org/10.2527/jas.2008-1697).
- FAO/WHO, 2013. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Report of an FAO Expert Consultation. *FAO Food and nutrition paper*, no. 92, 66 p. ISBN 978-92-5-107417-6.
- Wanasundra, J.D. 1995. *Protein products and sprouts from flaxseed: dissertation these*. Department of Biochemistry Memorial University of Newfoundland, Canada. 335p.
- Kajla, P., Sharma, A., Sood, D.R. 2014. Flaxseed – a potential functional food source. *J Food Sci Technol.*, vol. 52, p. 1857–1871.
- Labuda, J., Kacerovský, O., Kováč, M., Štirba, A. 1982. *Výživa a kŕmenie hospodárskych zvierat*. Bratislava: Príroda, 164 p.
- Llames, C.R., Fontaine, J. 1994. Determination of amino acids in feeds: Collaborative study. *Journal of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International*, vol. 77, no. 5, p. 1362–1402.
- Kajla, P., Sharma, A., Sood, D.R. 2017. Effect of germination on proximate principles, minerals and anti nutrients of flaxseeds. *Asian J. Dairy & Food Res*, vol. 36, no. 1, p. 52–57.
- Vidal-Valverdec, F.J., Sierra, I. 2002. New functional legume foods by germination: Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. *Eur J Food Res Technol.*, vol. 215, p. 472–477.
- Зубцов, В.А., Осипова, Л.Л., Лебедева, Т.И. 2002. Льняное семя его состав и свойства. *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева)*, т. XLVI, № 2, с. 14–16.



MICROBIOLOGICAL INDICATION OF SOILS IN ZONE OF INFLUENCE OF PERECHIN TIMBER AND CHEMICAL PLANT

Kryvtsova Maryna*, Bobrik Nadija, Sabov Marjan, Sabov Mark

Uzhhorod National University, Uzhhorod, Ukraine

МІКРОБІОЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ ҐРУНТІВ У ЗОНІ ВПЛИВУ ПЕРЕЧИНСЬКОГО ЛІСОХІМКОМБІНАТУ

Кривцова Марина, Бобрик Надія, Сабов Мар'ян, Сабов Марк

Received 22. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The soil is the most sensitive indicator of the environmental and geochemical state of the ecosystems, for it is there that all migration ways of chemical elements, including toxic ones, intersect. It is important to consider the reaction and role of soil microbial associations that on the one hand sensitively react to a technogeneus impact and on the other hand take part in soil formation processes and determine to a considerable extent the plants' soil growth conditions. The purpose of the paper is to study the factory impact (Perechin timber and chemical plant) upon the soil microbiota, to identify the level of heavy metals and nitrates in the soil covered with lawn herbage, and to evaluate the air pollution by microbiological indicators. A complex study of the state of the microbiota, contents of heavy metals and nitrates in the soils near the factory is conducted. The soils located in the factory influence's zone are shown to be characterized by a heightened content of Pb and Zn as compared with the maximum permissible concentrations (MPC) for these metals. Excess of the background values of the heavy metals under review proved presence of a significant technogeneus pollution. The study recorded the reconstruction of the microbial soil coenosis as compared with the control. The soil microbiocoenosis is established to have undergone a reconstruction characterized by an increased number of oligotrophs, ammonifiers and a decreased content of *Azotobacter*. It has been ascertained that the highest level of nitrates was recorded in the soil of Spot 30 m from factory.

Keywords: soil; heavy metals; nitrates; microbial coenosis

Вступ

Відомо, що ксенобіотики техногенного походження суттєво впливають на всі ланки екосистем, в тому числі мікробіоценози, які є чутливими індикативними компонентами будь-якої екосистеми. Зокрема, важкі метали, потрапляючи в ґрунт з газопиловими викидами промислових підприємств, автотранспорту, з домішками добрив, пестицидів та ін., накопичуються в ньому до концентрацій, що перевищують ГДК і можуть вплинути на ґрунтову мікрофлору. Основними джерелами забруднення ґрунтів навколо великих промислових центрів є підприємства чорної та кольорової металургії, хімічної, нафтохімічної та енергетичної промисловості. Під впливом атмосферних опадів та розтавання снігу ці забруднення

*Corresponding author: Maryna Kryvtsova, Uzhhorod National University, Uzhhorod, Ukraine,
✉ maryna.krivcova@gmail.com

проникають в глибину ґрунтів на 20 – 30 см і більше залежно від їхньої розчинності у воді та сорбційної здатності.

Одним із найкрупніших промислових підприємств Закарпаття є «Перечинський лісохімічний комбінат». Комбінат розташований на відстані 600 – 800 м від центру населеного пункту смт. Перечин (в північно-східній частині). Побудований ще в 1893 р. австро-угорською компанією, завод спеціалізується на виробленні деревного вугілля, карбамідо-формальдегідних смол, метилового спирту та оцтової кислоти. Продукція експортується до Німеччини, Бельгії, Іспанії, Польщі, Нідерландів, Італії, Австрії та інших країн Європи.

Внаслідок запровадження активних технічних оновлень на початку 2000-х років виробництво на заводі зросло в багато разів. З 2010 р. виробнича потужність етилацетату збільшена до 25 тис. тонн на рік, карбамідо-формальдегідних смол – до 50 тис. тонн на рік, деревного вугілля і брикетів – до 25 тис. тонн на рік. Проте відкритим залишається питання екологічно безпечної утилізації відходів виробництва. Для виготовлення карбамідо-формальдегідних смол використовують формалін, карбамід і карбамід формальдегідний концентрат, залишки яких потрапляють у ґрунт. Скид відходів у потік Старий Домарадж (зараз Новий Домарадж) створює небезпечну ситуацію забруднення підземних вод та р. Уж. Вченими встановлено підвищений вміст у стічних водах заводу сульфат-йонів, йонів амонію, ацетат-йонів, фенолів та перевищення колі-титру допустимих норм на кілька порядків (Boyko and Chonka, 2001).

Закарпатським обласним центром з гідрометеорології було проаналізовано вплив діяльності Перечинського лісохімкомбінату на якість атмосферного повітря в м. Ужгороді. За приблизними підрахунками згідно ОНД-86 (без врахування коефіцієнта рельєфу місцевості), якщо підприємство викидає в повітря в нічний час близько 2,7 т формальдегіду, то його максимальна приземна концентрація в м. Ужгороді (відстань – 19 км) може складати за несприятливих погодних умов майже 10 ГДК; концентрація в селищі Перечин може перевищити ГДК в багато разів (Доповідь..., 2010).

Завданням наших досліджень було провести хімічний аналіз ґрунтів на різній відстані від заводу; дослідити порушення ґрунтового мікробоценозу в зоні впливу лісохімкомбінату; з використанням статистичних методів виявити вплив хімічних чинників на перебудову асоціацій ґрунтових мікроорганізмів.

Матеріали та методи

Проби ґрунту відбирались на відстані 30 м, 50 м, 100 м і 150 м від місця викидів. Відбір, підготовка та зберігання зразків ґрунту для дослідження аеробної мікробіоти проводили відповідно до ДСТУ ISO 10381-6-2001.

Кислотність ґрунтового розчину проводили потенціометрично (Зырини Орлов, 1980). Визначення актуальної кислотності (водна витяжка) проводили з використанням мультиметра WTW Multi 350i (set 5). Визначення нітратів в ґрунті проводили з використанням приладу Нітратааналізатор РХ-150.1 (Зуй, 2003). Визначення гумусу проводили за методом І.В. Тюріна (1965). Визначення масової частки рухомих форм важких металів (Cu, Pb, Zn) проводили за допомогою атомно-абсорбційного аналізу (Студеняк та ін., 2014).

Основні еколого-трофічні групи мікроорганізмів ґрунту визначали методом серійних розведень ґрунтової суспензії з використанням диференційно-діагностичних поживних середовищ (Методы ..., 1991). Амоніфікатори враховували на м'ясопептонному агарі (МПА), мікроміцети – на середовищі Сабуро, актиноміцети та мікобактерії – на крохмаль-аміачному агарі (КАА), бактерії групи кишкової палички – на Ендо, олігонітрофіли – на середовищі Ешбі, оліготрофи – на голодному агарі (ГА), спорові – на МПА (шляхом висіву пропастеризованої ґрунтової суспензії), педотрофи – на ґрунтовому агарі, целюлозолітичні мікроорганізми – на середовищі Гетчинсона, *Azotobacter* – за методом обростання грудочок ґрунту на середовищі

Ешбі. Результати виражали числом КУО на 1 г абсолютно сухого ґрунту. Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення

Нами проведено визначення деяких хімічних показників ґрунтів у зоні впливу Перечинського лісохімкомбінату. Вміст гумусу коливався в межах від 8,21 (100 м) до 14,41 % (30 м від заводу) (табл. 1).

Таблиця 1 Значення актуальної кислотності, гумусу та нітратів ґрунту, що знаходиться в зоні впливу заводу

Table 1 The value of actual acidity, humus and nitrate of the soil located in the factory influence zone

Проба	Вміст гумусу, %	Вміст нітратів, мг/кг	pH
30 м	14,41	854,0	5,67
50 м	9,92	274,0	5,30
100 м	8,21	95,9	6,95
150 м	10,37	89,8	6,93

Підвищений вміст гумусу у ґрунтах, наближених до заводу, можна пояснити розповсюдженням відходів деревини за територію заводу.

При визначенні вмісту нітратів виявлено пряму залежність зниження їх вмісту з віддаленням від заводу. При цьому на відстані 30 м їх кількість суттєво зростала. У ґрунті, відібраному на відстані 30 м від заводу, їх вміст становив 854 мг/кг, на відстані 50 м знижується втричі, а на відстані 100 та 150 м – ще втричі. При визначенні pH ґрунтового розчину встановлено, що ґрунти, наближені до заводу, мають сильно кислу реакцію, а при віддаленні від заводу (100 та 150 м) виявлено нейтральні ґрунти.

Вміст важких металів (ВМ) у ґрунтах вказує на загальний геохімічний стан ґрунту. Проте важливішим показником виступає не валовий вміст ВМ, а вміст рухомих форм, які можуть засвоюватись біотою та мігрувати по трофічних ланцюгах. У монографії (Забруднювачі..., 2008) проаналізовано наслідки забруднення території р. Тиса важкими металами внаслідок паводків та серії аварій на румунських гірничодобувних підприємствах. Встановлено, що у ґрунтах притисянських заплав Закарпаття вміст цинку перевищував ГДК у 5 разів, плюмбуму – у 7, купруму – у 1,3, мангану – до 3,4 разів. За період 2000–2002 р. спостерігали тенденцію до зменшення вмісту ВМ. На думку дослідників, у ґрунтах Закарпаття контроль за вмістом Zn та Pb потребує додаткової уваги.

Встановлено, що вміст ВМ у ґрунтах в зоні впливу лісохімічного комбінату перевищують гранично-допустимі концентрації (ГДК), а тому виникає необхідність детального фізико-хімічного та мікробіологічного обстеження даних територій.

Встановлено, що вміст Купруму (Cu) коливався в межах 0,16 – 0,25 мг/кг, що не перевищувало ГДК (3 мг/кг). Найбільше перевищення ГДК вставлено для цинку (Zn). У ґрунті на відстані 30 м вміст даного металу перевищував ГДК у 3,5 разів і становив 82,50 мг/кг. Аналогічно вміст Плюмбуму (Pb) сягав рівня ГДК також на відстані 30 м. Отже, забрудненою вважається точка «30 м від заводу, оскільки тут реєстрували вміст рухомих форм ВМ, що перевищує ГДК (рис. 1).

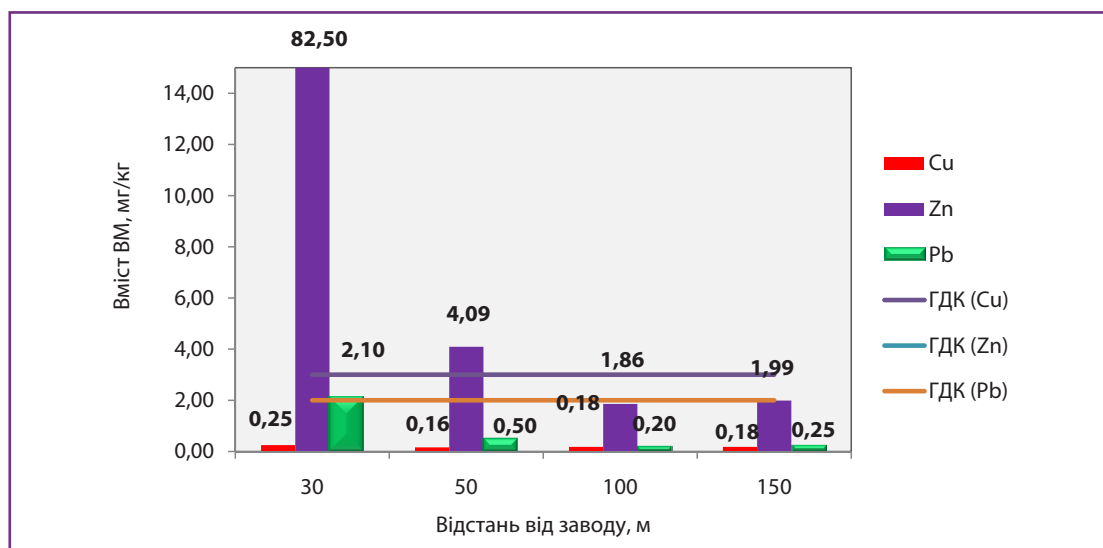


Рисунок 1 Вміст важких металів у ґрунтах, що знаходяться у зоні впливу заводу

Figure 1 Contents of heavy metals in the soils of factory influence zone

При проведенні мікробіологічних досліджень встановлено порушення кількісного складу мікробних угруповань ґрунту у зоні впливу лісохімічного комбінату. Кількість амоніфікаторів закономірно підвищувалась при віддаленні від заводу (табл. 2). На відстані 30 м від заводу їх кількість становила 5,08 млн. КУО/1 г сух. ґр. На відстанях 50 м і 100 м їх кількість суттєво не відрізнялась. Шляхом застосування кореляційного аналізу виявлено негативну кореляцію між кількістю амоніфікаторів та вмістом Zn ($r = -0,52$) та Pb ($r = -0,56$).

Таблиця 2 Мікробіота ґрунту у зоні впливу заводу, $M \pm m \times 10^6$ КУО/1 г сухого ґрунту, $n = 6$

Table 2 Soil microbiota in the factory influence zone, $M \pm m \times 10^6$ CFU/g of dry soil, $n = 6$

Група мікроорганізмів	Точка відбору проб, м від заводу			
	30	50	100	150
Амоніфікатори	5,08 $\pm$ 0,61a	7,67 $\pm$ 0,56b	10,33 $\pm$ 1,12b	26,17 $\pm$ 2,82c
Мікроміцети	0,43 $\pm$ 0,08a	0,63 $\pm$ 0,06a	0,52 $\pm$ 0,10a	2,08 $\pm$ 0,30b
Актиноміцети	6,63 $\pm$ 0,42	6,90 $\pm$ 0,61	9,43 $\pm$ 1,24	8,65 $\pm$ 0,85
Олігонітрофіли	0,88 $\pm$ 0,99a	3,43 $\pm$ 0,94b	4,72 $\pm$ 0,46b	3,20 $\pm$ 0,83b
Міксобактерії	0,18 $\pm$ 0,03a	4,33 $\pm$ 0,67c	2,13 $\pm$ 0,05b	1,78 $\pm$ 0,17b
Спорові	1,23 $\pm$ 0,10a	1,17 $\pm$ 0,08a	1,73 $\pm$ 0,24ab	2,45 $\pm$ 0,11c
Оліготрофи	9,00 $\pm$ 0,26c	3,35 $\pm$ 0,21a	2,78 $\pm$ 0,28a	4,13 $\pm$ 0,14ab
Педотрофи	12,65 $\pm$ 0,30b	21,27 $\pm$ 0,14c	23,17 $\pm$ 0,60c	5,70 $\pm$ 0,18a
Целюлозолітичні	0,20 $\pm$ 0,04a	0,63 $\pm$ 0,06c	3,38 $\pm$ 0,46d	0,37 $\pm$ 0,06b
БКГП	0,63 $\pm$ 0,10a	2,90 $\pm$ 0,26b	2,42 $\pm$ 0,15b	0,45 $\pm$ 0,08a
Азотфіксатори, %	13,33 $\pm$ 1,42a	22,22 $\pm$ 1,41b	24,45 $\pm$ 1,11b	25,56 $\pm$ 0,70b

літерами а – d позначено статистично достовірні відмінності кількості мікроорганізмів ($P < 0,05$)

Кількість мікроміцетів на відстані 30 – 100 м від заводу істотно не відрізнялась між собою і коливалась в межах 0,43 – 0,63 млн. КУО/1 г сух. гр. Вже на відстані 150 м їх кількість зростає вдвічі. Встановлено середній негативний кореляційний зв'язок між кількістю мікроміцетів та ВМ ($r = -0,31 - -0,45$).

Кількість актиноміцетів та мікроорганізмів, що засвоюють мінеральні форми азоту, суттєво не відрізнялась між собою на всіх варіантах досліду.

Найменшу кількість олігонітрофілів виявлено на відстані 30 м від заводу (0,88 млн. КУО/1 г сух. гр). При віддаленні від заводу їх кількість зростає у 2 – 3 рази. Такі ж тенденції виявлено і для азотфіксаторів, які здатні чутливо реагувати на зміни фізико-хімічних властивостей ґрунтів та внесення політантів. Їх вміст зростає з 13,33 % на відстані 30 м від заводу до 22,22 – 25,56 % на віддалених ділянках. Встановлено, що зниження кількості олігонітрофілів та азотфіксаторів співпадає з високим вмістом рухомих форм ВМ та нітратів, про що свідчать високі коефіцієнти кореляції ($r = -0,64 - -0,78$ – для олігонітрофілів та $r = -0,88 - -0,99$ для азотфіксаторів). Вченими також встановлено високу чутливість азотфіксаторів до хімічних забруднювачів (Мынбаева, Курманбаев, 2011).

Вміст спорових мікроорганізмів поступово підвищується при віддаленні від заводу. Кореляційний аналіз показав, що їх зниження спричинене більшою мірою підвищенням вмістом нітратів ($r = -0,63$), ніж вмістом ВМ ($r = -0,28 - -0,56$).

На відстані 30 м встановлено найвищу кількість оліготрофілів, які розвиваються на збіднених середовищах і потребують для росту малу кількість поживних речовин. Це єдина група мікроорганізмів, для якої виявлено позитивну кореляцію з вмістом ВМ та нітратами.

Висновки

У результаті досліджень встановлено хімічне забруднення ґрунтів, наближених до заводу, що зумовлено підвищенням вмістом нітратів та ВМ, що перевищує ГДК. Також у зоні забруднення відбувається сильне закислення ґрунтів. Встановлено порушення кількісного складу мікробних ценозів. Шляхом застосування кореляційного аналізу встановлено, що найчутливішими групами до вмісту політантів у ґрунті є азотфіксатори та олігонітрофіли. Кількість актиноміцетів суттєво не змінювалась, а динаміка вмісту оліготрофілів співпадала з підвищенням вмістом ВМ. Проведені дослідження показали наявність хімічного забруднення прилеглих до заводу територій (30 м) та як наслідок перебудову мікробних ценозів.

Література

- Boyko, N., Chonka, I., Nikolaichuk, V., Kovalchuk, A., Dziamko, V., 2001. Bacteriological Assessment of Prospects of the use of Zeolites for Treatment of Industrial Effluents. *Науковий Вісник УжНУ, серія Біологія*, № 10, с. 165–170.
- Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Закарпатській області за 2009 рік. Державне управління охорони навколишнього природного середовища в Закарпатській області. Ужгород, 2010. 159 с.
- ДСТУ ISO 10381–6–2001 Якість ґрунту. Відбір проб. 2006. К.: Держспоживстандарт України. 181 с.
- Забруднювачі та їх впливи на екологічно вразливі екосистеми Верхнього Потисся. 2008. Н. Бойко, Ш. Балажі, Ю. Галас, Г. Коваль, та ін. Під ред. Н. Бойко, Ш. Балажі. Ужгород – Ніредьгаза. 380 с.
- Зуй, М.Ф. 2003. *Хімічний склад та аналіз основних компонентів ґрунту*. К: Урожай. 86 с.
- Зырин, Н.Г., Орлов, Д.С., 1980. *Физико-химические методы исследования почв*. И-во МГУ, Москва. 382 с.

- Методы почвенной микробиологии и биохимии.* 1991. И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Б.А. Бызов и др. под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: МГУ. 304 с.
- Мынбаева, Б.Н., Курманбаев, А.А., Воронова, Н.В. 2011. Микробная биоиндикация почв Алматы с помощью культуры *Azotobacter*. *Фундаментальные исследования*, № 6, с. 206–209.
- Студеняк, Я.І., Воронич, О.Г., Сухарева, О.Ю., Фершал, М.В., Базель, Я.Р. 2014. *Практикум з аналітичної хімії. Інструментальні методи аналізу.* Ужгород. 129 с.
- Тюрин, И.В. 1965. *Органическое вещество почвы и его роль в плодородии.* М.: Наука. 320 с.



EXTENSION AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN GLOBALIZATION CONDITIONS

Kudinova Iryna

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ДОРАДНИЦТВО ТА СТАЛИЙ РОЗВИТОК В УМОВАХ ГЛОБАЛІЗАЦІЇ

Кудінова Ірина

Received 15. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The theoretical aspects of sustainable development are considered in the article. Its essence and features are exposed in the agrarian sector of economics. It is well-proven that sustainable development of territory depends on sustainability of economic, social and ecological factors and sent to satisfaction of necessities present and future generations. The Extension service (informatively-consultative) of sustainable development of agriculture is reasonable. The primary objective of sustainable development of territory is providing of accumulation of resource possibilities for realization of the extended recreation and increase of level of welfare of population without harm to the environment. Creation of research and information centers and scientifically-educational establishments is offered on questions sustainable development and centers of the best practices of sustainable development.

Keywords: extension; sustainable development; information and consultation providing; agriculture

Вступ

Проблема досягнення сталого розвитку держави в умовах посилення глобалізаційних викликів набуває особливої уваги. Сталий розвиток є новою світоглядною, політичною та практичною моделлю розвитку для усіх країн світу, які розпочали перехід від суто економічної моделі розвитку до пошуку оптимального балансу між трьома складовими розвитку – економічною, соціальною та екологічною. Реалізація цієї моделі потребує формування системи публічного управління сталим розвитком, необхідною передумовою якого та його важливою складовою, є належне дорадче забезпечення, що підвищує ефективність прийняття управлінських рішень. Метою нашої роботи було вивчення теоретичних підходів та практичних засад дорадчого (інформаційно-консультаційного) забезпечення сталого розвитку сільського господарства.

Матеріали та методи

Методологічною основою дослідження обрано системний підхід до вивчення процесів та явищ, за допомогою якого виявлені проблеми розглядаються з позицій цілісності і нерозривності об'єкта та середовища його існування, цілей і методів управління, засобів та інструментів моніторингу.

***Corresponding author:** Iryna Kudinova, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ ikudinova@ukr.net

Системний підхід дає можливість ідентифікувати проблемні аспекти сталого розвитку та його дорадчого забезпечення.

Проблеми розвитку дорадчої діяльності досліджуються протягом тривалого часу. Їх вирішенню присвятили свої праці відомі вчені: М.Ф. Кропивко, Т.П. Кальна-Дубінюк, М.Ф. Безкровний, Л.Х. Рибак, В.А. Верба, Т.І. Решетняк та інші дослідники. Однак, актуальність представлених питань та їхнє недостатнє науково-методичне забезпечення потребують розвитку досліджень.

Результати та їх обговорення

Сільськогосподарське дорадництво на сьогоднішній день відіграє велике значення у розвитку сільських територій у цілому. Сільськогосподарська дорадча діяльність спрямована на задоволення потреб сільськогосподарських товаровиробників і сільського населення у підвищенні рівня їх знань і удосконаленні практичних навичок прибуткового господарювання, поліпшення добробуту селян і розвиток сільської місцевості.

Сільськогосподарське дорадництво почало формуватися на початку 2000-х років, а дістало своє правове закріплення у Законі України “Про сільськогосподарську дорадчу діяльність” від 17 червня 2004 р. Саме цей закон виокремив особливості правового регулювання дорадництва у сільському господарстві.

Проведений аналіз економічної літератури показав, що дорадництво – це нове економічне явище, яке має на меті відродити сільське господарство та забезпечити його стабільний, сталий, прибутковий розвиток, на основі специфічних методів (підвищення рівня знань та практичних навичок на основі активних методів навчання; забезпечення найновішою інтегрованою інформацією з різних сфер буття; індивідуальними практичними порадами, демонстраційними показами), формувати нового селянина з новим типом економічного мислення, новою ринковою мотивацією та поведінкою і надає можливість цим ключовим факторам прогресу формувати нове сільське виробництво і нове село.

Дорадча освіта залучає свідоме використання і розповсюдження інформації, щоб допомогти людям формувати вірні погляди та приймати потрібні рішення. Консультування є ефективним інструментом тільки коли комбінується з іншими, такими як дослідження, забезпечення ресурсами, кредитами, маркетингом (Кальна-Дубінюк, 2014).

Перехід сільського господарства України на засади сталого розвитку на сьогоднішній день є вкрай необхідним, враховуючи його економічний, соціальний та екологічний стан.

В короткостроковій перспективі стратегічною метою сталого розвитку України повинне бути подолання економічної та структурної кризи, що розвинулись в період переходу до ринкової економіки та демократичного громадського суспільства. Для досягнення сталого розвитку є необхідним комплексний підхід (Герман, 2007; Підліснюк, 2008):

екологічна безпека: стратегічна мета – збереження і відновлення природних екосистем, стабілізація та поліпшення якості навколишнього середовища, зниження викидів шкідливих речовин і т.д.;

економічна стабільність: метою є створення соціально й екологічно ефективної економіки, що забезпечує гідний рівень життя громадян, конкурентноздатність продукції. Важливою цільовою настановою повинно стати забезпечення економічного розвитку переважно на вже освоєних територіях;

соціальне благополуччя: основною метою є збільшення середньої тривалості життя населення, планування родини та раціоналізація особистого споживання, поліпшення середовища існування людини, розвиток його соціальної активності, забезпечення рівних можливостей в одержанні медичної допомоги, соціальний захист уразливих груп населення.

В довгостроковій перспективі акценти розвитку будуть зміщуватися з економічних на еколого-соціальні та з матеріальних на духовно-моральні та інформаційні ресурси.

Необхідно зазначити, що саме розвиток дорадництва сприяє досягненню сталого розвитку агросфери. Науково-інформаційне забезпечення в реалізації ідей сталого розвитку агросфери має вирішальне значення (рис. 1).

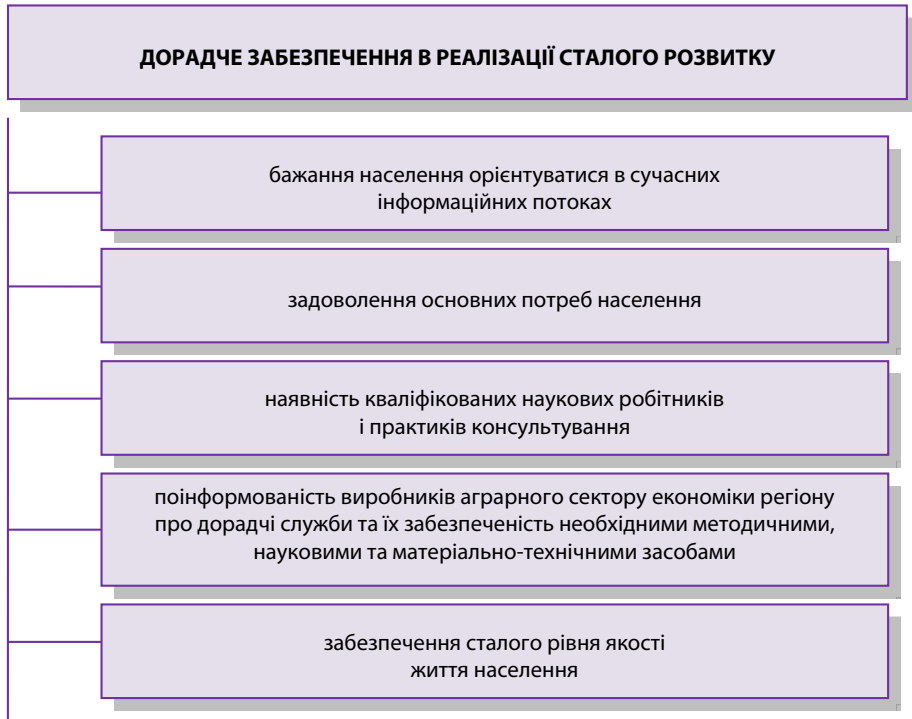


Рисунок 1 Дорадче забезпечення реалізації сталого розвитку
Figure 1 Extension providing of sustainable development implementation

Достовірні і повна інформація – необхідна умова розроблення та прийняття відповідних управлінських рішень у галузі раціоналізації та екологізації сільськогосподарського виробництва. Тому удосконалення потребує система державного статистичного спостереження та моніторингу, аудиту, експертизи природних об'єктів.

Дорадчі послуги передбачають поширення знань та інформації від того, де вони є до того, хто їх потребує з метою впровадження досягнень аграрної науки у сільськогосподарське виробництво і підвищення професійного рівня суб'єктів управління природокористуванням та забезпечення сталого розвитку агросфери (Сокол, 2015).

Саме тому необхідно здійснювати послідовне впровадження інформаційно-комунікаційних технологій із забезпеченням їх загальнодоступності, інтеграції у традиційні сектори економіки та суспільного життя, інформатизації діяльності органів влади та самоврядування й формуванням засад електронного врядування для сталого розвитку.

На нашу думку, доцільним було б створити систему об'єктивного інформування всіх зацікавлених сторін про політичні, економічні, соціальні та екологічні аспекти сталого розвитку України та світу, а також інформаційно-аналітичні центри та науково-освітні установи з питань сталого розвитку та центри кращих практик сталого розвитку.

Стратегічне бачення сталого розвитку України ґрунтується на забезпеченні національних інтересів та виконанні міжнародних зобов'язань України щодо сталого розвитку. Такий розвиток передбачає:

- ▶ подолання дисбалансів, які існують в економічній, соціальній, екологічній сферах;
- ▶ побудову мирного та безпечного, соціального згуртованого суспільства з належним управлінням та інклюзивними інституціями;
- ▶ забезпечення партнерської взаємодії органів державної влади, органів місцевого самоврядування, бізнесу, науки, освіти та організацій громадянського суспільства;
- ▶ повну зайнятість населення;
- ▶ високий рівень освіти та охорони здоров'я;
- ▶ стан довкілля, який забезпечуватиме якісне життя та благополуччя теперішнього і майбутніх поколінь;
- ▶ децентралізацію та впровадження регіональної політики, яка передбачає гармонійне поєднання загальнонаціональних і регіональних інтересів;
- ▶ збереження національних культурних цінностей і традицій.

Найважливішими елементами регулювання сталого розвитку є моніторинг та прогнозування факторів, що визначають загрози сталого розвитку. Метою моніторингу є дорадче (інформаційне-консультаційне) забезпечення чіткого виконання функцій органів державного управління.

Висновки

Дорадча діяльність є складною специфічною системою реалізації форм та методів управлінської, навчальної та консультаційної діяльності. Зважаючи на розширення інформаційного простору та розвиток новітніх технологій, попит на консультаційний сервіс постійно зростає. Особливої актуальності набуває дорадче забезпечення з реалізації ідей сталого розвитку, що забезпечує накопичення його ресурсних можливостей для проведення розширеного відтворення і підвищення рівня добробуту населення. Дорадче забезпечення проявляється у просвітницькій роботі серед сільського населення, зокрема, через створення навчально-консультативних центрів, дорадчих служб, розвиток проєктів допомоги, запровадження циклів тематичних навчально-практичних семінарів щодо реалізації концепції сталого розвитку сільських територій, надання консультаційної підтримки сільським громадам у реалізації основних напрямів сталого сільського розвитку.

Література

- Герман, Л.М. 2007. Шляхи впровадження сталого розвитку в сільському господарстві України та роль сільськогосподарського дорадництва. *Збірник доповідей мастер-класу "Роль дорадчих служб у підвищенні рентабельності сільського господарства"*. К.: ТОВ "Норіта-Плюс". 142 с.
- Кальна-Дубінюк, Т.П., Кудінова, І.П., Рибак, Л.Х., Мосіюк, С.І., Самсонова, В.В., Локутова, О.А., Корінець, Р.Я., Сокол, Л.М., Бесчастна, М.В. 2014. *Формування та розвиток системи дорадництва в Україні*. Ніжин. 332 с.
- Підліснюк, В.В. 2008. *Основи сталого розвитку*. Кременчук, 124 с.
- Сокол, Л.М. 2015. Дорадництво у забезпеченні сталого розвитку агросфери. *Науковий вісник НУБіП України: Серія «Економіка, аграрний менеджмент та бізнес»*. К., вип. 211, № 1, с. 162–170.



AMELANCHIER MEDIK. (ROSACEAE) FRUITS – A NUTRITION DIETARY PRODUCT AND A SOURCE MATERIAL FOR PHYTOPHARMACOLOGY

Kuklina Alla^{1*}, Sorokopudov Vladimir², Stepanova Anna³

¹Main Botanical Garden named after N.V. Tsitsin Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Moscow, Russia

³Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

Received 25. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Fruits of *Amelanchier spicata* (Lam.) K.Koch, *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt.), *Amelanchier florida* Lindl., *Amelanchier canadensis* (L.) Medik. and *Amelanchier laevis* Wieg. (Rosaceae) are rich in ascorbic acid (up to 30.3 mg%), total sugar (up to 8.7%), they are also saturated with bioflavonoids, among which there are anthocyanins (353.1–608.2 mg%), possessing antioxidant qualities. *Amelanchier* fruits are the nutritious dietary product, in which the content of acids and sugars is balanced. They are suitable for various types of processing and can serve as phytopharmacological raw materials. Biochemical analysis of leaves of *Amelanchier spicata* and *Amelanchier alnifolia* showed that they are enriched with bioflavonoids (260–370 mg%), which is also valuable for phytopharmacology. *Amelanchier alnifolia* and closely related *Amelanchier florida* have especially large and delicious fruits, more enriched with saccharides and anthocyanins. They have prospects for a further selection as a highly productive garden and food culture. *Amelanchier laevis* plants luxuriantly bloom, but they differ in an irregular fruit bearing and smaller fruits (0.6 g in weight), they are promising as an ornamental culture.

Keywords: adventisation; naturalization; invasive activity; anthropogenic transformation

Introduction

Species of the genus *Amelanchier* Medik. (Maloideae, Rosaceae) are used as a decorative and a fruit culture. The nutritional qualities and chemical composition of the fruit are better studied in Saskatoon (*Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt.) – native to the North American plains. Its dark-purple, berry-like pome fruit range in diameter from 10 to 15 mm in average. Fruits are sweet, contain up to 14–19% of sugar and consist of fructose and glucose. The amount of pectins is 0.25–0.95 mg per a gram of wet weight. The malic dominates among the organic acids (0.63%). Fruit pH ranged 3.65–4.18. The fruits of Saskatoon are full of biologically active substances – thiamine (30 mkg%), riboflavin (12 mkg%), carotenoids (about 0.3 mg%) and ascorbic acid (8–61 mg%). Among bioflavonoids (0.5–1.6%) there are catechins (70–163 mg%), flavonols (30–160 mg%). Among the oxcinnamic acids there are chlorogenic (up 291 mg%), para-coumaric (30–69 mg%) and caffeic acids (7–22 mg%) with hepatoprotective activity (Стрельцина, Бурмистров, 2006). The bright coloration of juice of the Saskatoon fruit is due to the presence of anthocyanin (414–852 mg%), analysis identified cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-glucoside (Mazza, 1986; Ozga et al., 2006), and cyanidin-3-arabinoside (Чулков и др., 2011) and delphinidine (Писарев и др., 2011).

*Corresponding author: Alla Kuklina, Main Botanical Garden named after N.V. Tsitsin Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, ✉ alla_gbsad@mail.ru

In the fruits of Saskatoon there are 67.5 mg of manganese, 67.0 mg of iron, 31.8 mg of sodium, 7.2 mg of copper, 16.5 mg of zinc, 34.8 mg of barium, 0.38 mg of molybdenum and aluminum 74.5 mg/100 g wet weight, as well as 0.44% calcium, 0.16% phosphorous, 1.2% potasse, 0.2% magnese, 0.06% sulfur, 9.7% protein and 19% of fiber (Mazza, 1982; Zatylny et al., 2005).

In Russian Botanical Gardens, *Amelanchier spicata* (Lam.) K.Koch, *Amelanchier alnifolia*, which got naturalized in forests and became invasive plants, are often cultivated (Kuklina, 2011). The fruits of *Amelanchier spicata* weigh 0.27–0.38 g, they are on a short panicle of 4–10 pieces; *Amelanchier alnifolia* fruits are larger, weigh 0.41–0.65 g, on a panicle of 10–15 pieces. They are purple-black with a bluish bloom. They are appreciated for their flavouring qualities, are used in food and in folk medicine. Fruits are useful for health promotion, especially for diseases of liver, kidneys, stomach and heart. Fresh, dried and air-dried fruits have astringent properties, they help with digestive disorders (Сорокопудов и др., 2011; Виноградова и Куклина, 2012).

There are also *Amelanchier florida* Lindl., *Amelanchier canadensis* (L.) Medik. and *Amelanchier laevis* Wieg planted in Russia. Juice, jam, confiture, jelly are made from the *Amelanchier* fruits; brightly colored drinks are made with citric acid – stewed fruit and wine (Якушина и Куклина, 1994; Куклина, 2007).

The goal of this work includes a study of the weight and a biochemical composition of fruits in the 5 *Amelanchier* species cultivated in Central Russia, in connection with a possibility of its use for nutrition and phytopharmacology.

Materials and methodology

The 5 species was used as the material: *Amelanchier spicata*, *Amelanchier alnifolia*, *Amelanchier florida*, *Amelanchier canadensis* and *Amelanchier laevis*, cultivated in the Main Botanical Garden named after N.V. Tsitsin, Russian Academy of Sciences (Moscow) and in the Botanical Garden of Belgorod, National Research University (Belgorod). The biochemical analysis was carried out in the period 2010–2016 on fresh fruits harvested during the full ripeness phase. Every year we analyzed samples from 10 shrubs belonging to 5 species of *Amelanchier*. Dry soluble substances and the amount of sugars were measured by using an optical refractometer IRF-454-B 2M (Russia); Ascorbic acid – by tilting the extracts with Tilmans paint with the help of the spectrophotometer CF-102 (Russia), anthocyanins – by the spectrophotometric method. The amount of bioflavonoids was determined by the chromatographic method, the content of organic acids by titration method according to the "State Pharmacopoeia USSR, XI" (www.fito.nnov.ru/pharmacopaea) on dry fruits. The results were processed in Microsoft Excel. The permissible error did not exceed the norm ($P \leq 5\%$).

Results and discussion

The 5 species of *Amelanchier* under analysis, showed a good winter-hardiness in the conditions of Central Russia, and an annual abundant flowering. An inflorescence of *Amelanchier spicata*, 6 cm long, contains up to 11 fruits weighing about 1 g; an inflorescence of *Amelanchier alnifolia*, 6 cm in length, contains up to 9 fruits weighing 0.6–1.1 g; that of *Amelanchier florida* 5 cm long contains up to 11 fruits weighing 0.79–0.99 g; that of *Amelanchier canadensis* 6 cm long contains up to 12 fruits 0.6–0.98 g in weight, and that of *Amelanchier laevis* 4.5 cm long contains up to 8 fruits, which are formed not annually, with their weight of 0.52–0.78 g.

According to our data, dry fruits *Amelanchier spicata* and *Amelanchier alnifolia* have total bioflavonoids (quercetin, vitexin, 4-rhamnozide vitexin, hyperoside) – 180–410 mg%. Among the

bioflavonoids in the *Amelanchier* fruits the leading place is occupied by anthocyanins with up to 2150 mg% per dry weight (Куклина и др., 2017), or up to 840 mg per wet weight (Степльцина и Бурмистров, 2006), thanks to which the juice has a bright crimson color. On this basis *Amelanchier* fruits, saturated with biologically active in combination with trace elements, have a therapeutic value and can serve as a source material for phytopharmacology.

As it is shown in Table 1, the fruits of the five species of *Amelanchier* contain up to 40 mg% of ascorbic acid and 30.3% of soluble solids. The juice of ripe fruit has a sum of anthocyanin (353–608 mg%).

Table 1 The chemical composition of *Amelanchier* spp. fruits from Belgorod, in 2010–2015

Species	Soluble solids, %	Ascorbic acid, mg%	Total anthocyanin content, mg%
<i>A. spicata</i>	30.3 ± 1.3	40.2 ± 1.6	408.4 ± 20.8
<i>A. alnifolia</i>	30.1 ± 1.5	43.8 ± 1.1	482.8 ± 12.6
<i>A. florida</i>	27.3 ± 1.0	40.3 ± 1.7	608.2 ± 15.9
<i>A. canadensis</i>	29.2 ± 1.0	42.8 ± 1.7	458.7 ± 29.7
<i>A. laevis</i>	23.9 ± 1.1	41.2 ± 1.2	353.1 ± 24.1

The taste and dietary properties of fruits depend on the ratio of sugars and organic acids. The amount of sugars, among of which monosaccharides prevail, in the fruits of *Amelanchier* changed insignificantly (within 7.3–8.8%, CV = 1–3%), despite the annual fluctuations in weather conditions and the dry summer of 2010 (Table 2).

Table 2 Total sugar of *Amelanchier* spp. fruits from Belgorod (%), in 2010–2013

Species	2010	2011	2012	2013	M ± m, %
<i>A. spicata</i>	7.9 ± 0.3	7.3 ± 0.5	7.5 ± 0.9	7.6 ± 1.1	7.6 ± 0.2
<i>A. alnifolia</i>	7.5 ± 1.1	8.3 ± 0.2	8.3 ± 0.6	8.6 ± 0.6	8.4 ± 0.1
<i>A. florida</i>	8.8 ± 0.2	8.5 ± 0.4	8.3 ± 0.8	8.6 ± 0.9	8.7 ± 0.2
<i>A. canadensis</i>	8.1 ± 0.2	8.3 ± 0.5	8.0 ± 0.8	8.1 ± 1.0	8.1 ± 0.1
<i>A. laevis</i>	8.8 ± 0.4	8.4 ± 0.6	8.2 ± 0.9	8.1 ± 1.1	8.4 ± 0.3

The sweetest fruits were noted in *Amelanchier florida* (8.7%), as well as in *Amelanchier alnifolia* and *Amelanchier laevis* (8.4%). Less sugar was found in fruits of *A. spicata* (7.6%). In 2015–2016 we established, that dried fruits of *A. spicata* were almost 1.5 times more saturated with organic acids (0.75–0.99%), than those of *A. alnifolia* (0.49–0.64%).

The study revealed high positive correlations between the content of dry soluble substances and sugars ($r = 0.999$), which is a reliable criterion for the selection of highly productive cultivars. After harvesting *Amelanchier* fruits can be stored at room temperature for 2–3 days, and at temperature of 0–10 °C – up to 7 days, and the juice yield amounts to 70% (Степанова, 2015).

It is known that in folk medicine decoctions of leaves are used to rinse the mouth with purulent inflammation, stomatitis and help with gastrointestinal diseases. Biochemical analysis of *Amelanchier spicata* and *Amelanchier alnifolia* samples showed that not only fruits but also leaves

are enriched with bioflavonoids (260–370 mg%), which are also valuable for phytopharmacology (Куклина и др., 2017).

Conclusions

In *Amelanchier spicata*, *Amelanchier alnifolia*, *Amelanchier florida*, *Amelanchier canadensis* and *Amelanchier laevis*, the panicle is from 4.8 to 7.3 cm in length. Mature fruits further differ in the balanced content of sugars (up to 8.8%) and organic acids (up to 0.99%), therefore they are a nutritious and dietary product important in the human diet. The presence of ascorbic acid (more than 40 mg%) and bioflavonoids, among which anthocyanins prevails (up to 608 mg%), makes the fruit necessary to improve immunity against viral and oncodiseases, useful in cardiovascular disorders. *Amelanchier* fruits are a valuable source material for phytopharmacology.

The studied plant species are unequal in their nutritional advantages and adaptive possibilities in natural biocenoses. Especially large and delicious fruits, more enriched with saccharides and anthocyanins, have *Amelanchier alnifolia* and closely related *Amelanchier florida*, which have prospects for a further selection as a highly productive garden and food culture. *Amelanchier laevis* plants in Russia are rather luxuriantly blooming and elegant, but they differ in an irregular fruit bearing and smaller fruits (0.6 g in weight), they are promising as an ornamental culture, like species of *Amelanchier canadensis*, suitable for the landscape gardening.

The spread of *Amelanchier spicata* in culture should be limited, as far as its highly adapted individuals are capable of active growing due to their long hypogeogenic rhizomes and spreading seeds, and pose a serious threat to the native flora (Kuklina, 2011); and their fruits, although they can be used as a medical source materials, are characterized by weaker flavouring qualities.

Acknowledgments

The authors thank Natalia Tsybulko, PhD of pharmaceutical, for help in the biochemical research. The work was supported by the RFBR, 15-29-02556.

References

- Kuklina, A.G. 2011. Naturalization of *Amelanchier* Species from North America in a Secondary Habitat. *Russian Journal of Biological Invasions*, vol. 2, № 2–3, p. 103–107. DOI:10.1134/S2075117111020056
- Mazza, G. 1982. Chemical Composition of Saskatoon Berries *Amelanchier alnifolia* Nutt. *J. Food Sci.*, vol. 47, no. 5, p. 1730–1731. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1982.tb05022.x
- Mazza G. 1986. Anthocyanins and other phenolics of saskatoon berries *Amelanchier alnifolia* Nutt. *J. Food Sci.*, vol. 51, p. 1260–1264. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1986.tb13100.x
- Ozga, J.A., Saeed, A., Reinecke, D.M. 2006. Anthocyanins and nutrient components of Saskatoon fruits (*Amelanchier alnifolia* Nutt.). *Can. J. Plant Sci.*, vol. 86, no. 1, p. 193–197. <https://doi.org/10.4141/P05-139>.
- Zatylny, A.M., Ziehl, W.D., St-Pierre, R.G. 2005. Physicochemical properties of fruit of 16 saskatoon (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) cultivars. *Can. J. Plant Sci.*, vol. 85, no. 4, p. 933–938. <https://doi.org/10.4141/P04-065>
- Виноградова, Ю.К., Куклина, А.Г. 2012. Ресурсный потенциал инвазионных видов растений. Возможности использования чужеродных растений. Москва: ГЕОС. 186 с. ISBN 978-5-899118-556-2.
- Куклина, А.Г. 2007. Жимолость, ирга. Москва: «Ниола-Пресс». 204 с. ISBN 978-5-366-00138-0.
- Куклина, А.Г., Сорокопудов, В.Н., Цыбулько, Н.С. 2017. Фитохимический анализ плодов и листьев ирги (*Amelanchier* Medik.) в культивируемых и инвазионных популяциях. *Плодоводство и ягодоводство России*. т. 49, с. 39–42.

- Писарев, Д.И., Новиков, О.О., Писарева, Н.А., Автина, Н.В., Безменова, М.Д., Степанова, А.В. 2011. Изучение состава антоцианов ирги ольхолистной *Amelanchier alnifolia* Nutt. с использованием матрично-активированной лазерной десорбционной ионизации (MALDI). *Научные ведомости Белгородского университета. Серия Медицина. Фармация*, вып. 16/2, № 22 (117). с. 167–172.
- Сорокопудов, В.Н., Мячикова, Н.И., Степанова, А.В. 2011. Плоды редких культур Ботанического сада Белгородского государственного университета как основа диетического питания и сырья для фармацевтической промышленности. *Научные Ведомости Белгородского университета. Серия Медицина. Фармация*, вып. 13/2, № 4 (99), с. 199–203.
- Степанова, А.В. 2015. Эколого-биологическая оценка генофонда ирги (*Amelanchier* Medik.) при интродукции в условиях юго-запада ЦЧР: автореферат диссертации. Рамонь. 24 с.
- Стрельцина, С.А., Бурмистров, Л.А. 2006. Биохимический состав ирги ольхолистной (*Amelanchier alnifolia*) в условиях северо-запада Российской Федерации. *Аграрная Россия*, № 6, с. 63–67.
- Чулков, А.Н., Дейнека, В.И., Сорокопудов, В.Н., Дейнека, Л.А., Степанова, А.В. 2011. Антоцианы плодов шести видов *Amelanchier* sp. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Естественные науки»*, вып. 15/2, № 9 (104), с. 208–214.
- Якушина Э.И., Куклина А.Г. 1994. *Кустарники с чудесными плодами*. Москва: Московский рабочий. 204 с. ISBN 5-239-01433-7



QUALITY OF ORGANIC EMMER WHEAT AND POSSIBILITY OF ITS UTILIZATION

Lacko-Bartošová Magdaléna*, Čurná Veronika

Department of Sustainable Agriculture and Herbology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia

KVALITATÍVNE PARAMETRE PŠENICE DVOJZRNOVEJ V EKOLOGICKOM POĽNOHOSPODÁRSTVE A MOŽNOSTI JEJ VYUŽITIA

Lacko-Bartošová Magdaléna, Čurná Veronika

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The increasing popularity of organic agriculture and health food products has led to a renewed interest in a hulled wheat species such as emmer wheat (*Triticum dicoccon* Schrank). Knowledge on quality traits is required for its effective and efficient usage. The objective of presented study was to determine rheological properties of dough and pasta quality of four organic emmer wheat varieties cultivated in the south region of the Slovak Republic. A field stationary experiment was carried out at the Research Experimental Station of the Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture, Dolná Malanta. The rheological parameters of emmer were significantly influenced by varieties and weather conditions during vegetative periods. Dough of emmer wheat was characterized by high water absorption (60.53% on average) but with low stability (1.45 min on average). Farinograph quality number ranged between 12.38 mm and 30.38 mm. Rheological parameters indicated worse breadmaking quality of emmer. The quality of white flour and wholegrain flour pasta was expressed by cooking time, water absorption, cooking loss and swelling. Wholegrain pasta was characterized by longer cooking time and by higher cooking loss (due to presence of the bran in a wholegrain flour) than white flour pasta, absorbed lower amount of water during cooking and reached lower swelling than white flour pasta. Given the worse possibilities of utilization for proofing emmer dough, breeding programs for improving rheological properties have been undertaken to genetically improve emmer gluten strength. Nevertheless, emmer wheat flour, mainly wholegrain flour, is suitable for pasta manufacturing industry.

Keywords: emmer wheat; organic farming system; rheological properties; pasta quality

Úvod

Pšenica dvojzrnová je považovaná za predchodcu väčšiny pestovaných druhov pšenice. Jej kultúrna forma, označovaná tiež ako pšenica dvojzrnka – *Triticum dicoccon* Schübl. alebo *Triticum dicoccon* Schrank sa radí medzi najstaršie využívané obilniny (Konvalina et al., 2012). Pestovaná forma dvojzrnky bola najvýznamnejšou plodinou takmer 7000 rokov, nálezy ako divých, tak aj domestikovaných

*Corresponding author: Magdaléna Lacko-Bartošová, Department of Sustainable Agriculture and Herbology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia, ✉ magdalena.lacko-bartosova@uniag.sk

foriem dvojrnrky a jednozrnky v oblasti Úrodného polmesiaca (juhovýchod Turecka, severná Sýria) sa datujú od obdobia 7700 – 7500 rokov pred naším letopočtom (Feldman, 2001).

V súčasnom období sa sporadicky pestuje v podhorských a horských oblastiach Zakavkazska, Baškýrska, na Balkánskom polostrove, Turecku, Iráne, Jemen, Indii, Maroku, Etiópii. Z európskych štátov sa pestuje hlavne v Taliansku, Španielsku (región Astúria), Rakúsku.

Pšenica dvojrznová bola po tisícročia základnou obilninou na území dnešného Slovenska, v podhorských severných oblastiach východného Slovenska a v okolí Krupiny stredného Slovenska pretrvávalo je pestovanie ako marginálnej plodiny až do 70. rokov 20. storočia. V oblasti západných Karpát sa siala ako jarná plodina, na kamenistých aj piesočnatých, svahovitých pôdach, ktoré sa málokedy hnojili, na pôdach, kde iné plodiny poskytovali nízke úrody. Historické zdroje dokladujú jej využitie ako chlebovej obilniny, využívala sa ako veľmi dobré krmivo pre dobytok, ošípané aj hydinu. Donedávna sa z nej pripravoval špeciálny typ kaše (judaš), využívala sa na prípravu polievok, aj ako jedinečná prísada do regionálnej špeciality – jaterníc (Hammer a i., 1981; Hajnalová a Dreslerová, 2010).

Cieľom predkladanej práce bolo zhodnotiť možnosti využitia pšenice dvojrznovej v potravinárskom priemysle stanovením reologických vlastností cesta a kvality múčnych a celozrnných cestovín z vybraných odrôd pestovaných v podmienkach ekologického poľnohospodárstva.

Materiál a metódy

Maloparcelové poľné pokusy boli založené na Experimentálnej báze Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, situovanej v blízkosti Dolnej Malanty (okres Nitra, 177 – 180 m n. m.). Geomorfologicky sa lokalita s výmerou cca 19 ha nachádza v západnej časti Žitavskej pahorkatiny, má charakter roviny so sklonom k juhu a vo východnej časti so sklonom k východu (Slovík a Libant, 1996). Hlavnou pôdnou jednotkou je hnedozem pseudoglejová vyvinutá na sprašových a polygénnych hlinách (Tobiášová a Šimanský, 2009). Územie, na ktorom sa experimentálna báza nachádza patrí do veľmi teplej klimatickej oblasti. Suma priemerných denných teplôt vzduchu za hlavné vegetačné obdobie dosahuje 3 000 °C a viac (Špánik et al., 2002). Priemerná teplota vzduchu dosahuje hodnotu 9,8 °C, pôdy 10,8 °C a relatívna vlhkosť vzduchu 74 % (Špánik a Šiška, 1996).

Štyri hodnotené odrody pšenice dvojrznovej (Agnone, Farvento, Guardiaregia, Molise sel Colli) boli pestované v podmienkach ekologického systému hospodárenia na pôde v oševnom slede hrach siaty, pšenica dvojrznová a jačmeň jarný. Osivo bolo vysievané nevylúpané v množstve 170 kg/ha, pri medziriadkovej vzdialenosti 125 mm. Plocha jedného opakovania mala 10 m², pokus bol založený metódou náhodne usporiadaných blokov v štyroch opakovaniach. Po zbere jednotlivých odrôd boli analyzované vybrané kvalitatívne ukazovatele.

Stanovenie absorpcie vody (%) a reologických vlastností cesta sa vykonalo pomocou farinografu Brabender® (Duisburg, Nemecko) podľa normy ISO 5530-1:2013. Z reologických vlastností boli hodnotené nasledovné parametre v dvoch opakovaniach: doba vývinu cesta (min), stabilita cesta (min), doba zmäknutia cesta po 12 min (FJ), farinografické číslo kvality (mm) a MTI – index mechanickej odolnosti (FJ).

V pokuse boli taktiež analyzované cestoviny pripravené z múky získanej z laboratórneho mlyna Quadrumat® Senior (Brabender) a cestoviny z celozrnnnej múky získanej z laboratórneho mlyna PSY MP. Počas dvoch sledovaných vegetačných období bol hodnotený vplyv ročníka a odrody na

ukazovatele kvality cestovín pšenice dvojzrnovej – čas varenia (min), straty varením (%), absorpcia vody (%) a napučiavanie (%). Jednotlivé ukazovatele boli stanovené na základe metódy AACC 66-50 (2000) v troch opakovaniach.

Získané údaje boli štatisticky vyhodnotené viacfaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) v programe STATISTICA, verzia 10.0. Na testovanie kontrastov bol použitý Fisherov LSD test na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %.

Výsledky a diskusia

V predkladanej práci bol hodnotený vplyv odrody a jednotlivých sledovaných ročníkov na vybrané kvalitatívne parametre štyroch odrôd pšenice dvojzrnovej.

Pomocou farinografu, prístroja na stanovenie zmien väznosti a charakteristiky cesta počas miesenia múky v závislosti od času, boli zhodnotené reologické vlastnosti cesta jednotlivých odrôd pšenice dvojzrnovej (Tabuľka 1). Reologické vlastnosti cesta sú významným ukazovateľom pre potenciálne využitie pšeničnej múky a tiež kvalitu konečných výrobkov.

Tabuľka 1 Reologické vlastnosti cesta sledovaných odrôd pšenice dvojzrnovej
Table 1 Rheological properties of emmer wheat varieties

	Absorpcia vody, %	Stabilita cesta, min	Číslo kvality, mm
Odroda			
Agnone	59,03 a	1,49 b	21,63 b
Farvento	60,83 b	0,57 a	12,38 a
Guardiaregia	61,53 b	2,05 d	30,38 d
Molise sel Colli	60,73 b	1,71 c	24,63 c
Vegetačné obdobie			
2011 – 2012	67,95 a	1,90 c	32,63 d
2012 – 2013	58,78 c	1,06 a	16,50 b
2013 – 2014	55,95 b	1,11 a	14,75 a
2014 – 2015	59,43 c	1,75 b	25,13 c
Priemer	60,53	1,46	22,26

a, b, c, d – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA-LSD test

Múky s vysokým obsahom bielkovín sa vyznačujú vysokou absorpciou vody. Medzi sledovanými odrodami boli zistené preukazné rozdiely. Odroda Agnone bola charakteristická najnižšou hodnotou väznosti (59,03 %), zvyšné tri odrody boli štatisticky rovnaké. Meteorologické podmienky počas hodnotených ročníkov mali vplyv na daný ukazovateľ. Počas vegetačného obdobia 2011 – 2012 sa absorpcia vody pohybovala na úrovni 67,95 %. Dané obdobie je možné charakterizovať ako najvlhšie so všetkých sledovaných. Preukazne najnižšia väznosť vody sa prejavila v rokoch 2012 – 2013 a 2014 – 2015. Rachoň et al. (2016) uvádzajú preukazne nižšiu absorpciu vody pšenice dvojzrnovej (63,5 %) v porovnaní s ostatnými druhmi rodu *Triticum* (pšenica siata, špaldová, tvrdá).

Doba vývinu cesta závisí od kvality lepku, veľkosti škrobových zŕn a stupňa degradácie škrobu. Odrody pšenice dvojzrnovej sa vyznačovali pomerne krátkou dobou vývinu cesta (v priemere

0,91 min), pričom ako medzi odrodami, tak aj v pestovateľských ročníkoch boli preukazné rozdiely. Najkratšou dobou vývinu cesta sa vyznačovala odroda Farvento (0,49 min), najdlhšou odroda Guardiaregia (1,41 min). Odrody Farvento a Molise pestované v podmienkach Talianska sa vyznačovali dlhšou dobou vývinu cesta (v priemere 1,7 min pre obe odrody) (Marconi and Cubadda, 2005). Dlhší vývin cesta (v priemere 1,73 min) pšenice dvojzrnovej zaznamenali aj Zhang et al. (2016). Z hľadiska porovnania pšenice dvojzrnovej a pšenice jednozrnnej, priemerná doba vývinu cesta pšenice jednozrnnej bola 0,98 min a pohybovala sa v rozmedzí 0,45 min a 1,20 min (Borghi et al., 1996).

Stabilita cesta je indikátorom celkovej kvality proteínov v múke a tolerancie múky na miesenie (Lacko-Bartošová et al., 2011). Priemerná stabilita cesta štyroch sledovaných odrôd bola veľmi krátka (1,46 min), diferencie medzi odrodami a pestovateľskými rokmi boli signifikantné. Najnižšia hodnota bola zaznamenaná pri odrode Farvento (0,57 min), dlhšou stabilitou sa vyznačovali odrody Agnone a Molise sel Colli (1,49 min, resp. 1,71 min), signifikantne najdlhšou odroda Guardiaregia (2,05 min). Z pohľadu pestovateľských rokov, najdlhšia stabilita cesta bola zistená v 2012. Nízke hodnoty stability cesta pšenice dvojzrnovej stanovenej na prístroji Mixolab (1,1 min) zaznamenali aj Rachoň et al. (2016) a Marconi, Cubadda (2005) v porovnaní s ostatnými druhmi rodu *Triticum*. Nízke hodnoty stability cesta indikujú horšiu kvalitu cesta a nízku mechanickú odolnosť (miesenie).

Parametre doba zmäknutia cesta, index mechanickej odolnosti a farinografické číslo kvality boli ovplyvnené odrodou aj pestovateľským ročníkom. Doba zmäknutia cesta sa pohybovala od 119,0 FJ (odroda Guardiaregia) do 190,6 FJ (odroda Farvento). Nižšie hodnoty zmäknutia v rámci odrody Farvento (166 FJ) a Molise sel Colli (119 FJ) boli zaznamenané aj v štúdií autorov Marconi a Cubadda (2005). Naopak, vyššie hodnoty zmäknutia indikujú, že cesto nebude vhodné na dlhé mechanické spracovanie.

Index mechanickej odolnosti je indikátorom správania sa cesta počas posledných, kritických fáz miesenia. Čím vyššia je hodnota indexu, tým rýchlejšie stratí cesto svoju odolnosť voči mieseniu. Signifikantne najnižšou hodnotou bola charakteristická odroda Guardiaregia (104,9 FJ), najvyššou odroda Farvento (178,1 FJ). Silný vplyv pestovateľského ročníka sa prejavil v roku 2013 (151,9 FJ).

Farinografické číslo kvality dosiahlo najvyššiu hodnotu v rámci odrody Guardiaregia (30,38 mm), najnižšiu pre odrodu Farvento (12,38 mm). Signifikantné diferencie počas sledovaných vegetačných období ukázali silný vplyv environmentálnych podmienok na číslo kvality.

Vyššie uvedené reologické vlastnosti pšenice dvojzrnovej indikujú horšiu pekárenskú kvalitu. Ako uvádza Hamed a Simsek (2014) predĺžená fermentácia počas doby kysnutia cesta s baktériami mliečneho kvasenia môže byť metódou na zlepšenie kvality produktov z plevnatých druhov pšeníc.

Z hľadiska kvality múčnych a celozrnných cestovín vybraných odrôd pšenice dvojzrnovej boli hodnotené parametre doba varenia, straty varením, väznosť vody a napučívanie. Všetky sledované parametre boli ovplyvnené odrodou, vplyv pestovateľského ročníka sa neprejavil pri parametroch straty varením múčnych cestovín, väznosť vody múčnych cestovín a napučívanie (Tabuľka 2).

Doba varenia múčnych cestovín bola signifikantne kratšia (1,81 min) v porovnaní s celozrnnými cestovinami (2,63 min). Najdlhšie sa varili cestoviny odrody Farvento (múčne cestoviny – 2,00 min; celozrnné cestoviny – 3,25 min), štatisticky významne kratšia doba varenia bola zaznamenaná pri zvyšných troch odrodách.

Straty varením sú vyjadrené percentom tuhých látok rozpustených vo vode, v ktorej sa cestoviny varili. Straty počas varenia múčnych cestovín činili v priemere 10 %, najvyššie hodnoty boli zaznamenané pri odrode Molise sel Colli (10,76 %), straty odrôd Guardiaregia a Farvento boli intermediálne,

štatisticky významne najnižšia hodnota sa dosiahla pri odrode Agnone (9,09 %). Celozrnné cestoviny sú vo všeobecnosti charakteristické preukazne vyššími stratami počas varenia (v priemere 12,07 %), a to z dôvodu prítomnosti otrúb v celozrnnnej múke. Najvyššie straty vykazovali odrody Guardiolaegia a Farvento (13,67 %, resp. 13,12 %).

Tabuľka 2 Ukazovatele kvality múčnych a celozrnných cestovín sledovaných odrôd pšenice dvojzrnovej
Table 2 Quality parameters of white flour and wholegrain flour pasta of emmer wheat varieties

	Doba varenia, min		Straty varením, %		Väznosť, %		Napučiavanie, %	
	MC	CC	MC	CC	MC	CC	MC	CC
Odroda								
Agnone	1,75a	2,50a	9,09a	10,43a	122,98a	108,19a	273a	250a
Farvento	2,00b	3,25b	9,45ab	13,12b	130,49b	123,16b	283a	273b
Guardiaegia	1,75a	2,50a	10,70ab	13,67b	142,43c	125,44b	298b	278b
Molise sel Colli	1,75a	2,25a	10,76b	11,06a	124,33a	108,64a	278a	255a
Vegetačné obdobie								
2010 – 2011	1,63a	2,38a	10,14 n.	11,68a	131,23 n.	113,22a	284 n.	263 n.
2012 – 2013	2,00b	2,88b	9,86 n.	12,46b	128,86 n.	119,50b	281 n.	265 n.
Priemer	1,81	2,63	10,00	12,07	130,06	116,36	283	264

MC – múčne cestoviny; CC – celozrnné cestoviny; a, b, ab – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA-LSD test, n. – nepreukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA-LSD test

Percentuálny nárast hmotnosti uvarených múčnych cestovín v dôsledku väznosti vody bol v priemere 130,06 %, signifikantne nižší nárast hmotnosti bol zaznamenaný pri cestovinách z celozrnnnej múky – 116,36 %.

Percentuálne zväčšenie objemu uvarených cestovín v dôsledku absorbovania vody škrobom a proteínmi počas doby varenia je definované ako napučovanie. Štatisticky významne viac zväčšili svoj objem múčne cestoviny (283 %) v porovnaní s cestovinami pripravenými z celozrnnnej múky (264 %). Z múčnych cestovín bola najvyššia hodnota zaznamenaná pri odrode Guardiolaegia (298 %), zvyšné tri odrody boli štatisticky rovnaké, dosahovali hodnoty od 273 % (Agnone) do 283 % (Farvento). V rámci celozrnných cestovín, pri odrodách Guardiolaegia (278 %) a Farvento (273 %) bolo napučovanie signifikantne vyššie v porovnaní so zvyšnými dvomi odrodami (Molise sel Colli – 255 %, resp. Agnone – 250 %).

Záver

Značný záujem pestovateľov ale aj spotrebiteľov v posledných rokoch o kvalitnú a netradičnú stravu, ako aj smerovanie poľnohospodárstva k udržateľnosti otvára priestor pre ekologické či iné alternatívne spôsoby hospodárenia na pôde, v ktorých majú nezastupiteľné miesto pôvodné druhy, ku ktorým sa radí aj pšenica dvojzrnná. Z hľadiska kvalitatívnych parametrov pšenice dvojzrnovej bol hodnotený vplyv odrody a pestovateľského ročníka na reologické vlastnosti cesta a vybrané ukazovatele kvality múčnych a celozrnných cestovín. Výsledky potvrdzujú významný vplyv odrody a pestovateľského ročníka na sledované parametre.

Na základe výsledkov analyzovaných reologických vlastností cesta môžeme skonštatovať, že múka pšenice dvojzrnovej nie je vhodnou pre kysnuté výrobky. Cesto vyvinuté vo veľmi krátkom čase, v priemere za 0,91 min, bolo charakteristické nízkou stabilitou, index mechanickej odolnosti sa pohyboval od 104,9 FJ (Guardiaregia) do 178,1 FJ (Farvento). Signifikantne najvyššie číslo kvality dosiahla odroda Guardiaregia (30,38 mm), ktorej cesto môžeme charakterizovať ako najstabilnejšie s najdlhším vývinom a s najnižším indexom mechanickej odolnosti.

Cestoviny pripravené z celozrnnnej múky sa varili preukazne dlhšie (2,63 min) a v dôsledku nehomogénneho povrchu aj s vyššími stratami (12 %) v porovnaní s múčnymi (1,81 min, resp. 10 %). Biela múka vyznačujúca sa vyššou absorpciou vody počas varenia spôsobila preukazne vyšší nárast ako hmotnosti, tak aj objemu uvarených múčnych cestovín. Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme odporučiť bielu, ale najmä celozrnnú múku pšenice dvojzrnovej ako alternatívu k pšeničnej múke pri výrobe nekysnutých výrobkov.

Literatúra

- Borghi, B., Castagna, R., Corbellini, M., Heun, M., Salamini, F. 1996. Breadmaking quality of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*). In *Cereal Chemistry*, vol. 73, pp. 208–214.
- Feldman, M. 2001. The origin of cultivated wheat. In Bonjean, A.P., Angus, W.J. (Eds) *The world wheat books a history of wheat breeding*. Paris: Lavoisier Publishing; pp. 3–56. ISBN 978-1898298724.
- Hajnalová, M., Dreslerová, D. 2010. Ethnobotany of einkorn and emmer in Romania and Slovakia: towards interpretation of archaeological evidence. In *Památky archeologické*, vol. 101, pp. 169–202. ISSN 0031-0506.
- Hammed, A.M., Simsek, S. 2014. Hulled wheats: a review of nutritional properties and processing methods. *Cereal Chemistry*, vol. 91, pp 97–104. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-09-13-0179-RW>
- Hammer, K., Górski, M., Hanelt, P., Kühn, F., Kulpa, W., Schultze-Motel, J. 1981. Variability of wheat land-races from Czechoslovakia and Poland. *Genetic Resources and Crop Evaluation– Kulturpflanze*, vol. 29, no. 1, pp. 91–97.
- Konvalina, P., Grausgruber, H. 2012. Emmer wheat. In Konvalina, P. (Ed.) *Growing and Use of Minority Cereals and Pseudocereals in Organic Farming*. České Budějovice: University of South Bohemia, p. 27–50. ISBN 978-80-87510-23-0.
- Lacko-Bartošová, M., Korczyk-Szabó, J. 2011. Indirect baking quality and rheological properties of spelt wheat (*Triticum spelta* L.). *Research Journal of Agricultural Science*, vol. 43, no. 1, p. 73–77. ISSN 2066-1843. http://www.rjas.ro/volume_detail/5
- Marconi, E., Cubadda, R. 2005. Emmer Wheat. In Abdel-Aal, E.S.M., Wood, P.J. (Eds) *Specialty Grains for Food and Feed*. St. Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemistry, Inc., p. 63–108.
- Rachoń, L., Szumilo, G., Szafranśka, A., Kotyrba, D. 2016. Bread-making potential of selected spring wheat species depending on crop year and production technology intensity. *Zemdirbyste – Agriculture*, no. 103, p. 369–376. DOI 10.13080/z-a.2016.103.047
- Slovík, R., Libant, V. 1996. Pôdno-geologické pomery okolia výskumnej bázy VŠP – Dolná Malanta. *Agronomická fakulta a vývoj poľnohospodárstva na Slovensku (Sekcia C), Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie*, Nitra: VŠP, s. 122–124. ISBN 80-7137-276-5.
- Špánik, F., Šiška, B. 1996. *Biometeorológia*. Nitra: VŠP, 168 s. ISBN 80-7137-259-5.
- Špánik, F., Repa, Š., Šiška, B. 2002. *Agroklimatické a fenologické pomery Nitry*. Nitra: SPU, 39 s. ISBN 80-7137-987-5.
- Tobiášová, E., Šimanský, V. 2009. Kvantifikácia pôdnych vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou. Nitra: SPU, 114 s. ISBN 978-80-552-0196-2.
- Zhang, D., Yuan, Y., Su, Y., Li, S. 2016. Analysis of dough rheological property and gluten quality characteristics in wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides* Korn. ex Asch. et Graebn.) Schweinf.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 63, pp. 675–683. ISSN 1573-5109.



LUTEIN AND ZEAXANTHIN CONTENT IN MILLING FRACTIONS OF SELECTED WHEAT SPECIES AND VARIETIES

Lacko-Bartošová Magdaléna*, Leváková Ľudmila

Department of Sustainable Agriculture and Herbology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia

OBSAH LUTEÍNU A ZEAXANTÍNU V MLYNSKÝCH FRAKCIÁCH VYBRANÝCH DRUHOV A ODRÔD PŠENÍC

Lacko-Bartošová Magdaléna, Leváková Ľudmila

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

Lutein and its isomer, zeaxanthin, belong to a class of carotenoids called xanthophylls. They are the main carotenoids in cereal grains. A number of human epidemiological and clinical studies have shown that their intake is associated with reduced incidence of age-related macular degeneration, the leading cause of irreversible blindness in elderly people, and cataracts. In addition, lutein may have protective benefits against skin cancer and may also help to prevent cardiovascular diseases. The objective of the present study was to evaluate lutein and zeaxanthin content in selected varieties of wheat species produced in organic farming system and their distribution in milling fractions. A field stationary experiment was established at the Research Experimental Station Dolná Malanta in western Slovakia, during the years 2013–2015. The significantly highest average lutein content was detected in bran fraction (2.546 µg/g dry weight) and the lowest in flour (1.675 µg/g dry weight). Among wheat species, the significantly highest content of lutein was achieved in the bran of *Triticum monococcum* L. (5.080 µg/g dry weight). The highest average concentrations of lutein were observed in the variety Franckenkorn of *Triticum spelta* L. (2.706 µg/g dry weight), particularly in bran fraction. In the case of zeaxanthin, the significantly highest content was determined in whole grain of *Triticum monococcum* (0.193 µg/g dry weight). No significant differences in the zeaxanthin content between milling fractions were determined. *Triticum monococcum* was the most important source of carotenoids, followed by *Triticum spelta* and *Triticum dicoccon*.

Keywords: lutein; milling fractions; organic farming system; wheat; zeaxanthin

Úvod

Karotenoidy sú prírodné lipofilné pigmenty so schopnosťou chrániť rastliny pred poškodením voľnými radikálmi indukovanými svetlom. Zodpovedajú za žlté, oranžové a červené sfarbenie ovocia, zeleniny a zŕn cereálií (Žilič et al., 2011). Cereálie sú vo všeobecnosti významným zdrojom karotenoidov, ktoré sú koncentrované predovšetkým v endosperme zŕn. Hlavný priaznivý účinok

*Corresponding author: Magdaléna Lacko-Bartošová, Department of Sustainable Agriculture and Herbology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia, ✉ magdalena.lacko-bartosova@uniag.sk

karotenoidov spočíva v ich antioxidačných schopnostiach, pre ktoré sa uplatňujú v prevencii degeneratívnych procesov a ako antikarcinogénne látky (Šivel et al., 2013).

Najviac prevládajúcimi karotenoidmi v zrne cereálií sú luteín a zeaxantín, ktoré patria medzi prirodzene sa vyskytujúce xantofyly. Luteín je v zrnách pšenice prítomný v obalových vrstvách, endosperme a zárodku, čo predstavuje približne 80 – 90 % celkového obsahu karotenoidov. Podieľa sa na svetlo krémovej až žltej farbe pšeničných finálnych výrobkov (Leenhardt et al., 2006a).

Luteín sa významne uplatňuje v biochémií zrkového vnemu. Hromadí sa v tzv. žltej škvrne (z lat. *macula lutea*) na sietnici a v očnej šošovke. Chráni oči pred poškodením ultrafialovým žiarením a následnou stratou zraku. Spolu so zeaxantínom má kľúčovú úlohu v prevencii vekom podmienenej makulárnej degenerácie, ktorá vedie k strate zraku v strede zorného poľa v dôsledku poškodenia očnej sietnice. Takisto znižuje riziko sivého zákalu (katarakty), ktorý je hlavnou príčinou zhoršeného zraku v rozvinutých krajinách (Sajilata et al., 2008; Šivel et al., 2013).

Cieľom príspevku bolo zhodnotiť obsah luteínu a zeaxantínu vo vybraných odrodách pšenice špaldovej (*Triticum spelta* L.), pšenice dvojzrnovej (*Triticum dicoccon* Schrank) a pšenice jednozrnovej (*Triticum monococcum* L.) a ich distribúciu v múke, celozrnnnej múke a otrubách.

Materiál a metódy

Maloparcelový poľný pokus bol založený v ekologickom systéme hospodárenia na experimentálnej báze Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre – Dolná Malanta. Geograficky sa územie nachádza v západnej časti Žitavskej pahorkatiny, ktorej charakteristický trojuholníkový tvar vymedzuje pohorie Tríbeč, rieky Nitra a Žitava. Lokalita má výmeru cca 19 ha a rovinatý charakter s miernym sklonom k juhu. Nadmorská výška v lokalite sa pohybuje v rozmedzí 177 – 180 m n. m. (Slovík a Libant, 1996). Územie patrí do teplého agroklimatického regiónu. Dlhodobá priemerná teplota vzduchu dosahuje hodnotu 9,8 °C a dlhodobý ročný úhrn zrážok za obdobie rokov 1961 – 1990 je 532,5 mm (Špánik et al., 1996). Hlavnou pôdnou jednotkou na experimentálnej báze je hnedozem pseudoglejová na sprašových a polygénnych hlinách. Pôda je bez skeletu, stredne ťažká, hlinitá (Tobiášová a Šimanský, 2009).

Pokus bol založený blokovou metódou s náhodným usporiadaním v štyroch opakovaniach. Veľkosť plochy jedného opakovania bola 10 m². Biologický materiál predstavovali tri odrody pšenice špaldovej (Oberkulmer Rotkorn, Rubiota, Franckenkorn) a pšenice dvojzrnovej (Agnone, Molise sel Colli, Farvento) a jedna odroda pšenice jednozrnovej (Einkorn). Odrody pšenice boli pestované v podmienkach ekologického systému hospodárenia, bez použitia priemyselných hnojív a prípravkov na ochranu rastlín. V pokuse bol hodnotený vplyv pestovateľského ročníka a odrôd na obsah luteínu a zeaxantínu v múke, celozrnnnej múke a otrubách.

Karotenoidy boli stanovené chromatograficky modifikovanou metódou podľa metodiky Herrero-Barbudo et al. (2005) a Ligor a Buszewski (2012). Do 50 ml túb sa navážil 1 g vzorky a k navážke sa pridal acetón. Tuby sa vložili na 15 minút do ultrazvukového kúpeľa a nechali sa centrifugovať pri 9 000 × g po dobu 5 minút. Z túb sa odobralo 15 ml extrakčného roztoku, ktorý sa nechal dosucha odpariť vo vákuovej rotačnej odparke pri teplote 40 °C. Zvyšky z odparky sa rozpustili v 2 ml mobilnej fáze. Vzorka bola centrifugovaná pri 15 000 × g po dobu 10 minút a následne injektovaná do detekčného systému Agilent 1260 HPLC s kolónou Symmetry C-18 (Waters, 250 × 4,6 mm, veľkosť častíc 5 µm, teplota kolóny 30 °C) a mobilnou fázou acetonitril/metylénchlorid/metanol (70 : 20 : 10 v/v/v). Prietok plynu bol 1 ml/min. Na identifikáciu karotenoidov bol použitý simultánne hmotnostný spektrometer

HPLC Agilent Triple Quadrupol 6410 MS/MS s elektrosprejovou ionizáciou (ESI mód) pri pozitívnej ionizácii (kapilárne napätie 5000 V, teplota plynu 325 °C, prietok plynu 10 l/min, vaporizer 200 °C, nebulizer 40 psi). Pre luteín bol použitý SIM mód s iónovými signálmi m/z 551, pre zeaxantín m/z 569. Získané údaje boli štatisticky vyhodnotené s využitím viacfaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA) v programe STATISTICA, verzia 10.0. Preukazné rozdiely boli hodnotené na hladine významnosti $\alpha = 0,05 \%$ s použitím Fisherovho LSD testu.

Výsledky a diskusia

Počas rokov 2013 – 2015 bol analyzovaný obsah luteínu v mlynských frakciách (múke, celozrnnnej múke a otrubách) vybraných druhov pšeníc a ich odrôd (Tabuľka 1 a 2). Spomedzi jednotlivých frakcií bol preukazne najvyšší priemerný obsah luteínu za všetky hodnotené druhy v otrubách (2,546 $\mu\text{g/g}$ sušiny) a najnižší v múke (1,675 $\mu\text{g/g}$ sušiny). Distribúcia obsahu luteínu v múke, celozrnnnej múke a otrubách odrôd *Triticum dicoccon* sa síce zvyšovala, avšak štatisticky nevýznamne. V prípade odrôd *Triticum spelta* bol obsah luteínu v múke a celozrnnnej múke tiež štatisticky nevýznamný, v otrubách signifikantne vyšší.

Tabuľka 1 Obsah luteínu v mlynských frakciách *Triticum spelta* L., *Triticum dicoccon* Schrank, *Triticum monococcum* L. ($\mu\text{g/g}$ sušiny)

Table 1 Lutein content in milling fractions of *Triticum spelta* L., *Triticum dicoccon* Schrank, *Triticum monococcum* L. ($\mu\text{g/g}$ dry matter)

Druh pšenice	Luteín, $\mu\text{g/g}$ sušiny			
	múka	celozrnná múka	otruby	priemer
<i>Triticum spelta</i>	1,571a	1,804a	2,488b	1,954b
<i>Triticum dicoccon</i>	1,494a	1,579a	1,758a	1,610a
<i>Triticum monococcum</i>	2,530b	3,492c	5,080d	3,701c
Priemer	1,675A	1,949B	2,546C	
Rok				
2013	2,179 d	2,599 e	2,934 f	2,571 b
2014	0,988 a	1,103 a	1,429 b	1,173 a
2015	1,856 c	2,144 cd	3,274 g	2,425 b

a, b, c, d, e, f, g – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05 \%$; ANOVA – LSD test; malé písmená – preukaznosť v stĺpci; veľké písmená – preukaznosť v riadku

Obsah luteínu v *Triticum monococcum* bol zo všetkých hodnotených druhov najvyšší a významne ovplyvnený frakciami zomletého zrna. Preukazne najvyššie koncentrácie luteínu boli zistené v otrubách *Triticum monococcum* (5,080 $\mu\text{g/g}$ sušiny).

Podľa výsledkov štúdie Leenhardt et al. (2006b) koncentrácia luteínu v *Triticum monococcum*, vo frakcii celozrnnnej múky, dosiahla priemerne $5,75 \pm 0,17 \mu\text{g/g}$ sušiny, čo boli najvyššie hodnoty v porovnaní s ostatnými testovanými druhmi pšeníc a porovnateľné s našimi výsledkami. Takisto Abdel-Aal et al. (2007) zistili najvyššie priemerné hodnoty luteínu (až 7,41 $\mu\text{g/g}$ sušiny) v *Triticum monococcum*, pričom koncentrácie tohto karotenoidu boli ovplyvnené viacerými environmentálnymi faktormi.

Tabuľka 2 Obsah luteínu v mlynských frakciách vybraných odrôd rodu *Triticum* (µg/g sušiny)
Table 2 Lutein content in milling fractions of selected varieties of genus *Triticum* (µg/g dry matter)

Druh pšenice	Luteín, µg/g sušiny			
	múka	celozrnná múka	otruby	priemer
<i>Triticum spelta</i>				
Oberkulmer Rotkorn	1,146a	1,387ab	1,808bcde	1,447a
Rubiota	1,391ab	1,671bcd	2,069defg	1,710a
Franckenkorn	2,175efg	2,354fg	3,588h	2,706b
<i>Triticum dicoccon</i>				
Agnone	1,408 ab	1,723 bcde	1,642 bcd	1,591 a
Molise sel Colli	1,595 abc	1,370 ab	1,680 bcd	1,548 a
Farvento	1,478 ab	1,644 bcd	1,953 cdef	1,692 a
<i>Triticum monococcum</i>				
Einkorn	2,530 g	3,492 h	5,080 i	3,701 c

a, b, c, d, e, f, g, h, i – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA – LSD test

Na obsah luteínu mali signifikantný vplyv odrody, pestovateľské roky, avšak aj interakcia odroda × rok. Medzi odrodami *Triticum dicoccon* neboli zistené štatisticky významné rozdiely z hľadiska obsahu luteínu. Spomedzi odrôd *Triticum spelta* boli preukazne najvyššie priemerné koncentrácie tohto karotenoidu v odrode Franckenkorn (2,706 µg/g sušiny), pričom najzastúpenejší bol v otrubovej frakcii. Preukazne najvyšším priemerným obsahom luteínu bola charakteristická odroda *Triticum monococcum* – Einkorn (3,701 µg/g sušiny). Preukazné rozdiely v obsahu luteínu boli zistené aj medzi druhmi v jednotlivých rokoch (Tabuľka 3), pričom najnižší obsah bol v roku 2014 pri *Triticum dicoccon* (0,408 µg/g sušiny) a najvyšší obsah v roku 2015 pri *Triticum monococcum* (5,974 µg/g sušiny). Preukazné rozdiely neboli zistené pri *Triticum spelta* medzi rokmi 2014 a 2015 a pri *Triticum dicoccon* medzi rokmi 2013 a 2015.

Tabuľka 3 Štatistické zhodnotenie obsahu luteínu v jednotlivých druhoch pšeníc za obdobie rokov 2013 – 2015 (µg/g sušiny)

Table 3 Statistical analysis of lutein content in selected wheat species during the years 2013–2015 (µg/g dry matter)

Rok	<i>Triticum spelta</i>	<i>Triticum dicoccon</i>	<i>Triticum monococcum</i>
2013	3,136d	2,196c	2,002c
2014	1,288b	0,408a	3,126d
2015	1,439b	2,228c	5,974e

a, b, c, d, e – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA – LSD test

Z hľadiska priemerného obsahu zeaxantínu neboli medzi jednotlivými mlynskými frakciami štatisticky preukazné rozdiely (Tabuľka 4). Spomedzi všetkých hodnotených druhov bol obsah zeaxantínu v *Triticum monococcum* preukazne najvyšší, pričom najvyššie koncentrácie tohto karotenoidu boli zistené v celozrnnnej múke (0,193 µg/g sušiny). Moore et al. (2005) udávajú koncentrácie zeaxantínu

v zrne celozrnných cereálií v rozmedzí 0,2 – 0,39 µg/g. Na obsah zeaxantínu mal signifikantný vplyv ročník, ako aj interakcia ročník × frakcie múky. V roku 2015 bol zistený preukazne najvyšší priemerný obsah zeaxantínu (0,183 µg/g sušiny).

Tabuľka 4 Obsah zeaxantínu v mlynských frakciách *Triticum spelta* L., *Triticum dicoccon* Schrank, *Triticum monococcum* L. (µg/g sušiny)

Table 4 Zeaxanthin content in milling fractions of *Triticum spelta* L., *Triticum dicoccon* Schrank, *Triticum monococcum* L. (µg/g dry matter)

Druh pšenice	Zeaxantín, µg/g sušiny			
	múka	celozrnná múka	otruby	priemer
<i>Triticum spelta</i>	0,074a	0,084a	0,092a	0,083a
<i>Triticum dicoccon</i>	0,088a	0,091a	0,084a	0,088a
<i>Triticum monococcum</i>	0,170c	0,193c	0,124b	0,163b
Priemer	0,093A	0,103A	0,093A	–
Rok				
2013	0,051a	0,054a	0,058a	0,054a
2014	0,056a	0,050a	0,050a	0,052a
2015	0,174b	0,203c	0,172b	0,183b

a, b, c, d, e, f, g – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA – LSD test; malé písmená – preukaznosť v stĺpci; veľké písmená – preukaznosť v riadku

Tabuľka 5 Obsah zeaxantínu v mlynských frakciách vybraných odrôd rodu *Triticum* (µg/g sušiny)

Table 5 Zeaxanthin content in milling fractions of selected varieties of genus *Triticum* (µg/g dry matter)

Druh pšenice	Zeaxantín, µg/g sušiny			
	múka	celozrnná múka	otruby	priemer
<i>Triticum spelta</i>				
Oberkulmer Rotkorn	0,068a	0,068a	0,078ab	0,071a
Rubiota	0,084abc	0,083ab	0,079ab	0,082abc
Franckenkorn	0,069a	0,101bcd	0,120d	0,097cd
<i>Triticum dicoccon</i>				
Agnone	0,090abc	0,075ab	0,067a	0,077ab
Molise sel Colli	0,087abc	0,098bcd	0,110cd	0,098d
Farvento	0,087abc	0,098bcd	0,076ab	0,087bcd
<i>Triticum monococcum</i>				
Einkorn	0,170e	0,193e	0,124d	0,163e

a, b, c, d, e – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA – LSD test

Signifikantný vplyv na obsah zeaxantínu mali tiež odrody, pestovateľské roky, avšak aj interakcia odroda $\times$ rok (Tabuľka 5 a 6). Spomedzi odrôd *Triticum spelta* bola preukazne najvyššími koncentraciami zeaxantínu charakteristická odroda Franckenkorn, pričom najvýznamnejšie bol zastúpený v otrubách (0,120 $\mu\text{g/g}$ sušiny). Pri odrodách *Triticum dicoccon* Molise sel Colli a Farvento bol obsah zeaxantínu v múke a celozrnej múke štatisticky nevýznamný. Preukazne najvyšší obsah bol zistený v odrode Molise sel Colli, a to taktiež v otrubovej frakcii (0,110 $\mu\text{g/g}$ sušiny). Pri odrode Einkorn bol zaznamenaný preukazne vyšší obsah zeaxantínu v múke a celozrnej múke ako v otrubách. Táto odroda sa vyznačovala preukazne najvyšším priemerným obsahom zeaxantínu (0,163 $\mu\text{g/g}$ sušiny) spomedzi všetkých odrôd pšeníc. Z hľadiska rokov bol preukazne najnižší obsah zeaxantínu v roku 2014 pri *Triticum dicoccon* (0,013 $\mu\text{g/g}$ sušiny) a najvyšší obsah v roku 2015 pri *Triticum monococcum* (0,430 $\mu\text{g/g}$ sušiny). Preukazné rozdiely neboli zistené pri *Triticum spelta* medzi rokmi 2013 a 2015 a pri *Triticum monococcum* medzi rokmi 2013 a 2014.

Tabuľka 6 Štatistické zhodnotenie obsahu zeaxantínu v jednotlivých druhoch pšeníc za obdobie rokov 2013 – 2015 ($\mu\text{g/g}$ sušiny)

Table 6 Statistical analysis of zeaxanthin content in selected wheat species during the years 2013–2015 ($\mu\text{g/g}$ dry matter)

Rok	<i>Triticum spelta</i>	<i>Triticum dicoccon</i>	<i>Triticum monococcum</i>
2013	0,068c	0,046b	0,038ab
2014	0,102d	0,013a	0,020ab
2015	0,080c	0,203e	0,430f

a, b, c, d, e – preukazný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ %; ANOVA – LSD test

Závery

V príspevku bol zhodnotený vplyv pestovateľského ročníka a odrody na obsah luteínu a zexantínu v *Triticum spelta*, *Triticum dicoccon* a *Triticum monococcum*, ako aj distribúcia týchto karotenoidov v jednotlivých mlynských frakciách. Pestovateľský ročník mal štatisticky preukazný vplyv na obsah luteínu a zeaxantínu. Spomedzi odrôd *Triticum spelta* boli preukazne najvyššie priemerné koncentrácie luteínu v odrode Franckenkorn, najmä v otrubovej frakcii. Preukazne najvyšším priemerným obsahom luteínu spomedzi všetkých odrôd bola charakteristická odroda *Triticum monococcum* – Einkorn. Signifikantne najvyšší priemerný obsah luteínu bol v otrubách, najnižší v múke. V prípade zeaxantínu bol jeho obsah preukazne najvyšší v *Triticum monococcum*, a to v celozrnej múke. Z hľadiska priemerného obsahu zeaxantínu neboli medzi jednotlivými mlynskými frakciami štatisticky preukazné rozdiely. Najdôležitejším zdrojom karotenoidov bola *Triticum monococcum*, nasledovaná *Triticum spelta* a *Triticum dicoccon*.

Literatúra

- Abdel-Aal, E.S.M., Young, J.C., Rabalski, I. et al. 2007. Identification and quantification of seed carotenoids in selected wheat species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, no. 3, p. 787–794.
- Herrero-Barbudo, M.C., Granado-Lorencio, F., Blanco-Navarro, I. et al. 2005. Retinol and γ -tocopherol and carotenoids in natural and vitamin A- and E-fortified products commercialized in Spain. *International Dairy Journal*, vol. 15, no. 5, p. 521–526.

- Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E. et al. 2006a. Wheat Lipxygenase Activity Induces Greater Loss of Carotenoids than Vitamin E during Breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 5, p. 1710–1715.
- Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E., Rémésy, C. 2006b. Genetic variability of carotenoid concentration, and lipxygenase and peroxidase activities among cultivated wheat species and bread wheat varieties. *European Journal of Agronomy*, vol. 25, no. 2, p. 170–176.
- Ligor, M., Buszewski, B. 2012. Effect of Kale Cultivation Conditions on Biosynthesis of Xanthophylls. *Journal of Food Research*, vol. 1, no. 4, p. 74–84.
- Moore, J., Hao, Z., Zhou, K., Luther, M., Costa, J., Yu, L. 2005. Carotenoid, tocopherol, phenolic acid and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, p. 6649–6657.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., Kamat, M.Y. 2008. The carotenoid pigment zeaxanthin – a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 7, p. 29–50.
- Slovík, R., Libant, V. 1996. Pôdno-geologické pomery okolia výskumnej bázy VŠP – Dolná Malanta. *Agronomická fakulta a vývoj poľnohospodárstva na Slovensku: zborník referátov z vedeckej konferencie*, Nitra: VŠP, s. 122–124. ISBN 80-7137-276-5.
- Šivel, M., Klejdus, B., Kráčma, S., Kubáň, V. 2013. Lutein – významný karotenoid ve výživě člověka. *Chemické listy*, roč. 107, s. 456–463.
- Špánik, F., Repa, Š., Šiška, B. 1996. *Klimatické a fenologické pomery Nitry (1961 – 1990)*. Bratislava: Slovenská bioklimatologická spoločnosť SAV, 60 s.
- Tobiášová, E., Šimanský, V. 2009. *Kvantifikácia pôdnych vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou*. Nitra : SPU, 114 s. ISBN 978-80-552-0196-2.
- Žilič, S., Šukalovič, V. H.-T., Dodig, D. et al. 2011. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants. *Journal of Cereal Science*, vol. 54, p. 417–424.



QUANTITATIVE AND QUALITATIVE TRAITS OF *TRITICUM DICOCCON* SCHRANK – CORRELATION ANALYSIS

Lacko-Bartošová Magdaléna¹, Lacko-Bartošová Lucia²

¹Department of Sustainable Agriculture and Herbology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia

²Department of Applied Informatics and Computing Technology, University of Economics in Bratislava, Slovakia

KORELAČNÉ VZŤAHY KVANTITATÍVNYCH A KVALITATÍVNYCH ZNAKOV PŠENICE DVOJZRNOVEJ

Lacko-Bartošová Magdaléna, Lacko-Bartošová Lucia

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

In the present study, the correlation analysis of agronomic and qualitative traits of emmer demonstrated negative, medium strong correlation between stem length and protein content, water absorption and sieve fraction under 2.2 mm. Higher quality traits of emmer are associated with longer stem. Productive spikelets coefficient positively correlated with the most of quality traits and therefore can be an indicator of breadmaking potential of emmer. Very important quality trait is protein content with high positive correlation between Zeleny test, wet gluten content, farinograph water absorption and also between beta-carotene. Strong negative correlation between protein content and gluten index indicated difficulties for breeders to select for high protein and its high quality at the same time. The content of zeaxanthin and beta-carotene correlated with grain size, beta-carotene with grain size of 2.2–2.5 mm, zeaxanthin with grain size higher than 2.5 and 2.8 mm. The content of lutein, free and bound phenolics did not correlated with grain size fractions, but medium strong to strong correlations were recorded between all these phytoprotective traits.

Keywords: *Triticum dicoccon* Schrank; correlation analysis; quantitative; qualitative traits

Úvod

Pšenica dvojzrnová je považovaná za predchodcu väčšiny pestovaných druhov pšeníc. Patrí medzi tetraploidné druhy, jej kultúrna forma označovaná tiež ako dvojzrnka (*Triticum dicoccon* Schübl.) alebo (*Triticum dicoccon* Schrank) patrí medzi najstaršie využívané obilniny. Pestovaná forma dvojzrnky bola najvýznamnejšou plodinou takmer 7000 rokov, nálezy ako divých, tak aj domestikovaných foriem v oblasti Úrodneho polmesiaca sa datujú do obdobia 7700 – 7500 rokov pred naším letopočtom (Feldman 2001). V súčasnom období sa sporadicky pestuje v podhorských a horských oblastiach Zakaukazska, Baškýrska, na Balkánskom poloostrove, v Turecku, Iráne,

*Corresponding author: Magdaléna Lacko-Bartošová, Department of Sustainable Agriculture and Herbology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia, ✉ magdalena.lacko-bartosova@uniag.sk

Jemene, Indii, Maroku, Etiópii, z európskych štátov hlavne v Taliansku, Španielsku (región Astúria), Rakúsku.

Dvojrznka bola po tisícročia základnou obilninou aj na území dnešného Slovenska, v severnej časti východného Slovenska a na Krupinskej pahorkatine sa pestovala ešte do 70. rokov 20. storočia (najmä pod ľudovým označením tenkeľ, gengel).

Pôvodný všeobecný názor predpokladal, že jej pestovanie zaniklo najneskôr v období vrcholného stredoveku. Vysievala sa na podhorské, piesočné alebo kamenisté pôdy, najčastejšie na lazoch ako jarina. Nepoliehala, netrpela chorobami, znášala nehojené pôdy a neúrodné polohy. Úrody dvojrznky sa pohybovali od 2,0 do 2,5 t/ha (Hajnalová a Dreslerová 2010). Napriek pomerne značnému hospodárskemu významu, takmer nebola šľachtená. V súčasnom období nie je na Slovensku registrovaná autochtónna odroda pšenice dvojrznky. Opätovné zavedenie jej pestovania bude vyžadovať dostupnosť odrôd adaptovaných na klimatické podmienky stanovišťa, s požadovanými agronomickými a kvalitatívnymi parametrami, ktoré môžu prispieť k zvýšeniu diverzity, rozmanitejšej produkcii potravín a rozvoju miestnych trhov.

Materiál a metódy

Maloparcelové poľné pokusy boli založené na Experimentálnej báze Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov SPU v Nitre Dolná Malanta, v západnej časti Žitavskej pahorkatiny. Územie je charakteristické kontinentálnou klímou, patrí do teplého agroklimatického regiónu s prevažne miernou zimou, dlhodobým úhrnom zrážok (1961 – 1990) 532,5 mm, dlhodobou priemernou teplotou vzduchu 9,8 °C, za vegetačné obdobie 16,4 °C, s nadmorskou výškou od 177 m n. m. do 180 m n. m. (Špánik a Šiška, 1996). Hlavnou pôdnou jednotkou je hnedozem pseudoglejová vyvinutá na sprašových a polygénnych hlinách. Pôda je stredne ťažká, hlinitá (Hanes, 1995).

Pokus bol založený blokovou metódou s náhodným usporiadaním v rámci osevného sledu hrach – pšenica dvojrzná – jačmeň jarný, v podmienkach ekologického hospodárenia. Veľkosť jedného opakovania bola 10 m² (8 riadkov, dĺžka 10 m, medziriadková vzdialenosť 0,125 m). Základné obrábanie pôdy pozostávalo z orby do hĺbky 0,20 m, zaburinenosť počas vegetácie bola regulovaná mechanicky. Výsevok nevyklúpaného zrna bol 170 kg/ha. V experimente boli hodnotené štyri odrody *Triticum dicoccon* (Schränk) pôvodom z Talianska a Rakúska.

V pokuse boli analyzované agronomické ukazovatele, nepriame ukazovatele mlynárskej kvality pomocou preosievacích sít typ AS200 (Retsch, Nemecko), nepriame ukazovatele pekárskej kvality: obsah mokrého lepku, gluten index podľa AACC 38-12 pomocou Glutomatic 2200 (Perten Inst., Švédsko), pádové číslo pomocou Falling number 1100 (Perten Inst., Švédsko) podľa AACC 56-81B; sedimentačná hodnota (Zelený test) pomocou Shaker – Type SDZT4 podľa ICC 116/1 (Santec, Slovensko). Reologické vlastnosti boli stanovené pomocou Brabender Farinografu – AT, typ 810151.

Fytoprotektívne kvalitatívne ukazovatele: viazané a voľné fenoly boli stanovené podľa Verma et al. (2009) a Van Hung et al. (2009) pomocou UV-VIS-1800 (Szimadzu), karotenoidy podľa modifikovanej metódy Herrero-Barbudo et al. (2005) a Ligor and Buszewski (2012) pomocou HPLC s Aligent 6410 hmotnostným spektrometrom.

Získané experimentálne údaje za štyri vegetačné obdobia 2012 – 2015 boli vyhodnotené korelačnou analýzou, korelácie sú signifikantné, ak korelačný koeficient je signifikantný na hladine $p < 0,01$. Na štatistickú analýzu bol využitý program STATISTICA verzia 10.0.

Výsledky a diskusia

Korelačná analýza medzi agronomickými, nepriamymi mlynárskymi, pekárskymi a fytoprotektívnymi parametrami pšenice dvojzrnovej je významná z hľadiska šľachtenia genotypov pre prípravu funkčných potravín, avšak tieto vzťahy zostávajú do významnej miery neprebádané. Korelačné koeficienty a ich preukaznosť vyjadrujú Tabuľka 1 a Tabuľka 2. Ak $r = \pm 0,33$ až $\pm 0,66$ medzi príslušnými znakmi je stredne silná (kladná alebo záporná) korelácia, ak $r = \pm 0,66$ až $\pm 0,99$, medzi znakmi je silná korelácia. Z korelačnej analýzy agronomických a kvalitatívnych ukazovateľov sa zistila stredne silná avšak negatívna korelácia medzi dĺžkou stebľa a obsahom hrubého proteínu, väznosťou múky ako aj frakciou zrna menšou ako 2,2 mm (Tabuľka 1). Priaznivejšie uvedené kvalitatívne parametre je možné dosiahnuť pri odrodách s kratším stebлом.

Koeficient produktívnych kláskov, vypočítaný ako podiel počtu fertílých kláskov k celkovému počtu kláskov v klase kladne koreloval (silná závislosť) s reologickými parametrami, Zeleny testom, stredne silná kladná korelácia sa zistila s obsahom hrubého proteínu. Silná kladná korelácia medzi HTZ a zberovým indexom, ako aj medzi úrodou zrna s HTZ a zberovým indexom poukazuje na význam HTZ ako úrodotvorného prvku na formovaní úrody pšenice dvojzrnovej. Z hodnotených agronomických ukazovateľov je koeficient produktívnych kláskov významným parametrom pre predikciu pekárskych kvality a HTZ, zberový index a dĺžka stebľa významné pre výber odrôd s vyššou úrodnosťou. Plevnaté druhy pšeníc sú charakteristické vyšším obsahom proteínu v porovnaní so pšenicou letnou, avšak údaje publikované vo vedeckej literatúre významne kolíšu v rozpätí od 11,2 % do 19,05 % (Hammed and Simsek 2014).

Medzi obsahom hrubého proteínu (HP) sa zistila signifikantná, stredne silná až silná kladná korelácia s nasledovnými parametrami pekárskej kvality: mokrý lepok, Zeleny test, pádové číslo, väznosť múky (Tabuľka 2). Silná negatívna korelácia medzi hrubým proteínom a gluten indexom indikuje, že vyšší obsah hrubého proteínu bude viesť k jeho horšej pekárskej kvalite.

Silná kladná korelácia medzi HP a podielom frakcie zrna 2,2 – 2,5 mm môže potvrdzovať predpoklad, že vyšší obsah proteínu plevnatých druhov pšeníc je výsledkom vyššieho podielu povrchových vrstiev zrna, ktoré sú bohaté na proteíny a minerálne látky, k celkovému objemu zrna (Brandolini et al., 2008).

Zistená negatívna slabá korelácia medzi HP a frakciami zrna $>2,5$ mm a $>2,8$ mm, potvrdzuje tento predpoklad aj v prípade pšenice dvojzrnovej. Silná negatívna korelácia medzi gluten indexom a veľkostnou frakciou zrna 2,2 – 2,5 mm naznačuje, že negatívna korelácia medzi HP a gluten indexom je aj výsledkom tohto uvedeného vzťahu.

Stredne silná až silná kladná korelácia medzi Zeleny testom a väznosťou múky, vývinom cesta, číslom kvality indikuje, že Zeleny test bude vhodným parametrom pre výber odrôd s priaznivými pekárskymi vlastnosťami.

Z hodnotených parametrov fytoprotektívnej kvality zrna sa zistila stredne silná až silná kladná korelácia medzi obsahom β -karoténu a HP, väznosťou múky, Zeleny testom, a podielom frakcie zrna 2,2 – 2,5 mm. Negatívna stredne silná korelácia bola zaznamenaná medzi gluten indexom.

Obsah luteínu, ako najvýznamnejšej zložky karotenoidov zo skupiny xantofylov, ktorý predstavuje 80 – 90 % celkového obsahu karotenoidov v zrne, významne koreloval s obsahom β -karoténu, zeaxantínu, voľných aj viazaných fenolov. Zatiaľ čo β -karotén bol významnejšie viazaný na menšiu veľkostnú frakciu zrna (od 2,2 do 2,5 mm), zeaxantín koreloval s frakciou zrna väčšou ako 2,5 a 2,8 mm.

Tabuľka 1 Korelačné koeficienty kvantitatívnych parametrov *Triticum dicoccon*
Table 1 Correlation coefficients of agronomic and quality traits of *Triticum dicoccon*

	>2,8+ >2,5mm	Glutén index	Zelený test	Väznosť múky	Číslo kvality	Hrubý proteín	Obsah popola	Dĺžka stebľa	Koef. prod. kláskov	HTZ (86% sušina)	Zberový index	Úroda (86% sušina)	Luteín celozrn	Zeaxantín celozrn	β -karotén celozrn	Fenoly voľné	Fenoly viazané
2,2 – 2,5mm	-0,58**	-0,68**	0,49**	0,59**	0,11	0,69**	0,25	-0,65**	0,32	-0,46**	-0,53**	-0,33	0,09	-0,53**	0,65**	-0,22	-0,29
>2,8 + >2,5mm	1,00	0,17	-0,24	-0,26	-0,20	-0,30	-0,09	0,34	-0,37**	0,12	0,17	0,08	0,08	0,53**	-0,33	0,24	-0,06
Glutén index		1,00	-0,65**	-0,70**	-0,21	-0,81**	-0,52**	0,44**	-0,37	0,57**	0,56**	0,36	-0,24	0,17	-0,61**	0,20	0,21
Zelený test			1,00	0,92**	0,68**	0,79**	0,21	-0,38**	0,77**	-0,19	-0,22	0,15	0,41**	-0,10	0,62**	0,29	0,19
Väznosť múky				1,00	0,67**	0,87**	0,30	-0,55**	0,76**	-0,21	-0,28	0,08	0,38**	-0,24	0,74**	0,26	0,06
Číslo kvality					1,00	0,41**	-0,16	-0,28	0,79**	0,33	0,21	0,53**	0,32	-0,12	0,36	0,45**	0,42**
Hrubý proteín						1,00	0,45**	-0,60**	0,63**	-0,49**	-0,49**	-0,16	0,38**	-0,21	0,73**	0,07	-0,08
Obsah popola							1,00	-0,18	0,08	-0,53**	-0,41**	-0,45**	0,05	0,08	0,30	-0,32	-0,27
Dĺžka stebľa								1,00	-0,40**	0,36	0,40**	0,33	-0,23	0,48**	-0,60**	0,05	0,15
Koef. prod. kláskov									1,00	0,12	0,07	0,32	0,38**	-0,08	0,55**	0,39**	0,36
HTZ (86% sušina)										1,00	0,81**	0,78**	0,10	0,20	-0,27	0,49**	0,53**
Zberový index											1,00	0,69**	0,01	0,25	-0,35	0,37**	0,46**
Úroda (86% sušina)												1,00	0,19	0,25	-0,12	0,54**	0,57**
Luteín celozrn													1,00	0,46**	0,56**	0,69**	0,63**
Zeaxantín celozrn														1,00	-0,23	0,38**	0,55**
β -karotén celozrn															1,00	0,26	0,08
Fenoly voľné																1,00	0,68**

** korelačný koeficient vysoko preukazný; ** correl. coefficient highly significant

Tabuľka 2 Korelačné koeficienty kvalitatívnych parametrov *Triticum dicoccon*
Table 2 Correlation coefficients of quality traits of *Triticum dicoccon*

	< 2,2 mm	> 2,2 mm	> 2,8+ > 2,5 mm	Mokrý lepok	Gluten index	Zelený test	Pádové číslo	Väznosť múky	Vývin cesta	Stabilita cesta	Doba mäknutia	Číslo kvality	MTI	Hrubý proteín	Luteín	Zeaxantín	β-karotén	Fenoly voľné	Fenoly viazané
2,2 – 2,5 mm	0,13	-0,58**	0,27	-0,68**	0,49**	0,39**	0,59**	0,15	-0,09	0,33	0,11	0,24	0,69**	0,09	-0,15	-0,34	0,65**	-0,22	-0,29
<2,2 mm	1,00	-0,88**	-0,18	0,18	0,01	-0,00	-0,03	0,15	0,23	-0,39**	0,18	-0,40**	-0,03	-0,15	0,08	0,53**	0,03	-0,17	0,23
>2,8+ >2,5 mm		1,00	0,02	0,17	-0,24	-0,19	-0,26	-0,20	-0,15	0,17	-0,20	0,22	-0,30	0,23	0,23	-0,16	-0,33	0,24	-0,06
Mokrý lepok			1,00	-0,50**	0,70**	0,54**	0,68**	0,44**	0,45**	-0,19	0,57**	-0,28	0,63**	0,23	0,23	-0,16	0,45**	0,16	-0,10
Gluten index				1,00	-0,65**	-0,46**	-0,70**	-0,22	-0,03	-0,36	-0,21	-0,27	-0,81**	-0,24	0,17	0,61**	0,20	0,20	0,21
Zelený test				1,00	0,40**	0,92**	0,92**	0,62**	0,48**	0,04	0,68**	-0,10	0,79**	0,41	-0,10	0,62**	0,29	0,29	0,19
Pádové číslo					1,00	0,42**	1,00	0,10	-0,01	0,10	0,14	0,08	0,70**	0,18	-0,12	0,39**	-0,14	-0,17	-0,17
Väznosť múky						1,00	0,68**	0,09	0,67**	0,09	0,67**	-0,03	0,87**	0,38**	-0,24	0,74**	0,26	0,06	0,06
Vývin cesta							1,00	0,84**	0,92**	-0,48**	0,92**	-0,55**	0,41**	0,30	-0,12	0,39**	0,43**	0,43**	0,38**
Stabilita cesta								1,00	-0,77**	0,95**	-0,82**	-0,82**	0,18	0,24	-0,05	0,19	0,43**	0,47**	0,47**
Doba mäknutia									1,00	-0,61**	0,98**	0,98**	0,24	0,01	0,05	0,18	-0,25	-0,38**	-0,38**
Číslo kvality										1,00	-0,69**	0,41**	0,18	0,32	-0,12	0,36	0,45**	0,45**	0,42**
MTI											1,00	1,00	0,14	0,09	0,09	0,09	-0,29	-0,39**	-0,39**
Hrubý proteín													1,00	0,38**	-0,21	0,73**	0,07	-0,08	-0,08
Luteín														1,00	0,46**	0,56**	0,69**	0,63**	0,63**
Zeaxantín															1,00	-0,23	0,38**	0,55**	0,55**
β-karotén																1,00	0,26	0,08	0,08
Fenoly voľné																	1,00	0,68**	0,68**

** korelačný koeficient vysoko preukazný; ** correl. coefficient highly significant

Závery

Korelačná analýza kvantitatívnych a kvalitatívnych parametrov *Triticum dicocco* môže byť významná z hľadiska šľachtenia odrôd vhodných na prípravu funkčných potravín. Významným kvalitatívnym parametrom je obsah hrubého proteínu, s preukaznou silnou koreláciou so Zelený testom, obsahom mokrého lepku, väznosťou múky, avšak aj obsahom β -karoténu. Silná negatívna korelácia hrubého proteínu a gluten indexu indikuje možné ťažkosti pri výbere genotypov s vysokou pekárskou kvalitou. Obsah zeaxantínu a β -karoténu je v korelácii s veľkostnými kategóriami zrna, β -karotén koreluje s menším zrnom, zeaxantín s väčším. Obsah luteínu, voľných aj viazaných fenolov nie je v korelácii s veľkosťou zrna, medzi nimi navzájom je však stredne silná až silná kladná korelácia. Z kvantitatívnych ukazovateľov je koeficient produktívnych kláskov vhodným indikátorom pre predikciu pekárskych kvalít. HTZ, zberový index a dĺžka stebra sú významné pre výber odrôd s vyššou úrodnosťou.

Podakovanie

Práca vznikla na základe výsledkov realizácie projektu ITEBIO „Podpora a inovácie technológií špeciálnych výrobkov a biopotravín pre zdravú výživu ľudí“, ITMS: 26 220 220 115 v rámci operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- Brandolini, A., Hidalgo, A., Moscatolo, S. 2008. Chemical composition and pasting properties of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) whole meal flour. *J. Cereal Sci.*, no. 47, p. 599–609.
- Feldman, M. 2001. The origin of cultivated wheat. In Bonjean, A.P., Angus, W.J. (eds) *The world wheat books a history of wheat breeding*. Paris: Lavoisier Publishing, p. 3–56. ISBN 978-1898298724.
- Hajnalová, M., Dreslerová, D. 2010. Ethnobotany of einkorn and emmer in Romania and Slovakia: towards interpretation of archaeological evidence. *Památky archeologické*, vol. 101, p.169–202.
- Hammed, A.M., Simsek, S. 2014. Hulled wheats: a review of nutritional properties and processing methods. *Cereal Chemistry*, vol. 91, p. 97–104.
- Hanes, J. 1995. *Atropogénne vplyvy na vlastnosti poľnohospodárskych pôd*. Nitra: VŠP, s. 89. ISBN 80-7137-238-2.
- Herrero-Barbudo, M.C., Granado-Lorencio, F., Blanco-Navarro, I., Olmedilla-Alonso, B. 2005. Retinol, α - and γ -tocopherol and carotenoids in natural and vitamin A- and E-fortified dairy products commercialized in Spain. *International Dairy J.*, vol. 15, p. 521–526. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.07.011>
- Ligor, M., Buszewski, B. 2012. Effect of kale cultivation conditions on biosynthesis of xanthophylls. *J. of Food Research*, no. 1, p. 74–84. <http://dx.doi.org/10.5539/jfr.v1n4p74>
- Špánik, F., Šiška, B. 1996. *Biometeorológia*. Nitra: VŠP, 168 s. ISBN 80-7137-259-5.
- Van Hung, P., Maeda, T., Miyatake, K., A Morita, N. 2009. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. *Food Research International*, no. 42, p. 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.10.005>
- Verma, B., Hucl, P., Chibbar, R.N. 2009. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fraction. *Food Chemistry*, no. 116, p. 947–954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.060>



THE CONTENT OF ANTHOCYANINS AND CHALCONES IN A DECORATIVE SMALL-FRUITED APPLE TREES AND HYBRIDS OF APPLE TREES 'VYDUBETSKA PLAKUCHA'

Levon Volodymyr*, Goncharovska Inna

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ВМІСТ АНТОЦІАНІВ ТА ХАЛКОНІВ У ПАГОНАХ КРЕБІВ ТА ГІБРИДІВ ЯБЛУНІ 'ВИДУБИЦЬКА ПЛАКУЧА'

Левон Володимир, Гончаровська Інна

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The content of anthocyanins and chalcones in a decorative small-fruited Apple trees and hybrids of Apple trees cultivars of Vydubetska plakucha from the collection of the M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine in the conditions of Northern Forest-Steppe of Ukraine was investigated. The study was conducted during periods of active shoot growth and winter dormancy in connection with the adaptive capacity of plants. In the result of the study it was found that a decorative small-fruited Apple trees, that have purple color of leaves, contain a large number of anthocyanins, which cause the bright color. Based on the results of the analysis was found the highest content of anthocyanins in the cultivar Everest, and the lowest – in the cultivar John. Noted that the content of chalcones of the decorative purple hybrids of Apple trees of Vydubetska plakucha variety doesn't have such sharp differences as to the content of anthocyanins. This again confirms the fact that the purple color of the shoots is due to anthocyanins. It is also established that between the content of anthocyanins and chalcones in the shoots of Apple hybrids, cultivars of Vydubetska plakucha found a correlation. The correlation coefficient of 0.84. This suggests that anthocyanins and chalcones belong to the stress metabolites, the biosynthesis of which is activating during action on vegetable organism to adverse environmental factors, they can serve as biochemical markers of the level of adaptability of the species to stressful conditions. In addition, the description of the Vydubetska plakucha cultivars and hybrids with its participation in the collection of the M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine.

Keywords: apple; forms; hybrids; cultivars; ornamental apple trees; anthocyanins; chalcones

Вступ

У другій половині XX ст. науковими співробітниками Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України (НБС) на території Видубицького Михайлівського монастиря, який розташований поряд із НБС, було знайдено сорт яблуні, який назвали 'Видубицька плакуча', цікавий, з оригінальною плакучою формою крони. Виявилось, що ознака «плакучість» зберігається і при щепленні на штабл. Аби дослідити як передається форма крони при

*Corresponding author: Volodymyr Levon, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ vflevon@gmail.com

гібридизації, схрестили її з різними сортами яблуні. Гібриди яблуні з 'Видубицькою плакучою' виявилися різними за морфологічними ознаками. В той же час біохімічні дослідження у зв'язку з адаптивними властивостями гібридів в умовах Лісостепу України не проводилися.

Зважаючи на те, що однією із особливостей адаптації є наявність антоціанів, поставили завдання визначити їх у зв'язку із зимо- і посухостійкістю.

Історичні дані свідчать про те, що 'Видубицька плакуча' – це, очевидно старовинний сорт яблуні виведений А. Дюрингом наприкінці XIX ст. у м. Ельбінгу (Німеччина). Сорт був проданий пепін'єристу Францу Ратке, який дав йому ім'я Еліза Ратке (Симиренко, 1972).

За нашими даними, сорт яблуні Видубицька плакуча – це синонім стародавнього сорту Еліза Ратке, інтродукованого до всесвітньовідомого розсадника Л.П. Симиренка наприкінці XIX ст. Ми встановили, що за морфологічними, помологічними та господарськими ознаками сорт яблуні Видубицька плакуча є аналогом сорту яблуні Еліза Ратке.

Від Л.П. Симиренка вона розповсюдилася в Україні у різні розсадники і, зокрема, монастирі, які завжди були провідниками нових ідей і сортів. Отже, очевидно, 'Еліза Ратке' на якийсь час загубилась, але збереглася у монастирі.

Дослідження вмісту біологічно-активних речовин у крехах та гібридах яблуні 'Видубицька плакуча' в умовах Лісостепу України проведено вперше.

Антоціани – найважливіші пігменти рослин. Вони забарвлюють пелюстки квіток, плоди, іноді листки у блакитний, синій, рожевий, червоний, фіолетовий кольори з різними відтінками і переходами. Всі антоціани – глікозиди. Агліконами антоціанів є антоціанідини. Антоціани розчиняються у воді і містяться у клітинному соку (Lila, 2004).

Антоціани – природні барвні речовини рослин з групи флавоноїдів. Утворенню антоціанів сприяють низька температура, інтенсивне освітлення, але повністю їх біологічні функції поки не з'ясовані. Антоціани надають колір пелюсткам квіток, сприяючи тим самим залученню комах-запилювачів (Танчев, 1980; Карабанов, 1981; Чуб, 2008).

Найбільшу кількість антоціанів накопичують рослини в місцевостях з суворими кліматичними умовами. Вони поглинають світло в ультрафіолетовій та зеленій областях спектру. Поглинена енергія частково перетворюється на тепло, підвищуючи на 1 – 4 °C температуру листя, маточок, тичинок. Це створює більш сприятливі умови, як для фотосинтезу, так і для запліднення і проростання пилку в умовах знижених температур (Чуб, 2008). У високогірних рослин антоціани, поглинаючи надлишок сонячної радіації, захищають хлорофіл і спадковий апарат клітини від пошкоджень. Рослини, що містять велику кількість антоціанів, мають підвищену стійкість до забруднення повітря кислими газами промислових підприємств (Масленников, 2003).

Поступаючи в організм людини з фруктами і овочами, антоціани підтримують нормальний стан кров'яного тиску і судин, запобігаючи внутрішнім крововиливам. Утворюючи комплекси з радіоактивними елементами, антоціани сприяють швидкому виведенню їх з організму. Крім того, ці пігменти здатні поліпшувати зір (Танчев, 1980).

Одним з найбільш поширених пігментів – антоціан ціанідин, цей пігмент в першу чергу відповідає за червоне забарвлення яблучної шкірки (Lancaster, 1992; Tsao, 2003).

Халкони, або антохлори – це флавоноїди з розкритим гетероциклом. Вони надають пелюсткам квіток жовтого кольору. Їх поширення обмежене дев'ятьма родинами. Містяться вони у вигляді глікозидів. Халконами, наприклад, є ізосаліпурпозид із жовтих квіток гвоздики, флоридзин із кори і листків яблуні (Удовенко, 1988).

Метою нашої роботи було визначення вмісту антоціанів та халконів у пагонах кребів та гібридів яблуні 'Видубицька плакуча' у періоди активного росту пагонів та зимового спокою у зв'язку з їх адаптаційною здатністю.

Матеріали та методи

Об'єкти досліджень – представники роду *Malus* Mill. – сорт яблуні Видубицька плакуча (В.п.) і гібриди з її участю та дрібноплідні декоративні яблуні (креби) із колекції НБС.

Наводимо опис сорту Видубицька плакуча та гібридів з її участю колекції НБС НАН України.

Сорт яблуні Видубицька плакуча – дерево низькоросле, майже сланке (висота штамба 40 – 50 см), дуже декоративне, листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 113,9 – 183,0 г, кількість насінин в 1 плоді – 6 шт. Плоди жовті із червоним рум'янцем, крона плакуча.

Гібрид В.п. × *Malus baccata* (рік посадки – 1979) – висота штамбу – 120 см, діаметр – 24,4 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 64,86 см, ширина – 39,78 см. Листя зелене, плоди масою – 6,3 – 8,5 г. Квітки від яскраво-малинового до рожевого кольорів. Плоди жовті із червоним рум'янцем, крона плакуча.

Гібрид Видубицька плакуча (В.п.) × Ренет Кокса Оранжевий (рік посадки – 1985) – висота штамбу – 140 см, діаметр – 12,8 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 79,33 см, ширина – 47,98 см. Листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 183,0 – 113,9 г, жовто-оранжеві із червоним рум'янцем, крона плакуча.

Гібрид В.п. × Мекінтош (рік посадки – 1983) – висота штамбу – 205 см, діаметр – 24,5 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 109,69 см, ширина – 47,87 см. Листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 30,2 – 99,4 г, жовті із червоним рум'янцем, крона плакуча.

Гібрид В.п. × Пепін Шафранний (рік посадки – 1982) – висота штамбу – 125 см, діаметр – 9,8 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 82,24 см, ширина – 42,07 см. Листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 42,1 – 55,8 г, жовті, кількість насінин в 1 плоді – 9 шт. Крона плакуча.

Гібрид В.п. × Уральське наливне (рік посадки – 1982) – висота штамбу – 118 см, діаметр – 19,1 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 87,32 см, ширина – 55,97 см. Листя зелене, плоди масою – 183,0 – 113,9 г, червоні. Квітки від яскраво-малинового до рожевого кольорів. Крона плакуча.

Гібрид В.п. × Апорт – висота штамбу (рік посадки – 1985) – 193 см, діаметр – 16,5 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 90,77 см, ширина – 65,35 см. Листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 183,0 – 113,9 г, жовто-рожеві із червоним рум'янцем, крона плакуча.

Гібрид В.п. × Айдаред (рік посадки 1982) – висота штамбу – 225, діаметр – 25,3 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 79,66 см, ширина – 52,99 см. Листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 183,0 – 113,9 г, червоного кольору, крона плакуча.

Гібрид В.п. × Оранжеве (рік посадки 1983) – висота штамбу – 90 см, діаметр – 15,2 см. Листкова пластинка (середні значення) – довжина – 70,78 см, ширина – 42,91 см. Листя зелене, квітки від рожевого до білого кольорів, плоди масою – 183,0 – 113,9 г, жовто-оранжеві із червоним рум'янцем, крона плакуча.

Кількість антоціанів визначали фотоелектроколориметричним методом за довжини хвилі 530 нм, використовуючи спиртову витяжку з гомогенату рослинної сировини, підкислену 3,5 % соляною кислотою. Якщо аналізований зразок, крім антоціанів, містить інші пігменти, наприклад, флавоноли жовтого забарвлення, то оптичну густину досліджуваного розчину вимірюють по відношенню до його частини, але після знебарвлення пероксидом водню. Якщо інших пігментів немає, визначення оптичної густини антоціанів роблять по відношенню до води (Кривенцов, 1982).

Визначення халконів проводили за методикою Г.В. Удовенко (1988), модифікованою В.Ф. Леоном одночасно із визначенням антоціанів. У випадку великої оптичної щільності розчин розводили у 5 – 10 раз 0,1 % розчином соляної кислоти. Вимірювання проводили за довжини хвилі 364 нм.

Зразки було відібрано у період активного росту пагонів та у період зимового спокою.

Результати та їх обговорення

У 2016 році визначали вміст антоціанів та флавонолів у надземних органах декоративних форм представників роду *Malus*: вид – яблуня Недзвецького (*Malus niedzwetzkyana*), гібриди В. п. × *Malus baccata*, В. п. × Старкрімсон, креби – Джон, Роялті Ред, Роялті, Ера, Еверест, Ола, Райка Рожева та Професор Шпенглер.

Виходячи із результатів аналізу, встановили, що найбільший вміст антоціанів у сорту Еверест, а найменший – у сорту Джон (рис. 1).

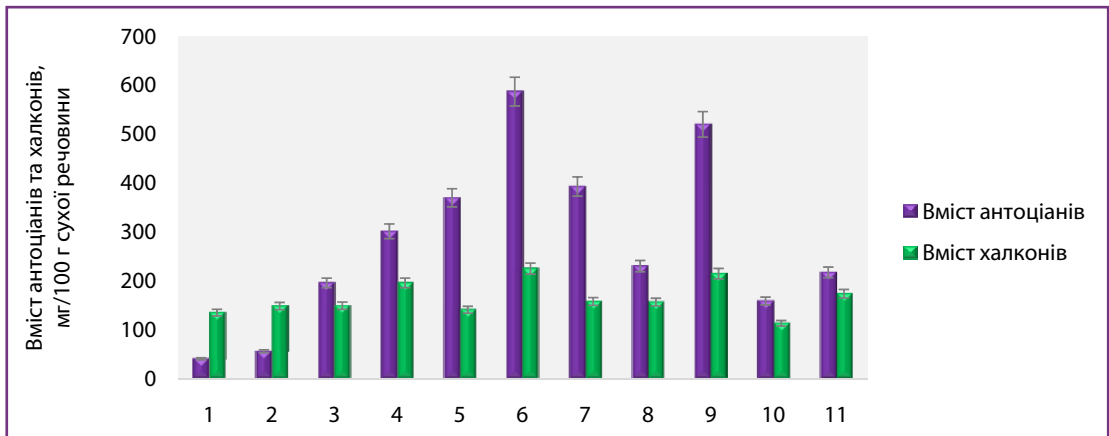


Рисунок 1 Порівняльний вміст антоціанів та флавонолів у пагонах декоративних форм і сортів представників роду *Malus* Mill.

1 – Джон; 2 – В. п. × *Malus baccata*; 3 – Роялті Ред; 4 – Роялті; 5 – Ера; 6 – Еверест; 7 – Недзвецького; 8 – Ола; 9 – Рожева; 10 – В. п. × Старкрімсон; 11 – Професор Шпенглер

Figure 1 Comparative content of anthocyanins and flavonols in shoulder straps of decorative forms and cultivars of representatives of the genus *Malus* Mill.

1 – John; 2 – V. p. × *Malus baccata*; 3 – Royal Red; 4 – Royalti; 5 – Era; 6 – Everest; 7 – Niedzwiecki; 8 – Ola; 9 – Rozeva; 10 – V. p. × Starkrimson; 11 – Professor Shprenger

У 2017 році визначали вміст антоціанів та халконів у пагонах декоративних форм представників роду *Malus*, а саме: Видубицька плакуча × Ренет Симиренко, Видубицька плакуча, В. п. × Старкрімсон, В. п. × *Malus baccata*, В. п. × Ренет Кокса Оранжевий, В. п. × Уральське наливне, В. п. × Слава переможцям, В. п. × Оранжеве, В. п. × Антор у період зимового спокою. Встановлено, що найбільший вміст вищезгаданих біологічно-активних сполук має сорт Видубицька плакуча. Вміст антоціанів сягає позначки 218, а флавонолів – 188 мг/100 г сухої речовини. Також досить високий вміст антоціанів і халконів має гібрид В. п. × Ренет Кокса Оранжевий (208 та 144 мг/100 г сухої речовини відповідно).

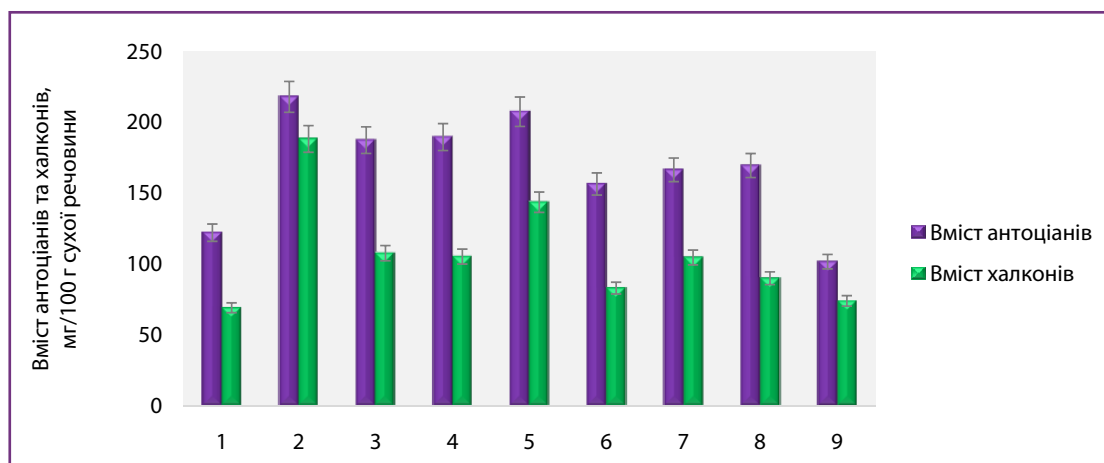


Рисунок 2 Вміст антоціанів та халконів у пагонах сортів та гібридів декоративних форм представників роду *Malus* Mill. у період зимового спокою

1 – Видубицька плакуча × Ренет Симиренка, 2 – Видубицька плакуча, 3 – В. п. × Старкрімсон, 4 – В. п. × *Malus baccata*, 5 – В. п. × Ренет Кокса Оранжевий, 6 – В. п. × Уральське наливне, 7 – В. п. × Слава переможцям, 8 – В. п. × Оранжеве, 9 – В. п. × Антор

Figure 2 The content of anthocyanins and chalcones in shoots of cultivars and hybrids of decorative forms of representatives of the genus *Malus* Mill. during the winter calm

1 – Vydubetska plakucha × Renet Symyrenka, 2 – Vydubetska plakucha, 3 – V. p. × Starkrimson, 4 – V. p. × *Malus baccata*, 5 – V. p. × Renet Koxa Oranzevyi, 6 – V. p. × Uralske nalyvne, 7 – V. p. × Slava peremozhcyam, 8 – V. p. × Oranzeve, 9 – V. p. × Antor

Висновки

В результаті досліджень за 2016 – 2017 рр. було встановлено, що за вмістом халконів декоративні пурпурові та гібриди яблуні сорту Видубицька плакуча не мають таких різких відмінностей, як за вмістом антоціанів. Це ще раз підтверджує той факт, що пурпурове забарвлення пагонів обумовлене саме антоціанами. Слід відзначити, що між вмістом антоціанів і халконів у пагонах декоративних форм представників роду *Malus* знайдено корелятивний зв'язок. Коефіцієнт кореляції досить високий і дорівнює 0,84 (максимально можливий = 1). Це свідчить про те, що антоціани та халкони належать до стресових метаболітів, біосинтез яких активізується під час дії на рослинний організм несприятливих факторів навколишнього середовища, отже вони можуть слугувати біохімічними маркерами рівня адаптованості видів до стресових умов.

Література

- Lancaster, J. 1992. Regulation of skin color in apples. *Crit. Rev. Plant. Sci.*, vol. 10, p. 487–502. <http://dx.doi.org/10.1080/07352689209382324>
- Lila, M.A. 2004. Anthocyanins and Human Health: An *In vitro* Investigative Approach. *J. Biomed Biotechnol*, vol. 5, p. 306–313. DOI: [10.1155/S111072430440401X](https://doi.org/10.1155/S111072430440401X)
- Tsao, R. 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, p. 6347– 6353. DOI: [10.1021/jf0346298](https://doi.org/10.1021/jf0346298)
- Карабанов, И.А. 1981. *Флавоноиды в мире растений*. Минск. Ураджай. 80 с.
- Кривенцов, В.И. 1982. *Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав*. Ялта. 21 с.
- Масленников, П.В. 2003. *Экологические аспекты накопления антоциановых пигментов в растениях* : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. биологических наук. Калининград. 25 с.

- Симиренко, Л.П. 1972. *Помология. Яблоня*. Киев: Урожай. 436 с.
- Танчев, С.С. 1980. *Антоціани в плодах и овощах*. М.: Пищевая промышленность. 304 с.
- Удовенко, Г.В. 1988. *Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям* (Методическое руководство). Ленинград: ВИР. 230 с.
- Чуб, В.И. 2008. Для чего нужны антоціани. *Цветоводство*, № 6, с. 22–25.



DYNAMICS OF THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE SHOOTS OF THE REPRESENTATIVES OF THE FAMILY CORNACEAE BERCHT. ET J. PRESL IN THE PERIOD OF WINTER DORMANCY

Levon Volodymyr*, Klymenko Svitlana, Tesliuk Maxim

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 10. 3. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The study of phenolic compounds in shoots of the family Cornaceae Bercht. et J. Presl due to the sharp fluctuations of temperatures during winter dormancy. Analysis of the obtained experimental data showed that the species and varieties of the family Cornaceae differ significantly in content of phenolic compounds in the period of sharp fluctuations of temperatures. Detailed analysis of the graphic depends of the content of phenolic compounds in the shoots of plants of the family Cornaceae of the average daily temperature in the period of winter dormancy, it has been noticed quite a lot of differences in the dynamics of accumulation of phenols in different species of the genus *Cornus* L. and *Cynoxylon* Raf. Were established in the shoots of *Cornus mas* L. dynamics of the content of phenolic compounds in the period under study has wider amplitude than that of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. and *Cornus sessilis* Torr. This is consistent with the fact that *Cornus mas* is an indigenous species that is well adapted to the conditions of Northern Forest-Steppe of Ukraine and is the most winter-hardy of all studied species. It is established that *Cynoxylon japonica* Nakai has a larger amplitude in the content of phenols in the temperature change unlike *Cynoxylon florida* L., where the change in the accumulation of phenols occurs more smoothly. *Cynoxylon japonica* responds to more short-term changes in temperature contrast *Cynoxylon florida*, where the changes of accumulation of phenolic compounds occur only during prolonged cold snaps, or warming. All this indicates a higher frost resistance *Cynoxylon japonica* in relation to *Cynoxylon florida*.

Keywords: phenolic compounds; Cornaceae; *Cornus mas*; *Cornus officinalis*; *Cornus sessilis*; *Cynoxylon florida*; *Cynoxylon japonica*; forest-steppe of Ukraine

Introduction

The species of polymorphic family Cornaceae Bercht. et J. Presl are poorly spreaded and studied. According to different authors there are from 50 to 110 species. Most of them are valued as ornamental and agroforestry, some like fruit and medicinal.

From a large number of species of cornelian cherry, a few species have edible fruits – *Cornus mas* L. (common Eurasian species), *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc., native for Japan, *Cornus sessilis* Torr. is from California, and several species of the genus *Cynoxylon* Raf. – *Cynoxylon japonica* Nakai, *Cynoxylon florida* L., native to North America.

Despite the value species of the cornelian cherry and the possibility of their versatile use, in 50s years of the twentieth century in M.M. Gryshko National Botanical Garden the creation of the collection of

*Corresponding author: Volodymyr Levon, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ vflevon@gmail.com

the family Cornaceae was created. Now the collection includes more than 30 species in the family Cornaceae.

Species of the genus *Cynoxylon*, introduced in the last 20 years: *Cynoxylon japonica* in 1994 (Oregon, USA), *Cynoxylon florida* in 2008.

All introduced in Ukraine species of genus *Cynoxylon* have edible fruits, which are red of various shades, sweet and sour taste, strawberry flavor. For valuable economic properties and decorativeness, they are not worse than representatives of the local flora, but also surpass them.

Therefore, they are promising as fruit plants, in addition, they are valuable medicinal raw material, in particular, the bark of shoots and roots of *Cynoxylon florida* used as a substitute for quinine, the preparations have a tonic, astringent and stimulating properties. Wood of *Cynoxylon* has dark colour, resistant to biological destruction and has an extremely high strength (Кустовська, 1998).

Today members of the genus are widely cultivated in the United States, Western Europe (Spain, Portugal), Japan as ornamental plants, less fruit: *Cynoxylon japonica* (China, Japan).

The area of *Cynoxylon* genus covers the temperate and subtropical regions of the Northern hemisphere: North America, East and South-East Asia and Africa. *Cynoxylon* cultivated in the United States, Canada, South and Western Europe, Southeast and East Asia, in the Caucasus (Janes, 1993; Кустовська, 1998).

Cynoxylon japonica was introduced in National Botanical garden in 1994 from Oregon (USA). Some annual plant height of 80–100 cm was planted at sites of the Department of fruit plants acclimatization, where it held regular phenological observations were evaluated wintering and drought resistance, productivity, and decorativeness.

Biochemical studies of the content of biologically active substances in new species of the family Cornaceae in the conditions of the Forest-Steppe of Ukraine held for the first time as the actual adaptive capacity of plants of these species in the absence of such data in the literature. The reason is that the study species have not been used until now as fruit and ornamental is in the collections of some Botanical gardens and arboretums.

Frost resistance is determined by many factors, in particular the important role of secondary metabolites involved in the biochemical adaptation of plants. This group includes phenols. These compounds are formed in all organs of plants from sugars and participate in the process of cellular respiration, transferring hydrogen from oxidative molecules. Phenolic compounds exhibit a strong effect on the growth of plants, inhibiting germination of seeds, growth of stems and roots. They have strong anti-bacterial properties and provide plant immunity to fungal and especially to bacterial infection (Блажей, 1977).

In adverse conditions, plants synthesize increased amount of phenolic compounds, because in most cases they have a protective effect (Capanny, 1968). Often the healthy plant has no protective phenols, but they are formed in it as reaction to infection with the causative agent of a disease. Phenolic compounds have an important role in wound healing, cell division, and in protecting tissues from penetrating radiation, free radicals, mutagens and strong oxidizers.

Phenolic compounds can act as low molecular weight antioxidants, protect cells from the effects of oxidative stress developing in conditions of hypothermia (Larson, 1988; Terao, 1994; Rice-Evans, 1997; Wingsle, 1999). Having high reaction activity due to the presence in the structure of aromatic rings and free hydroxyl groups, they can easily engage in free-radical reactions and connect the

active variety of oxygen and peroxy radicals produced in the cells under stress conditions (Wang, 1998; Kondo, 2000; Zhao, 2002).

A characteristic feature of the phenolic compounds that distinguish them from many other secondary metabolites is their ability to interact with proteins by forming hydrogen bonds (Запрометов, 1974; Бабабой, 1976). In this regard, some of them may participate in the regulation of enzyme activity, affecting, therefore, on the metabolic processes in the period of low-temperature adaptation.

The aim of our study was to determine the content of phenolic compounds in shoots of different species, varieties and cultivars of the family of Cornaceae in the winter and the dependence of these indicators of frost resistance of plants.

Materials and methodology

The experiment was made in January–February 2016 this period there was a fluctuation of temperatures from -9°C to $+7^{\circ}\text{C}$. Samples were collected weekly. Objects of research were the representatives of the genus *Cornus* (*C. mas*, *C. officinalis*, *C. sessilis*) and *Cynoxylon* (*C. florida* and *C. japonica*).

For quantitative definition of phenols the methodology based on oxidation of a reactant of Folin-Chokolta containing a tungstate of sodium and phosphomolybdate of sodium with formation of a blue complex, having absorption maximum at the wavelength of 730 nanometers, which intensity of coloring is estimated by a photoelectrocolorimetric method (Ксендзова, 1971) was used.

For objects visual observations studied conducted general condition of the plants in the spring to determine their hardiness (Соколов, 1957).

Results and discussion

Analysis of the obtained experimental data showed that the species and varieties of the family Cornaceae differ significantly in content of phenolic compounds in the period of sharp fluctuations of temperatures (Figure 1, 2).

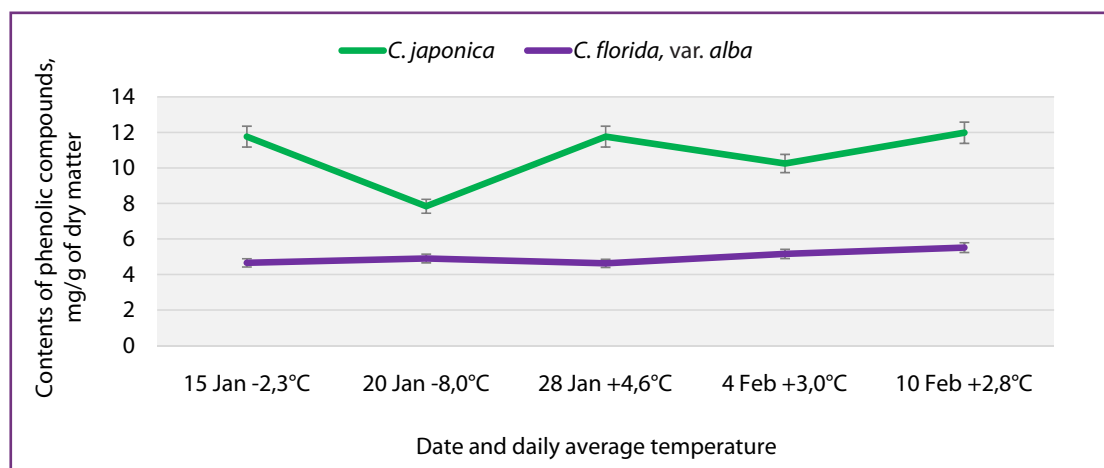


Figure 1 The total content of phenolic compounds in shoots of *Cynoxylon japonica* Nakai and *Cynoxylon florida* L. (var. *alba*) in the period of winter dormancy

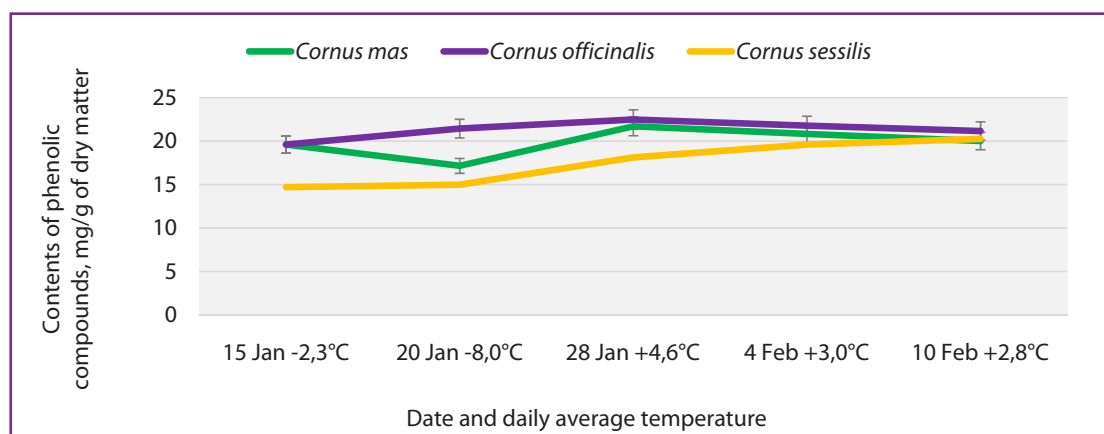


Figure 2 The total content of phenolic compounds in shoots of *Cornus mas* L., *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. and *Cornus sessilis* Torr. in the period of winter dormancy

The detailed analysis of the graphic dependences of the content of phenolic compounds in the shoots of the members of the family Cornaceae of the average daily temperature in the period of winter dormancy, it has been noticed quite a lot of differences in the dynamics of accumulation of phenols in different species of the genus *Cornus* and *Cynoxylon*. Dynamics of the content of phenolic compounds in the shoots of *Cornus mas* were established in the period under study, they have a wider amplitude than that of *Cornus officinalis* and *Cornus sessilis*. This is consistent with the fact that *Cornus mas* is an indigenous species that is well adapted to the conditions of Northern Forest-Steppe of Ukraine and is the most winter-hardy of all studied species.

Despite the fact that *Cornus officinalis* is also quite winter-hardy species and occurs from regions of Japan with a rather continental climate, the change in the accumulation of phenolic compounds in shoots occurs more smoothly. Perhaps this is due to the long period of primary inductive stress reaction that is a consequence of various genetic and geographical origin.

Cornus sessilis, a native of Western North America (CA), does not respond to temperature changes by changing the rate of synthesis of phenolic compounds and, consequently, has lower winter hardiness.

Members of the genus *Cynoxylon* have a similar pattern. The *Cynoxylon japonica* has a larger amplitude in the content of phenols in the temperature change unlike *Cynoxylon florida*, where the change in the accumulation of phenols occurs more smoothly. *Cynoxylon japonica* responds to more short-term changes in temperature contrast *Cynoxylon florida*, where the changes of accumulation of phenolic compounds occur only during prolonged cold snaps, or warming. All this indicates a higher frost resistance *Cynoxylon japonica* in relation to *Cynoxylon florida*.

Conclusions

Due to the fact that the dynamics of the content of phenolic compounds in plants of the family Cornaceae virtually unexplored, the study of this issue was a priority. The increase in the content of phenolic compounds in plants of the family Cornaceae in the process of low-temperature adaptation testifies to their important role in protecting cells from the action of stress factors. Since the dynamics of the content of phenolic compounds in plants of the family Cornaceae reflects its

interaction with the external environment, these compounds can be used as a biochemical marker to assess the level of adaptability.

References

- Janes, N.A., Brand, A.I., Arnow, J. 1993. Kousa cornelian cherry. *American nurseryman*, vol. 178, no. 10, p. 40–47.
- Kondo, N., Kawashima, M. 2000. Enhancement of the Tolerance to Oxidative Stress in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Seedlings by UV-B Irradiation: Possible Involvement of Phenolic Compounds and Antioxidative Enzymes. *J. Plant Res.*, vol. 113, p. 311–317.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, vol. 27, p. 969–978.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, vol. 2, p. 152–159. ISSN 1360-1385.
- Terao, J., Piskura, M., Yao, Q. 1994. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 308, p. 278–284.
- Wang, M., Rangarajan, M., Shao, Y., Voie, E., Huang, T. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.*, vol. 46, p. 4869–4873. DOI: [10.1021/jf980614b](https://doi.org/10.1021/jf980614b)
- Wingsle, G., Karpinski, S., Hallgren, J. 1999. Low temperature, high light stress and antioxidant defence mechanisms in higher plants. *Phyton (Austria), Special issue: Eurosilva 4*, p. 253–268. ISSN 0079-2047.
- Zhao, H., Zou, Q. 2002. Protective effects of exogenous antioxidants and phenolic compounds on photosynthesis of wheat leaves under high irradiance and oxidative stress. *Photosynthetica*, vol. 40, no. 4, p. 523–527.
- Барабой, В.А. 1976. *Биологическое действие растительных фенольных соединений*. Киев: Наукова думка, 260 с.
- Блажей, А.С., Шутый, Л.П. 1977. *Фенольные соединения растительного происхождения*. М.: Мир, 239 с.
- Запрометов, М.Н., Николаева, Т.Н. 2003. Способность изолированных хлоропластов из листьев фасоли осуществлять биосинтез фенольных соединений. *Физиология растений*, т. 50, № 5, с. 699–702. ISSN 0015-3303.
- Ксендзова, Э.Н. 1971. Прием количественного определения фенольных соединений в растительных тканях. *Бюл. Всесоюз. н.-и. ин-та защиты растений*, № 20, с. 55–58.
- Кустовська, А.В. 1998. Критичний аналіз системи Cornaceae Dumort. *Український ботанічний журнал*, т. 55, № 6, с. 624–629.
- Сарапуу, Л.П., Кефели, В.И. 1968. Фенольные соединения и рост растений. *Фенольные соединения и их биологические функции. Мат. 1-го Всесоюз. симп. по фенольным соединениям*. М.: Наука, с. 129–138.
- Соколов, С.Я. 1957. Современное состояние теории акклиматизации и интродукции растений. *Тр. Ботан. ин-та. АН СССР. Интродукция растений и зелёное строительство*, вып. 6, с. 34–42.



RURAL TOURISM FOR THE SAVE OF AGROBIODIVERSITY AND THE SOLUTION OF SOCIO-ECONOMIC PROBLEMS OF RURAL

Lokutova Olena*, Onopriichuk Diana

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The aim of the article is to examine the theoretical foundations and practical approaches to the development of rural tourism, and also to analyze the relevance and necessity of further development of rural tourism in the context of sustainable development. First of all, we consider the terminology, concepts, necessary conditions which contribute to the development of rural tourism and sustainable tourism, its environmental aspects and the main differences from traditional tourism. The second important component of rural tourism is its significant impact on the solution of socio-economic problems of the village (self-employment and the problem of unemployment, additional income of the rural residents as well as the preservation of architectural and cultural heritage and folk traditions). Thus, considering the importance of rural tourism as a special kind of activity of rural residents (family hospitality), there is a need to further improve its legislative base, in particular, the adoption of the law of Ukraine "About rural green tourism", the project of which was developed in 2012. Another important step for the effective development of rural tourism is to popularize it, especially in the regions of Central, Eastern and Southern Ukraine. Consulting activities (consultative support), holding conferences, seminars, training schools and other events at the level of regional and district administrations will raise the interest of the village population, and thus contribute to solving the social, economic and environmental problems of the regions. A special role in this process is played by agrarian universities (in particular, the National University of Life and Environmental science of Ukraine), institutes for improving the skills of agricultural personnel.

Keywords: rural green tourism; ecology; agrobiodiversity; sustainable tourism; agrotechnical clusters

Introduction

Further development of civilization is impossible without a comprehensive campaign, which is reflected in the concept of sustainable development – an economic growth model in which the use of resources is aimed at meeting human needs while preserving the environment for the benefit of future generations. The consumer, irresponsible attitude to nature and resources generates new global problems, the main among them is environmental safety and conservation of agrobiodiversity. Tourism is one of the dynamically developing sectors of the world economy. But the rapid pace of development of tourism and its mass led to negative changes in the natural environment in certain regions. Polluted beaches, areas with excessive noise, developed erosion, impoverished landscape became unfit for recreation. Thus, tourism began to destroy the foundations of its existence. Among all types of tourism only rural tourism does not have a negative impact on the environment, but on turnover, contributes to its preservation.

*Corresponding author: Olena Lokutova, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ e.veridar@ukr.net

In most countries of the world, rural tourism is considered as an integral part of the complex socio-economic development of the village, as one of the means to solve many rural problems, including environmental ones. At the present stage of the development of agriculture and rural areas, the development of rural green tourism on a scientific basis becomes especially important.

It should be noted that over the past 10 years, the development of rural green tourism in Ukraine has achieved significant success, its mass popularity and popularity is rapidly growing. The significant impetus to the development of rural tourism made the last financial crisis, since recreation in rural areas is not as expensive as at foreign resorts. Another important stimulating factor is the popularization and information and consulting support for the development of this type of recreation (Кальна-Дубінюк, 2016).

The aim of our work was to study theoretical approaches and practical bases for the development of rural green tourism in the context of ecology, save of agro-biodiversity and the solution of socio-economic problems of the rural.

Materials and methodology

The methodological basis of the research is the method of analysis and synthesis, which provides the systematic approach to the study of processes and phenomena, which makes it possible to examine the issue from the standpoint of the integrity and continuity of the object and its environment, goals and methods, tools and monitoring tools.

The system approach allows identifying problematic aspects of the development of rural tourism, which should be implemented by improving the legislative base (adopting the law of Ukraine "About rural green tourism") and improving the state policy of supporting the agro-industrial complex and development of rural areas (creation agrotourism clusters), development of a nature reserve fund with the involvement of the territorial communities of the village and business entities, as well as the formation of local educational and practical centres for rural communities. This will improve the socio-economic and environmental situation in general, which in the final stage will allow to achieve positive changes in the quality of life of the rural population.

Opportunities for the development of rural green tourism have been studied for a long time. Their decision was devoted to their work: M. Rutinsky, Yu. Zinko, V. Vasiliev, M. Kropivko, T. Kalna-Dubinyuk, A. Beydyk and etc. However, the relevance of the questions presented and their insufficient scientific and methodological support need further research.

Results and discussion

Rural tourism is a specific form of recreation in private farms in rural areas with the use of the property and labour resources of a personal peasant, subsidiary or farming enterprise, natural and recreational characteristics of the locality as well as cultural, historical and ethnographic heritage of the regions.

Rural tourism develops on the basis of personal peasant farming (The law of Ukraine "About personal farming"). This model is successfully implemented in European countries, where the main component is state support for the development of a network of guest rooms based on the available housing stock in rural areas. The main figure in the organization of recreation in the village is the rural family, which provides housing, provides food and introduces the characteristics of the countryside.

Rural tourism can effectively develop and function in such territories as:

- ▶ national parks and specific protected areas;

- ▶ villages, recreation areas and holiday zones;
- ▶ forest fund and natural phenomena;
- ▶ monasteries and sacred places;
- ▶ small cities with characteristic architecture, life, culture;
- ▶ monuments of popular culture in the open air.

The terminology of rural green tourism includes a number of generally accepted environmental concepts. Sustainable tourism is a modern concept of tourism development based on the principles of sustainable development, which makes it possible to meet all the existing needs, but at the same time to provide similar opportunities for future generations. The concept of sustainable development has united three main components: economic, social and environmental. It is known that the concepts of ecology and agrobiodiversity are closely related. Agrobiodiversity, covering the diversity of living organisms (plants, animals and microorganisms), which are grown in agricultural regions, contribute to agricultural production.

The concept of “rural green tourism” (green tourism), natural tourism (nature tourism) is close in meaning to the term “ecological tourism”. The US Ecotourism Union provides such a definition of ecotourism common in Western science: “Ecotourism is a journey to places with relatively untouched nature that do not lead to a disruption of ecosystem integrity, in order to gain an understanding of the natural and cultural-ethnographic features of the locality, which creates Such economic conditions, when the protection of nature becomes beneficial to the local population” (Рутинський та Зінько, 2008).

The main driving force behind the rapid development of rural green tourism, ecotourism is the rapidly growing demand for recreation in nature, which is determined by the increasing in the discrepancy of the modern human environment with its physiological and psychological needs.

From traditional tourism ecotourism is characterized by the following features:

- ▶ the advantage of natural, rather than cultural tourism objects;
- ▶ sustainable use of nature;
- ▶ less resource and energy intensity;
- ▶ direct participation in the social and economic development of the territories;
- ▶ ecological education of tourists (Горішевський та ін., 2005).

Ecotourism includes all types of tourism that have minimal or no effect on the environment and provide a balance between the tourist, natural and economic activities. Such ecologically safe kinds in tourism consider walking tours bicycle and ski travel, mountaineering, supervision over the nature, navigation on kayaks and a canoe, sports sea fishing, walks in mountains and etc.

“Union for the promotion of rural green tourism of Ukraine” (Union), which was founded in 1996, has significant role in the process of becoming a rural tourism in Ukraine. The purpose of its activity is: popularization of rest in the Ukrainian village; assistance to development of rural infrastructure and self-employment of the rural population; save of cultural heritage and environment (Web pages Union).

Over the years of its activity the Union has done a lot for the development of rural green tourism in Ukraine:

- ▶ the term “rural green tourism” was introduced in the legal field of Ukraine (1996).
- ▶ passed Law of Ukraine “On Private Farm Economy”, a number of legislative acts, decrees of the President of Ukraine, orders and resolutions of the government;

- ▶ since 1997 for the popularization of rest, the village magazine “Green rural tourism” has been published;
- ▶ since 2003 all-Ukrainian exhibition-fair of rural tourism annually “Ukrainian village invites” is held and etc.

In 2004 and 2008, the Union introduced programs of voluntary environmental marking “Green house” (Figure 1) and the categorization of services “Ukrainian guest house” (Figure 2), as well as a school of inspectors for the voluntary categorization was opened.



Figure 1 Sign of environmental Marking “Green house”



Figure 2 Sign of environmental Marking “Ukrainian guest house”

The program of ecological marking “Green house” was developed on the basis of a number of European analogues, in particular Latvian and Polish experience. The program contributes to the growth of the environmental consciousness of the owners of farmsteads and tourists, it is used as a marketing tool to achieve market success and improve the economic efficiency of agro-tourism services, contributes to the improvement of the environment.

The “Green Manor” is a testament to the fact that the estate meets a number of requirements for preserving the environment and supporting the sustainable development of the region.

Sustainable tourism is based on the following principles:

- ▶ environmental protection, minimization of damage in the process of tourism, environmental supervision of the state of tourism development of the territories;
- ▶ controlled use of technologies of tourist service, first of all motor transport, energy, potable water, etc.;
- ▶ social justice with respect to local communities, that is, profits and other benefits from tourism should be distributed on an equal footing, taking into account the local population, and not move to foreign investors and the national elite, etc.

Conclusions

The positive impact of rural green tourism on the solution of the social and economic problems of the village is that it expands the employment of the rural population, especially women, and gives

the peasants additional income, expands the employment opportunities of the farmer not only in the production sector, but also in the service sector. Rural tourism is not only a plus for the economy, environmental protection, improving the environmental situation, as well as creating new jobs, stimulating the flow of young professionals in rural areas.

Ukraine being an agrarian country has great potential for successful development of rural tourism, therefore the most important issue is the adoption of the Law of Ukraine “About rural green tourism”. This will enable:

- ▶ to improve the legal regulation of relations in the sphere of rural green tourism, which will comprehensively encourage citizens of Ukraine to participate in its development;
- ▶ in the State Budget of Ukraine and local budget projects, annually provide funds for the development and implementation of programs for the development of rural green tourism, as well as for the promotion and advertising of rural green tourism in Ukraine and abroad;
- ▶ to recognize rural tourism as an important subsidiary of the Ukrainian tourism industry and an important factor in ensuring self-employment and improving the living standards of the rural population, etc.

Another important factor in the successful development of rural tourism is informational and consultative support for the population: holding seminars, training schools, conferences and other events that popularize rural tourism. This is especially important for the regions, where its development is hampered (Centre, East and South of Ukraine). A special role in this process had agrarian universities (in particular, the National University of Life and Environmental science of Ukraine), institutes for improving the skills of agricultural personnel, which have the material, technical and pedagogical base for organization such events.

References

- Union for the Promotion of Rural Green Tourism in Ukraine. Спілка сприяння розвитку сільського зеленого туризму України. Available at: <http://www.greentour.com.ua>.
- The law of Ukraine “About personal farming” from 15. 5. 2003, no. 742–IV. Available at: <http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/742-15>
- Горішевський, П., Васильєв, В., Зінько, Ю., Коберніченко, Т. 2005. *Сільський зелений туризм: організація діяльності*. Посібник. Київ: НМЦ «Освіта». 128 с.
- Кальна-Дубінюк, Т. 2016. Основи управління та організації відпочинку в агрооселях. Інформаційні матеріали до семінару з дорадництва для власників агроосель. Кальна-Дубінюк Т.П., Локутова О.А., Кудінова І.П, Рибак Л.Х., Мосіук С.І., Самсонова, В.В., Бесчастна М.В. *Серія 3. Сільський зелений туризм. 3-тє видання за редакцією В.П. Васильєва*. Ніжин: Видавець ПП Лисенко М. 103 с.
- Рутинський, М., Зінько, Ю. 2008. *Сільський туризм. Навчальний посібник*. К.: Знання. 271 с.



USAGE OF PLANT INGREDIENTS AS ANTIOXIDANTS FOR FOOD PRODUCTION

Lozova Tetiana*, Syrokhman Ivan, Kalymon Marta-Mariia

Lviv Trade and Economic University, Lviv, Ukraine

ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИННИХ ІНГРЕДІЄНТІВ ЯК АНТИОКСИДАНТІВ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

Лозова Тетяна, Сирохман Іван, Калимон Марта-Марія

Received 3. 4. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The article presents the results of the study of antioxidant properties of plant powders of common elder (*Sambucus nigra* L.) and little-leaved linden (*Tilia cordata* Mill) flowers. Powders were put to the confectionery fat at a concentration of 1 and 2% by weight of fat. The fat sample with no additives was as a control. The experimental studies were conducted in the model conditions of the accelerating kinetic method by the temperature of (90 ± 2) °C with free access to oxygen. The change of fat quality was controlled by the content of oxidation products – primary (peroxidation number), secondary (benzidine number) and products of hydrolysis (acid number). Among the studied plant ingredients, the powder of common elder flowers, at a concentration of 1.0% by weight of fat, provided the reduction of the quantities of peroxide number in 1.3–1.55 times. Increased concentrations of powder to 2.0% led to the creation of the antioxidant effect in 1.34–1.60 times. According to the peroxide value, the powder of little-leaved linden flowers (1.0%) exceeded the effectiveness of the common elder flowers (1.0%) in 1.1 times. In the sample of fat with this additive, the content of peroxides is reduced to 1.36–1.72 times for the entire period of storage. In neighbor value of the degree of the primary oxidation in the sample of fat with the addition of 2.0% powder of little-leaved linden flowers, the number of peroxides in 1.39–1.83 times compared to 1.0% of this additive, nevertheless was managed to reduce. The benzidine number of confectionery fat due to the addition of these herbal powders turned lower in 1.2–1.7 times during monitoring and acid number – in 1.15–2.80 times. Thus, it is proved that their adding to the confectionery fat allows to slow down the processes of oxidation and hydrolysis of fat in 1.20–1.83 times regarding the control sample. The powder of little-leaved linden flowers showed higher efficiency. The obtained results make it possible to conclude that the use of studied additives as the plant ingredients in the production of fat-containing flour confectionery products of high biological value with a view to extending its storage is possible.

Keywords: plant ingredients; antioxidants; supplements; food products

Вступ

Правильно збалансований раціон може захистити населення від деяких найбільш поширених сьогодні захворювань, а також сповільнити старіння організму. Погіршення екологічної ситуації обумовлює необхідність у розробці харчових форм біозахисної дії. За умов ослаблення

*Corresponding author: Tetiana Lozova, Lviv Trade and Economic University, Lviv, Ukraine,
✉ lozovatm@gmail.com

організму відбувається масове утворення вільних радикалів, які можуть бути причиною багатьох захворювань. У цьому випадку організму людини особливо потрібні біологічно активні речовини, які допомагають адаптуватися до несприятливих факторів навколишнього середовища, запобігти захворюванням та виявляти антиоксидантну активність.

Саме тому здорове харчування стало найважливішим глобальним трендом сучасного ринку продуктів харчування. Традиційна сировина для отримання харчових продуктів у харчовому та біологічному відношеннях недостатньо повноцінна, тому найбільш перспективним є застосування цінних рослинних інгредієнтів. Окислювальне прогіркання – найбільш поширений вид псування жиромісних харчових продуктів, у результаті якого утворюються сполуки перекисного характеру, альдегіди, кетони, низькомолекулярні кислоти, оксикислоти та ін. У зв'язку з цим створення оздоровчих продуктів нового покоління з біологічно цінної сировини з антиоксидантними властивостями є важливим товарознавчим науковим напрямом сьогодення.

Проблема пошуку та дослідження рослинних інгредієнтів з антиоксидантною дією залишається на сьогодні досить актуальною, проте не вирішеною. З метою отримання конкурентоспроможної харчової продукції сучасні тенденції орієнтують науковців на пошук ефективних природних джерел рослинних інгредієнтів, які виявляють комплексну позитивну дію на організм, зокрема антиоксидантну. Водночас необхідно намагатися застосовувати рослини з мінімальним ступенем технологічної обробки для збереження всього комплексу наявних біологічно активних речовин. Збагачення продукції рослинними антиоксидантами дозволить замінювати ними синтетичні. Потенційні можливості для використання альтернативних замінників синтетичних антиоксидантів достатньо великі, роботу в цьому напрямку проводять вчені світу. Для збагачення продукції антиоксидантами доцільно використовувати рослинні інгредієнти (Басов і Биков, 2013; Макарова та ін., 2013). Показано антиокислювальну дію порошку з плодів калини (Mazur, 2007). Встановлено, що етанольні екстракти стеблини рослини ентади (Dong et al., 2012), плоди пальми jussara (Da Silva et al., 2014), насіння кенафа (Mariod et al., 2014), екстракт рослини *Sambucus nigra* (Bratu et al., 2014) мають значну антиоксидантну активність і можуть розглядатися як джерело природних антиоксидантів. Активність антиоксидантів та інтенсивність окислювальних процесів у харчових продуктах залежить від жирнокислотного складу ліпідів, присутності різних інших інгібіторів або прооксидантів окислення, кількості і стану води у виробі, мікроструктури виробів, температури зберігання та інших факторів. Отже, саме тому виникає необхідність у проведенні експериментальних досліджень конкретних антиоксидантів по відношенню до різних видів жиру.

Матеріали та методи

Матеріалами експериментальних досліджень був жир кондитерський для вафельних і прохолоджувальних начинок серії «Віолія» ПАТ «Вінницький олійно-жировий комбінат» (ТУ У 15.4-00373758-007-2002; Висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи від 13.12.2011 р. за № 05.03.02-04/120053), що використовується як жирова основа борошняних кондитерських виробів, а також рослинні інгредієнти у вигляді порошків високої дисперсності (розмір частинок не більш як 100 мкм) квіток бузини чорної *Sambucus nigra* L. і квіток липи серцелистої *Tilia cordata* Mill. Порошки вносили в жир у концентрації 1 та 2 % до маси жиру. Зразок жиру без добавок слугував контролем. Експериментальні дослідження здійснювали в модельних умовах прискорено-кінетичним методом за температури $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$ з вільним доступом кисню повітря. Зміну якості жиру контролювали за органолептичними показниками та за вмістом продуктів окислення – первинних (пероксидне число, П.ч.), вторинних (бензидинове, Б.ч.) і продуктів гідролізу (кислотне число, К.ч.). Методи досліджень використовувались: фізико-хімічні та аналітичні.

Результати та їх обговорення

Відповідно до результатів досліджень, накопичення продуктів окислення в контрольному зразку жиру та зразках жиру з рослинними інгредієнтами виражалося, перш за все, в рості пероксидного числа. При цьому криві, що характеризують динаміку окислення жиру без добавок, мали більш високі темпи росту. Серед досліджених рослинних інгредієнтів порошок квіток бузини в концентрації 1,0 % до маси жиру забезпечив зниження величини П.ч. в 1,3 – 1,55 рази (табл. 1).

Таблиця 1 Динаміка пероксидного числа кондитерського жиру з рослинними добавками (%) в процесі зберігання в модельних умовах за температури $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$, ммоль $\frac{1}{2}$ O/kg

Table 1 Dynamics of peroxide number of confectionery fat with plant additives (%) during storage in the model conditions under the temperature $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$, mmol $\frac{1}{2}$ O/kg

Добавки, % до маси жиру	Тривалість зберігання, діб				
	2	4	6	8	10
Контроль	5,992 $\pm$ 0,299	15,210 $\pm$ 0,761	28,115 $\pm$ 1,405	44,350 $\pm$ 2,217	58,760 $\pm$ 2,938
Квіти бузини, 1,0	4,609 $\pm$ 0,234	10,868 $\pm$ 0,543	18,869 $\pm$ 0,943	28,612 $\pm$ 1,430	37,909 $\pm$ 1,899
Квіти бузини, 2,0	4,438 $\pm$ 0,222	10,351 $\pm$ 0,517	18,619 $\pm$ 0,930	27,893 $\pm$ 1,394	36,725 $\pm$ 1,836
Квіти липи, 1,0	4,132 $\pm$ 0,207	9,392 $\pm$ 0,469	17,039 $\pm$ 0,851	25,635 $\pm$ 1,281	34,162 $\pm$ 1,708
Квіти липи, 2,0	3,994 $\pm$ 0,199	9,111 $\pm$ 0,456	16,251 $\pm$ 0,812	24,776 $\pm$ 1,238	32,109 $\pm$ 1,605

$p \leq 0,05; n = 3$

Збільшення концентрації порошку до 2,0 % обумовило створення ефекту антиокислення в 1,34 – 1,6 рази. За значенням П.ч. порошок квіток липи (1,0 %) перевищив ефективність квіток бузини (1,0 %) в 1,1 рази. В зразку жиру з цією добавкою вміст пероксидів знижено в 1,36 – 1,72 рази за весь період зберігання. При близькій величині ступеня первинного окислення в зразку жиру з добавкою 2,0 % порошку квіток липи все ж таки кількість пероксидів вдалося знизити в 1,39 – 1,83 рази в порівнянні з 1,0 % цієї добавки.

Виявлено наявність антиоксидантних властивостей рослинних порошоків також у серійних дослідях за показником Б.ч. (табл. 2).

Таблиця 2 Динаміка бензидинового числа кондитерського жиру з рослинними добавками в процесі зберігання в модельних умовах за температури $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$

Table 2 Dynamics of benzidine number of confectionery fat with plant additives (%) during storage in the model conditions under the temperature $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$

Добавки, % до маси жиру	Тривалість зберігання, діб				
	2	4	6	8	10
Контроль	0,158 $\pm$ 0,008	0,380 $\pm$ 0,019	0,510 $\pm$ 0,026	0,744 $\pm$ 0,037	0,942 $\pm$ 0,048
Квітки бузини, 1,0	0,131 $\pm$ 0,007	0,271 $\pm$ 0,014	0,346 $\pm$ 0,018	0,489 $\pm$ 0,025	0,611 $\pm$ 0,031
Квітки бузини, 2,0	0,127 $\pm$ 0,007	0,354 $\pm$ 0,018	0,340 $\pm$ 0,018	0,480 $\pm$ 0,024	0,603 $\pm$ 0,030
Квітки липи, 1,0	0,121 $\pm$ 0,006	0,253 $\pm$ 0,013	0,320 $\pm$ 0,016	0,453 $\pm$ 0,023	0,554 $\pm$ 0,028
Квітки липи, 2,0	0,117 $\pm$ 0,006	0,246 $\pm$ 0,012	0,312 $\pm$ 0,016	0,442 $\pm$ 0,022	0,547 $\pm$ 0,027

$p \leq 0,05; n = 3$

Встановлено достовірне зниження інтенсивності глибоких окислювальних перетворень у зразках кондитерського жиру з порошками квіток бузини у 1,20 – 1,54 рази та квіток липи – 1,3 – 1,7 рази.

Спостерігались відмінності стабілізуючої дії добавок за результатами вивчення гідролітичних змін у жирі (табл. 3), які, очевидно, обумовлені особливостями складу різної рослинної сировини.

Таблиця 3 Динаміка кислотного числа кондитерського жиру з рослинними добавками в процесі зберігання в модельних умовах за температури (90 ± 2 °C), мг КОН

Table 3 Dynamics of acid number of confectionery fat with plant additives (%) during storage in the model conditions under the temperature (90 ± 2 °C), mg KOH

Добавки, % до маси жиру	Тривалість зберігання, діб				
	2	4	6	8	10
Контроль	0,39 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,03	0,89 $\pm$ 0,05	1,18 $\pm$ 0,06	1,42 $\pm$ 0,07
Квіти бузини, 1,0	0,33 $\pm$ 0,02	0,40 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,04	0,93 $\pm$ 0,05
Квіти бузини, 2,0	0,32 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,02	0,59 $\pm$ 0,03	0,78 $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,05
Квіти липи, 1,0	0,32 $\pm$ 0,02	0,38 $\pm$ 0,02	0,57 $\pm$ 0,03	0,71 $\pm$ 0,04	0,83 $\pm$ 0,04
Квіти липи, 2,0	0,31 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,02	0,55 $\pm$ 0,03	0,69 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,04

$p \leq 0,05$; $n = 3$

Процес гідролізу менш інтенсивно відбувався в ліпідному комплексі з добавкою порошку квіток липи – в 1,2 – 1,71 рази, а порошку квіток бузини – в 1,15 – 1,52 рази. Збільшення концентрації добавок до 2,0 % призвело до відповідного зростання інгібірувальної дії.

Висновки

На підставі проведених досліджень можна зробити висновок, що вивчені рослинні добавки у вигляді порошоків квіток бузини чорної та липи серцелистої мають здатність уловлювати вільні радикали, запобігаючи окисленню ліпідів, виявляти відновлювальні властивості. Таким чином, антиокислювальні властивості добавок визначаються ступенем гальмування процесів окислення та гідролізу в 1,2 – 1,83 рази, що гіпотетично варто враховувати в подальших дослідженнях. Одержані результати обумовлюють можливість використання таких добавок як рослинних інгредієнтів у виробництві жиромісної борошняної кондитерської продукції підвищеної біологічної цінності для подовження термінів її зберігання.

Література

- Bratu, M., Doroftei, E., Porta, S. 2014. Determination of antioxidant activity and toxicity of *Sambucus nigra* fruit extract using alternative methods. *Food Technol. and Biotechnol.*, vol. 50, no 2, p. 177–182. DOI: 10.17113.
- Da Silva, C., Kunradi, V., Copetti, C. 2014. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara fruit from Atlantic Forest in southern Brazil. *Food Res Int.*, vol. 44, no. 7, p. 2128–2133. DOI: 10.1111.
- Dong, Y., Yang, H., Peng, Y., Wang, M. 2012. Antioxidant of phenolic compounds from the stems of *Entada phaseoloides*. *Chem. and Biodivers.*, vol. 9, no 1, p. 68–79. ISBN 1612-1880.
- Mariod, A., Ibrahim, R., Ismail, M., Ismail, N. 2014. Antioxidant activity of phenolic extracts from kenaf seedcake. *Grasas y aceites*, vol. 63, no. 2, p. 167–174. DOI: 10.3989

Mazur, B., Borowska, E.J. Produkty z owoców zurawiny błtnej – zawartość związków fenolowych i właściwości przeciwutleniające. *Bromatol. i chem. Toksykol*, vol. 40, no 3, p. 239–243.

Басов, А.А., Быков, И.М. 2013. Сравнительная характеристика антиоксидантного потенциала и энергетической ценности некоторых пищевых продуктов. *Вопросы питания*, т. 82, № 3, с. 77–80. DOI: 10.21267.

Макарова, Н.В., Дмитриева, А.Н., Мусиффулина, Э.В. 2013. Ягоды – исходное сырьё с антиоксидантными свойствами. *Пищевая промышленность*, № 4, с. 25–27. DOI: 10.1016.



USING THE AZO COUPLING OF 3-CHLORO-2-ETHOXIETHILANILINE FOR ITS DETERMINATION IN FORM OF RELATED TRIAZENE DERIVATIVE BY METHOD OF THE HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Maga Ivan

Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ АЗОСОЧЕТАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ 3-ХЛОР-2-ЭТОКСИЭТИЛАНИЛИНА МЕТОДОМ ВЫСОКРОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ВИДЕ ТРИАЗЕНА

Мара Иван

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Triazene 3-chloro2-ethoxiethylaniline (CEA) from 4-nitrophenyldiazonium cations was synthesized. By elemental analysis method, its structure has been confirmed. The effect of hydrogen ions on the formation of CEA azoderivate was studied within the range of 2.8–12.6 pH, the optimum being pH 3.5–5.5. The decrease in the yield of triazene CEA at pH <3 is due to the dominance of the protonated forms of the output amine, while the decrease at pH >7 is due to a decrease in the diazonium-cation concentration. The yield of amine triazene also depends on the reaction time, as well as on the excess of the diazo reagent. The effect of the concentration of the reagent on the formation of azoderivate was studied, while the diazonium-cation concentration was varied from 1 to 30 times with respect to the amount of CEA. Azoderate is formed already at the ratio of components 1 : 1 in the amount of almost 50% of the theoretically calculated yield of the substance. With a further increase in the concentration of the diazo reagent by up to an order, the amount of formation of azoderivate sharply increases. At concentrations of more than 10 multiple amounts, almost complete formation of azo condensation is achieved. In further studies, its 20 times excess was used. To extract and recover the azoderivate, a number of organic solvents were examined: hexane, toluene, o-xylene, dichloromethane, chloroform, dichloroethane, ethyl acetate, butyl acetate, isoamyl acetate. The best were dichloromethane and chloroform. For practical purposes, chloroform was subsequently used. The kinetics of the formation of azoderivate was studied. Already in the first minutes of the solution exposure, almost half of the theoretically calculated yield of triazene is formed and increases significantly over a period of up to 40 minutes exposure of solutions. With an increase in the interaction time of the components to 40–100 min, the yield of azoderivate increases insignificantly. Optimum is 60 minutes exposure of solutions. A linear dependence of the area of chromatographic peaks on the concentration of CEA is observed in the range 22–4,300 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Based on the data obtained, a methodology for determining CEA in wastewater and soils has been developed.

Keywords: 3-chloro-2-ethoxianiline; azo coupling reaction; Hplc; triazene

*Corresponding author: Ivan Maga, Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine,
✉ ivan_maga@outlook.com

Введение

3-хлор-2-этоксанилин (CEA) является продуктом биodeградации действующих веществ многих пестицидов флампроп-изопропаніл (Matolcsy et al., 1988), флампропметил (Мельников и др., 1995) и т.д., которые имеют или имели широкое применение в сельском хозяйстве при выращивании различных культур (Cuypers et al., 2017).

CEA – белый с желтым оттенком кристаллический порошок или пластинки. Растворимость в воде: 8,5 г/л (20 °C), температура плавления 42 – 44 °C, (горит.), температура кипения 139 °C (5.85078 mm Hg) °C, плотность: 1,311 г/см³ (Химическая энциклопедия, 1988). Кроме пестицидов является важным промежуточным продуктом, который широко используется в синтезе красителей, пигментов, фармацевтических препаратов и других важных продуктов. CEA – токсичный при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Опасность кумулятивных эффектов. Возможны серьезное раздражение глаз с последствиями для их здоровья. Может вызывать токсичность пораженных органов, раздражение дыхательных путей (Fratric et al., 2017).

Известны различные хроматографические методы определения CEA с масс-спектрометрическим детектированием. Feng et al. (2015) определяют CEA используя микроэкстракционное эмульгирование с улучшенным поверхностно-активным веществом, воздействию ультразвуком с последующей хроматографической масс-спектрометрией (LC-MS/MS). Получены оптимальные условия следующим образом: 150 мкл экстрактивного растворителя (дихлорэтана) 150 мкл, полимерное поверхностно-активное вещество (альгинат натрия) 0,20 г/л, pH 7,0, соль 3 % и воздействие ультразвука 1 мин. В оптимальных условиях линейный диапазон составлял 0,5 – 200 мкг/л. Коэффициенты корреляции (R^2) и пределы обнаружения составляли 0,9961 – 0,9997 и 0,08 – 0,3 мкг L-1 соответственно, RSD были в пределах 10,3 и 11,9 %.

В работе Montes et al. (2016), используется амперометрический датчик углеродной нанотрубки для определения CEA, обнаружен на многопорной углеродной нанотрубке с пределом обнаружения 50 нмоль/л; 3-кратное увеличение чувствительности с использованием обоих модифицированных электродов было получено по сравнению с оголенным электродом. Сочетание пакетного инъекционного анализа с амперометрическим детектированием обеспечивало точность 1,2 % и пропускную способность образца 130 ч⁻¹. Анализ образцов методом капиллярной электрофорез-тандемной масс-спектрометрии (CE-MS / MS) подтвердил точность предложенного метода. Определение концентрации CEA проводили в диапазоне концентраций от 4 до 235 нмоль/л.

CEA также определяют электрохимическим методом (Raoof et al., 2015) и спектроскопическим (Hadjeb et al., 2017), а также другими методами. Однако, недостатками указанных методов является сложная пробоподготовка, дорогая аппаратура, многостадийность.

В данной статье приведен метод определения CEA в виде триазена путем дериватизации его с 4-нитрофенилдиазоний, а также химико-аналитические характеристики триазена.

Материалы и методы

Раствор CEA (“Aldrich”) готовили растворением 171,5 мг амина в 50 см³ 0,01 М соляной кислоты. Затем раствор переносили в мерную колбу вместимостью 100 см³ и 0,01 М соляной кислотой доводили до метки. Водный раствор 4-нитрофенилдиазония в виде тетрафторборатной соли, синтезированного по (Коренман, 1975), готовили растворением в бидистиллированной воде и получали концентрацию 2,5 мг/см³. Использовали фосфатный буферный раствор – 0,15 М с pH 5,0.

Препаративное выделение азосоединения

В стакане вместимостью 100 см³ растворяют в 60 мг в 50 см³ водно-этанольном растворе при pH 5 (фосфатный буферный раствор) и после растворения навески амина добавляют 20 см³ раствора 4-нитрофенилдиазония в воде (2,5 мг/см³). Выпадает бурый-оранжевый осадок. Осадок переносят в воронку с фильтром (белая лента) и промывают несколько раз водой. Затем осадок растворяют в 60 см³ дихлорметана и в делительной воронке дважды промывают бидистиллированной водой. Органическую фазу сливают и просушивают безводным сульфатом натрия. Раствор фильтруют и органический растворитель выпаривают в вакууме.

Концентрацию водородных ионов измеряли на pH-метре Mettler Toledo (Швейцария). Оптическую плотность растворов измеряли и спектры поглощения записывали на спектрофотометре "Perkin-Elmer UV/VIS Lambda 3B" (США). ИЧС записывали на приборе Abator, фирма Nicolatt (США).

Хроматографические исследования проводили на жидком хроматографе "Perkin-Elmer" (США) со спектрофотометрическим детектором. Хроматографирование проводили в изократическом режиме: колонка стальная (250 × 4,6 мм вн. д.) заполнена фазой „Силасорб С18“, подвижная фаза ацетонитрил: вода = 70 : 30 детектирование проводили при $\lambda = 394$ нм, объем пробы, вводится 20 мкл, скорость подачи подвижной фазы 1,2 см³/мин.

Результаты и их обсуждение

Влияние водород-ионов на образование азодеривата СЕА исследовали в пределах 2,8 – 12,6 pH, оптимальным является pH 3,5 – 5,5 (рис. 1). Уменьшение выхода триазена СЕА при pH <3 обусловлено доминированием протонированных форм выходного амина, а уменьшение при pH >7 – уменьшением концентрации диазоний-катиона. При этом выход триазена амина зависит также от времени проведения реакции, а также от избытка диазореагента.

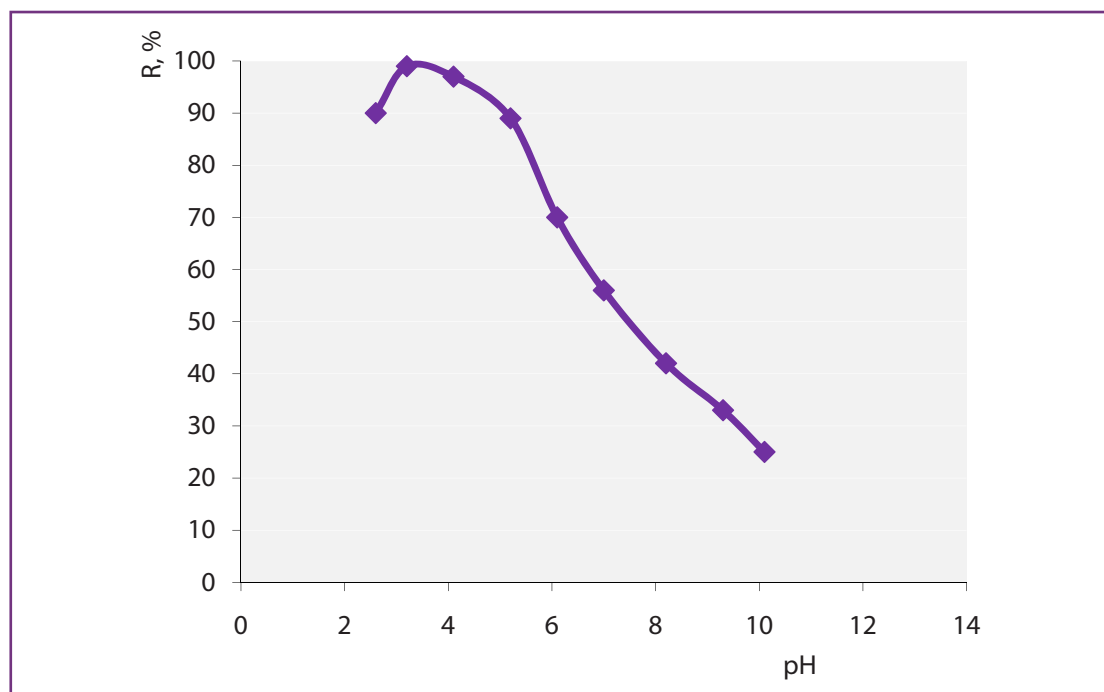


Рисунок 1 Зависимость выхода азодеривата СЕА от pH среды
Figure 1 Dependence of the yield of СЕА azoderivate on the pH value

Для изучения такого влияния концентрации реагента на образование азодеривата ставили ряд опытов, в которых концентрацию диазоний-катиона меняли в пределах от 1 до 30-кратного количества по отношению к количеству CEA (рис. 2).

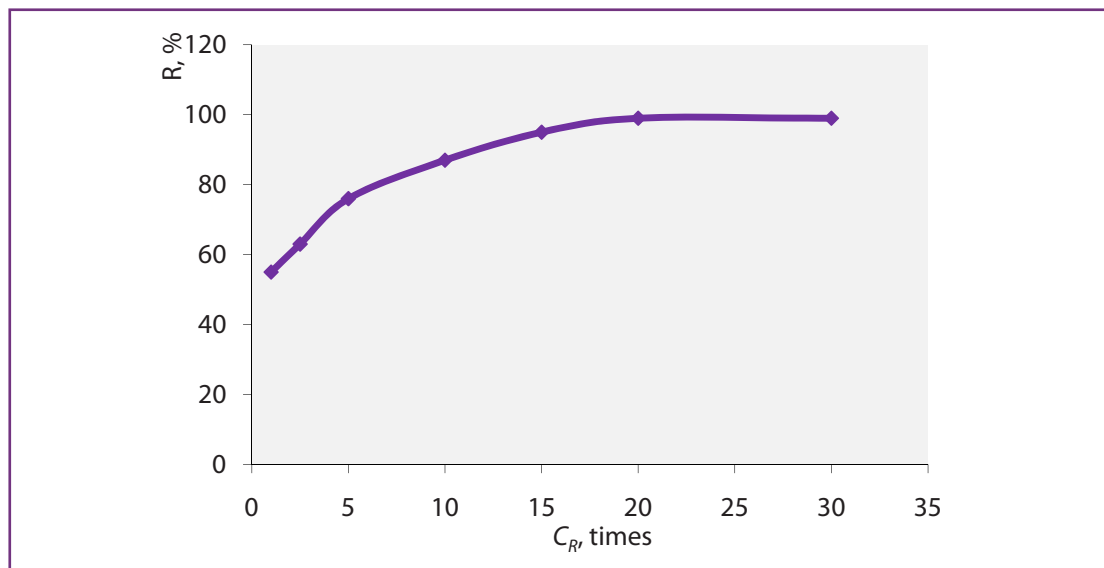


Рисунок 2 Влияние отношения концентраций 4-нитрофенилдиазоний катиона (кратность), C_R/C_{Am} на выход азодеривата CEA

Figure 2 Influence of the concentration ratio of 4-nitrophenyldiazonium cation (multiplicity), C_R/C_{Am} output azoderivatives CEA

Эксперименты показывают (рис. 3), что азодериват образуется уже при соотношениях компонентов 1 : 1 в количестве почти 50 % теоретически рассчитанного выхода вещества. При дальнейшем увеличении концентрации диазореагента до 10 кратной его количества резко возрастает количество образования азодеривата. При концентрациях более 10 кратных количеств достигается почти полное образование азосоединения. В дальнейших исследованиях использовали 20 кратный его избыток.

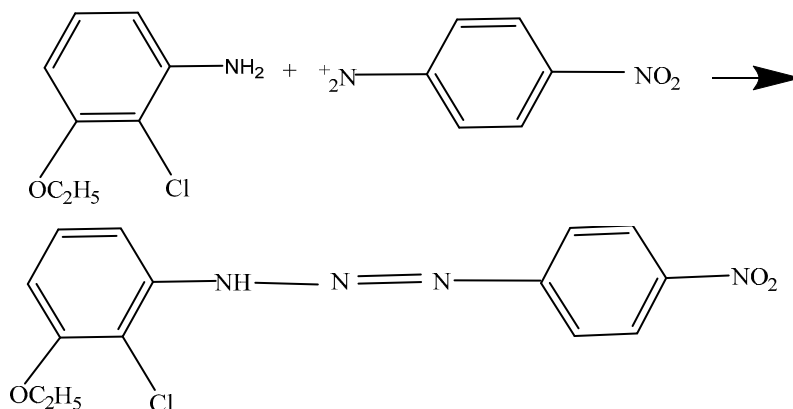


Рисунок 3 Схема реакции азодеривации CEA с 4-нитрофенилдиазоний катионом

Figure 3 The scheme of reaction of derivation CEA with 4-nitrophenyldiazonium cation

Сухой остаток – триазен СЕА анализируют на содержание углерода, хлора, водорода, и азота, результаты анализа приведены в таблице 1.

Таблица 1 Результаты элементного анализа триазена СЕА (%)

Table 1 The results of elemental analysis of СЕА triazene (%)

Углерод		Водород		Азот		Хлор	
вычислено	найдено	вычислено	найдено	вычислено	найдено	вычислено	найдено
52,42	5248	4,06	4,04	17,48	17,51	11,08	11,13

Для экстракции и извлечения азодеривата исследовали ряд органических растворителей: гексан, толуол, о-ксилол, дихлорметан, хлороформ, дихлорэтан, этилацетат, бутилацетат, изоамилацетат. Лучшими оказались дихлорметан и хлороформ. Для практических целей в дальнейшем использовали хлороформ. Изучена кинетика образования азодеривата. Уже на первых минутах экспозиции растворов образуется почти половина теоретически рассчитанного выхода триазена и значительно возрастает в течение времени до 40 мин. экспозиции растворов. При увеличении времени взаимодействия компонентов до 40 – 100 мин., выход азодеривата растет в незначительной степени. Оптимальной является 60 мин. экспозиция растворов.

Линейная зависимость площади хроматографических пиков от концентрации СЕА наблюдается в пределах 22 – 4 300 мкг/дм³. На основе полученных данных разработана методика определения СЕА в сточных водах и почвах.

Методика определения СЕА методом ВЭЖХ в сточных водах

В мерную колбу вместимостью 10 см³ вносят 5,0 см³ раствора, содержащего 0,1 – 15 мкм (22 – 4 300 мкг/см³) СЕА добавляют 0,3 см³ формамида, перемешивают, добавляют 0,3 см³ фосфатного буферного раствора и 0,4 см³ водного раствора 4-нитрофенилдиазония, перемешивают. Через 6 мин доводят содержимое колбы этанолом до метки и перемешивают, охлаждают, снова доводят этанолом до метки и хроматографируют. Чувствительность определения 22 мкг/см³.

Методика определения СЕА в почвах

В плоскодонную колбу вместимостью 250 см³ помещают 25 г воздушно-сухой пробы почвы добавляют 50 см³ 0,5 М НСl и перемешивают на аппарате для встряхивания в течение 1 ч. Фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера с фильтром „синяя лента“ в колбу Бунзена. Остаток на фильтре промывают еще 25 см³ 0,5 М НСl. Фильтрат переносят в фарфоровую чашку вместимостью 50 см³ и выпаривают на песчаной бане досуха. Сухой остаток смывают 5 см³ фосфатного буфера, в мерную колбу вместимостью 10 см³ добавляют 0,3 см³ формамида, 0,4 см³ водного раствора 4-нитрофенилдиазония, перемешивают и дальше, как описано в методике для сточной воды. В таблице 2 приведены результаты определения СЕА в виде триазена в модельных растворах и в пробе сточной воды, отобранных на землях агропоромышленного торгового предприятия «Бобовище» село Бобовище, Мукачевский район, Закарпатской области, Украина.

Таблица 2 Результаты определения СЕА в виде триазена в модельных образцах почвы и растворах (1–3), в образце почвы и в сточной воде (4)

Table 2 Results of determination of СЕА as triazenes in modeling samples of soil and solutions (1–3) and soil sample and the wastewater (4)

№ п/п	Почва			Вода		
	введено, мкг/кг	найденно, мкг/кг	Sr	введено, мкг/дм ³	найденно, мкг/дм ³	Sr
1	24,0	23,9 ± 0,3	0,04	24,0	24,1 ± 0,3	0,04
2	115,0	115,2 ± 0,7	0,03	125,0	124,8 ± 0,6	0,03
3	320,0	320,4 ± 1,5	0,02	160,0	159,7 ± 1,4	0,02
4	–	33,2 ± 0,3	0,03	–	27,9 ± 0,3	0,03

Выводы

Синтезирован триазен с 4-нитрофенилдиазонием. Методами элементного анализа, подтверждена его структура. Установлены оптимальные условия образования триазена СЕА, pH 3 – 5, 20 кратный избыток 4-нитрофенилдиазоний катиона. Извлечение в органическую фазу максимально при использовании в качестве экстрагентов дихлорметана и хлороформа. Линейная зависимость площади хроматографических пиков от концентрации СЕА наблюдается в пределах 22 – 4300 мкг/дм³. Разработаны и апробированы методики определения СЕА в виде триазена методом ВЭЖХ в почвах и в сточных водах. Методики апробированы на модельных образцах и на реальных объектах. Приведена метрологическая обработка результатов.

Литература

- Cuypersa, E., Vanhoveb, W., Gotinka, J., Bonneurea, A., Dammeb, P.V., Tytgata, J. 2017. The use of pesticides in Belgian illicit indoor cannabis plantations. *Forensic Science International*, vol. 277, no. 8, p. 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.05.016>
- Feng, W., Zhu, Y., Ouyang, G.F. 2015. Application of an Ultrasound-assisted Polymer Surfactant-enhanced Emulsification Microextraction for Determination of Aromatic Amines in Water Sample. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, vol. 43, no. 7. p. 957–963. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(15\)60834-9](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(15)60834-9)
- Fratrić, V., Varga, J., Vukmirović, S., Sudji, J., Živković, D. 2017. Cryptorchidism and pesticides: Is there a connection? *Journal of Pediatric Surgery*, vol. 52, no. 7 p. 1166–1168. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2016.11.048>
- Matolcsy, G., Nadasy, N., Andriska, V. 1988. *Pesticide Chemistry Amsterdam*. Elsevier. 808 p.
- Montes, R.H.O., Lima, A.P., Santos, V.B., Vidal, D.T.R., Lago, C.L., Richtey E.M., Rodrigo, A.A., Munoz, R.A.A. 2016. Carbon-nanotube amperometric sensor for selective determination of 3-chloro2-ethoxyethylaniline in commercial chlorhexidine solutions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 231, no. 8. 2016, p. 38–44. DOI: 10.1016/j.snb.2016.02.139
- Raoof, J.B., Teymoori, N., Khalilzadeh, M.A., Ojani, R. 2015. A high sensitive electrochemical nanosensor for simultaneous determination of glutathione, NADH and folic acid. *Materials Science and Engineering: C*, vol. 47, no.2, p. 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.012>
- Коренман, И.М. 1975. Фотометрический анализ. *Методы определения органических соединений*. М.: Химия, 390 с.
- Мельников, Н.Н., Новожилов, К.В., Белан, С.Р. 1995. Пестициды и регуляторы роста растений. *Справочник*. М.: Химия. 576 с.
- Химическая энциклопедия*. 1988. Главный редактор И.Л. Кнунянц. В 5 томах, т. 1. М.: Советская энциклопедия, сс. 165.



SPECIFIC ACTION OF IRIDOID GLYCOSIDES FROM *LINARIA VULGARIS* MILL. DEPENDING ON THE SPECIES

Mascenko Natalia*, Borovskaia Alla, Ivanova Raisa, Ciurmac Petr

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection Academy of Sciences of Moldova, Chisinau

ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ИРИДОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ *LINARIA VULGARIS* MILL.

Машченко Наталья, Боровская Алла, Иванова Раиса, Чумак Петр

Received 16. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The paper presents the results of the investigation of the species specificity of glycosides from the wild plant *Linaria vulgaris* Mill. on traditionally grown vegetables in Moldova – carrots, onions, eggplants, and tomatoes. Their significant stimulating impact has been noted on the germination, growth, and development of vegetables contributing to a complete implementation of their productive potential, quality improvement and marketable presentation of the products. Strong confirmation has been obtained after many years research that the effectiveness of the impact of the natural bio-regulator largely depends on the type of the vegetable crop. Recommendations have been given on the practical use of the natural bio-regulator from *Linaria vulgaris* for pre-sowing soaking of vegetable seeds as the technique for cultivating of vegetable crops in the greenhouses and the field.

Keywords: glycosides; natural bio-regulators; carrots; onions; eggplants; tomatoes; productivity

Введение

Овощеводство является одной из важнейших составляющих продовольственного ресурса Республики Молдова. Эта отрасль поставляет растительные продукты, обладающие ценными питательными и целебными свойствами, имеющими большое значение для обеспечения полноценного рациона людей. Основное требование к технологиям органического овощеводства – обеспечить не только планируемую урожайность выращиваемых культур, но и способствовать получению качественной, экологически чистой продукции, снижению энерго- и материалоемкости, а также трудоемкости производства овощей, сохранению и улучшению почвенного плодородия (Аутко и др., 2003).

Существенным резервом интенсификации производства овощей и улучшения его качества наряду с основными приемами возделывания культур является использование биорегуляторов роста растений, которые представляют собой физиологически активные вещества природного происхождения, применяемые в микродозах (Аутко и др., 2003; Ботнаръ и др., 2012). Это препараты, действие которых направлено на активизацию и поддержание жизненных процессов в растениях. Они стимулируют корнеобразование и рост, индуцируют иммунитет растений, способствуя более быстрой адаптации к неблагоприятным условиям

***Corresponding author:** Natalia Mascenko, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, ✉ mne4747@mail.ru

среды, результатом чего является повышение урожайности, улучшение качества полученной продукции, снижение себестоимости.

Как показали исследования, для максимально эффективного применения природных биорегуляторов в качестве элемента технологии возделывания необходимо учитывать разнонаправленность действия указанных соединений в зависимости от химической структуры последних, концентрации, способа применения, время экспозиции, а также сортовые особенности культуры, что достоверно выявляется на этапе предварительного тестирования (Ботнар и др., 2012; Машенко и др., 2013; Машенко и др., 2014; Боровская и др., 2016).

В данной работе приведены результаты исследования по применению гликозидов из дикорастущего растения *Linaria vulgaris* Mill. в качестве регуляторов роста на традиционно выращиваемых в Молдове овощах – моркови, луке, баклажанах и томате.

Материалы и методы

В опыте применяли очищенную сумму гликозидов, содержащую богатый набор вторичных метаболитов, которую получили методом исчерпывающей экстракции 60 % этиловым спиртом при нагревании из надземных частей *Linaria vulgaris* (сем. Scrophulariaceae), собранной в период цветения. После предварительной очистки от хлорофилла, экстракт последовательно хроматографировали на колонках с силикагелем и сефадексом до получения 5 индивидуальных соединений (Σ линарозидов). Их химическую структуру установили с помощью спектральных методов анализа, причем один гликозид, названный нами линарозидом V, был выделен впервые и описывался формулой 5,4-диметилкемпферол-3-O- β -D-(6''- α -L-рамнопиранозил)- β -D-пиранозид (Mascenko et al., 2008).

Для тестирования полученных соединений в качестве биорегуляторов семена овощей замачивали на 24 часа в водных растворах суммы линарозидов (Σ линарозидов) в диапазоне концентраций 0,0001...0,01 %. Проращивание семян осуществляли согласно методике (Ботнар и др., 2015). Контролем служили семена, замоченные в воде. Эксперимент проводили в 4-х кратной повторности.

Для производственного испытания при механизированном посеве овощных культур не рекомендуется длительное предпосевное замачивание (Ботнар и др., 2012; Машенко и др., 2013; Боровская и др., 2015; Ботнар и др., 2015). Семена необходимо замачивать не более чем на 20 – 30 мин. с последующей просушкой до сыпучести, поэтому параллельно с 24-часовой экспозицией мы в лабораторном эксперименте сократили время обработки до 30 мин. Нами установлено, что сокращение времени замачивания семян не приводит к достоверному снижению эффективности биорегуляторов.

Результаты и их обсуждение

При лабораторном тестировании во всех вариантах, где для замачивания семян моркови, лука репчатого, томата и баклажана применяли растворы Σ линарозидов, отмечено повышение энергии прорастания семян и их общей всхожести. Однако стимулирующая активность биорегулятора на разных овощных культурах существенно отличается в зависимости от концентрации. Самые высокие показатели энергии прорастания семян для баклажана и лука отмечены в варианте с использованием 0,01 % раствора Σ линарозидов, семян томатов – 0,001 %, а семян моркови – 0,0001 % раствора (табл. 1).

Аналогичное подтверждение видоспецифичности данного биорегулятора отмечено и при изучении его влияния на общую всхожесть семян (табл. 2).

Таблица 1 Влияние Σ линарозидов на энергию прорастания семян овощей
Table 1 The influence of Σ linarosides on the seed germinative energy of vegetable crops

Вариант	Концентрация, %	Томаты		Баклажаны		Морковь		Лук	
		%	% к контролю	%	% к контролю	%	% к контролю	%	% к контролю
Контроль	0,0001	62,0 $\pm$ 2,5	–	16,0 $\pm$ 3,0	–	26,5 $\pm$ 2,1	–	52,8 $\pm$ 3,6	–
		66,3 $\pm$ 3,0	6,9	27,8 $\pm$ 2,4	73,8	32,5 $\pm$ 3,5	22,6	56,3 $\pm$ 4,0	6,6
Σ линарозидов	0,001	69,3 $\pm$ 2,8	11,8	28,8 $\pm$ 3,2	80,0	26,5 $\pm$ 2,3	0	60,3 $\pm$ 3,2	14,2
	0,005	63,8 $\pm$ 4,0	2,9	31,5 $\pm$ 3,0	96,9	25,0 $\pm$ 2,5	-5,7	62,8 $\pm$ 2,8	18,9
	0,01	58,0 $\pm$ 2,0	-6,5	39,0 $\pm$ 3,2	143,8	28,8 $\pm$ 3,0	-14,0	69,0 $\pm$ 3,1	30,7

Таблица 2 Влияние Σ линарозидов на общую всхожесть семян овощей
Table 2 Effect of Σ linarosides on the general germinating ability of vegetable seeds

Вариант	Концентрация, %	Томаты		Баклажаны		Морковь		Лук	
		%	% к контролю	%	% к контролю	%	% к контролю	%	% к контролю
Контроль		69,3 $\pm$ 3,2	–	42,2 $\pm$ 2,0	–	35,5 $\pm$ 1,6	–	58,8 $\pm$ 3,2	–
Σ линарозидов	0,0001	74,3 $\pm$ 4,0	7,2	33,5 $\pm$ 1,5	-20,6	40,8 $\pm$ 2,0	14,9	66,5 $\pm$ 4,0	13,1
	0,001	76,5 $\pm$ 5,4	10,4	31,3 $\pm$ 2,4	-25,8	35,3 $\pm$ 2,1	-0,7	67,0 $\pm$ 3,5	13,9
	0,005	71,8 $\pm$ 3,8	3,6	52,0 $\pm$ 2,8	23,3	34,3 $\pm$ 2,4	-3,4	73,5 $\pm$ 4,1	25,0
	0,01	66,8 $\pm$ 2,6	-3,7	65,3 $\pm$ 3,0	54,7	38,5 $\pm$ 3,1	8,5	74,5 $\pm$ 3,4	26,7

Как видно из приведенных данных, максимально отзывчивой культурой на обработку линарозидами является баклажан. В производственном опыте для предпосевного замачивания семян испытываемых овощных культур использовали раствор Σ линарозидов в концентрации 0,01 %. Данная обработка обеспечила повышение полевой всхожести овощных культур по сравнению с контрольными показателями на 10 – 22 %. Отмечено положительное влияние предпосевного замачивания семян на структуру урожая и товарный вид овощной продукции. Так, при уборке томата стандартных плодов массой 58,0 – 65,0 г получено на 5,84 т/га больше, чем с контрольного участка, луковиц лука массой 67 – 73 г – на 5,15 т/га, а корнеплодов моркови массой 54,0 – 60,0 г собрано на 2,9 т/га больше, чем с участка, где семена перед посевом замачивали в воде.

Хотя показатели общей урожайности овощных культур, полученных на участках с применением Σ линарозидов, значительно превосходят данные контрольных вариантов, они значительно различаются в зависимости от культуры. Так, для томатов предпосевная обработка семян способствовала получению прибавки урожая на 7,54 т/га по сравнению с контрольным вариантом (табл. 3). При выращивании баклажанов в закрытом грунте использование

испытуемого биорегулятора позволило вырастить высококачественную рассаду, увеличить период плодоношения, повысить количество плодов при сборах на 18,6 % и, как следствие, получить прибавку урожая данной культуры на 8,4 т/га больше, чем на участках без обработки. Высокий положительный эффект от применения Σ линарозидов отмечен на посевах лука репчатого. В данном случае получены выровненные всходы, которые легче приспосабливались к сложившимся условиям начальной фазы развития растений. По укоренению, росту и развитию растения превосходили контрольный вариант, а урожайность превысила контроль на 12,3 т/га, причем луковицы отличались более высоким товарным качеством.

Для моркови на участках производственных испытаний показатель урожайности превышал контрольный вариант на 3,9 т/га, хотя и был ниже данных, полученных для других овощей, однако следует отметить, что корнеплоды моркови, как и луковицы, по качественному товарному виду превосходили продукцию, полученную на необработанных участках (табл. 3).

Таблица 3 Влияние Σ линарозидов на общую всхожесть семян овощей
Table 3 Effect of Σ linarosides on the general germinating ability of vegetable seeds

Вариант	Урожайность	
	т/га	% к контролю
Томаты		
Контроль	48,36 ±2,07	15,6
Σ линарозидов	55,90 ±2,80	
Баклажаны		
Контроль	28,8 ±1,01	29,2
Σ линарозидов	37,2 ±1,65	
Лук		
Боровская	47,5 ±2,10	25,9
Σ линарозидов	59,8 ±2,30	
Морковь		
Контроль	16,2 ±1,10	24,1
Σ линарозидов	20,1 ±1,50	

Биохимический анализ конечной продукции показал, что применение Σ линарозидов положительным образом влияет на содержание общего сахара, витамина С и β -каротина овощей. Так, в плодах томата отмечено снижение кислотности на 3,9 %, повышение общего сахара на 5,9 % и витамина С – на 6,5 мг/100 г по сравнению с контрольным вариантом, в луке содержание общего сахара было выше контроля на 7,8 %, а витамина С – на 19,6 мг/100 г, в корнеплодах моркови содержание β -каротина превосходило контрольные показатели на 36,4 %.

Таким образом, при изучении влияния природного биорегулятора роста из *Linaria vulgaris* на всхожесть, рост и развитие овощных культур отмечен его существенный стимулирующий эффект, способствующий более полной реализации продуктивного потенциала растений, повышению качества и товарного вида продукции.

Получены убедительные подтверждения результатов наших многолетних исследований о том, что эффективность действия биорегуляторов гликозидной природы в значительной степени зависит от вида овощной культуры.

Выводы

Применение предпосевной обработки семян овощных культур раствором иридоидных гликозидов, полученных из *Linaria vulgaris*, позволяет вырастить высококачественную рассаду, увеличить период плодоношения, количество плодов при сборах и, как следствие, повысить урожайность овощей за счет стимулирования ростовых процессов растений.

Для эффективного использования данного биорегулятора в технологии возделывания овощных культур необходимо учитывать разнонаправленное действие в зависимости от концентрации, экспозиции, сортовых особенностей, методов и сроков применения.

Использование Σ линарозидов в качестве биорегулятора для повышения урожайности овощных культур, выращиваемых в закрытом и открытом грунте, представляет большой практический интерес для органического овощеводства.

Литература

- Mascenko, N., Kintia, P., Gurev, A., Marchenko, A., Bassarello, C., Piacente, S., Pizza, C. 2008. Glycosides from *Linaria vulgaris* Mill. *Chem.J. of Moldova*, vol. 3, no. 2, p. 98–100.
- Аутко, А., Гануш, Г., Долбик, Н. 2003. *Приоритеты современного овощеводства*. Минск. УП «Технопринт». 156 с. ISBN 985-464-476-6.
- Боровская, А., Машенко, Н., Фокша, Н. 2016. *Применение биорегуляторов гликозидной природы при возделывании баклажанов в закрытом грунте*. Nitra, с. 34–39.
- Боровская, А.Д., Машенко, Н.А., Ботнар, В.Ф., Василяки, Ю.Л., Градинар, Д.Г. 2015. Применение биорегуляторов растительного происхождения в качестве приема в технологии возделывания томатов. *Материалы межд. науч.-практ. конференции, посвященной 85-летию со дня основания НИИ сельского хозяйства «Современное состояние и перспективы инновационного развития сельскохозяйственного хозяйства»*, 16–17 ноября 2015 г. Eco-Tiras, Тирасполь, с. 214–219. ISBN 978-9975-53-552-6.
- Ботнар, В.Ф., Боровская, А.Д., Кинтя, П.К. 2012. Применение регуляторов роста растительного происхождения в технологии возделывания лука репчатого. *Материалы III Межд. научн.-практ. конференции «Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы»*, посвященной 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова, 8–9 августа 2012, М.: ВНИИССОК, с. 148–155. ISBN 978-5-901695-54-8.
- Ботнар, В.Ф., Боровская, А.Д., Машенко, Н.Е., Василяки, Ю.Л., Фокша, Н.Г., Гуманюк, А.В., Градинар, Д.Г., Козарь, Е.Д., Балашова, И.Т. 2015. *Рекомендации по применению регуляторов роста растений в технологии возделывания овощных культур*. Кишинев: Print-Caro. 24 с. ISBN 978-9975-56-224-9.
- Машенко, Н.Е., Боровская, А.Д. 2014. Потенциальные возможности применения регуляторов роста растительного происхождения в овощеводстве. *Материалы XI межд. научно-методической конференции «Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия культурных растений»*, 9–13 июня 2014. Махачкала, часть I, с. 30–34. ISBN 978-5-4242-0255-1.
- Машенко, Н.Е., Боровская, А.Д., Кинтя, П.К., Гуманюк, А.В. 2013. Влияние гликозида из *Linaria vulgaris* Mill. на всхожесть семян моркови. *Материалы X межд. симпозиума «Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования»*, 17–21 июня 2013, Пущино. Том II, Москва. Изд. Рос. Университета дружбы народов, с. 202–205. ISBN 978-5-209-05152-7. ISBN 978-5-209-05153-4.



COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF LINE-VARIETY AND INTERVARIETAL HEMP (*CANNABIS SATIVA* L.) HYBRIDS BY PRODUCTIVITY

Mishchenko Serhii

Institute of Bast Crops of NAAS, Hlukhiv, Ukraine

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІНІЙНОСОРТОВИХ І МІЖСОРТОВИХ ГІБРИДІВ КОНОПЕЛЬ (*CANNABIS SATIVA* L.) ЗА ПРОДУКТИВНІСТЮ

Міщенко Сергій

Received 6. 4. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The relevance of creating hemp hybrids using inbred lines and detecting a heterotic effect in them was caused by a need for an essentially new initial material of the crop, as well as for expanding its genetic basis and accelerating the breeding process of creating varieties through obtaining homogeneous and stable populations as early as in the initial stages. The comparative characteristics of line-variety and intervarietal hemp hybrids by productivity are presented in this article. Hybrids F_1 I_6 Hlukhivski 58 / Hlukhivski 51, I_4 Hlesia / Hlukhivski 51, I_6 Zolotoniski 15 / Hlukhivski 51, Hlukhivski 58 / Hlukhivski 51, Hlesia / Hlukhivski 51, Zolotoniski 15 / Hlukhivski 51 were studied by us. There are differences between the hybrids on the signs of the total plant height (min = 216.0, max = 298.7 cm), the technical stem length (min = 181.9, max = 220.7 cm), stem diameter (min = 8.66, max = 15.36 mm), the weight of the stem (min = 12.84, max = 50.54 g) and fiber (min = 3.59, max = 15.48 g), fiber content (min = 24.82, max = 33.00 %), the weight of seeds from one plant (min = 4.08, max = 26.72 g) and the weight of a thousand seeds (min = 17.9, max = 21.6 g). Hybrid I_6 Zolotoniski 15 / Hlukhivski 51 and a group of line-variety hybrids were the most productive. There can be recommended for practical breeding crossing of inbred lines and varieties of the Southern and middle-Russian ecology-geographical type.

Keywords: hemp; breeding; inbred line; variety; hybrid; productivity

Вступ

Гібридизація завжди була і є важливим методом створення вихідного селекційного матеріалу конопель (Аринштейн, 1953; Сенченко и др., 1977; Сенченко и Жатов, 1978; Вировець та ін., 2011; Вировець, 2015), а ефективність селекційної роботи значно посилюється, якщо обґрунтовано підбирати необхідні форми для схрещування і поєднувати гібридизацію з подальшим поліпшуючим добром за прямими цінними господарськими ознаками (Сенченко и Жатов, 1978).

Використання самозапилених ліній, які в процесі інбридингу диференціюються за рядом цінних ознак, з подальшою їх гібридизацією є дієвим способом розширення генетичної основи вихідного селекційного матеріалу конопель. У процесі гібридизації самозапилених ліній відбувається формотворення унікальних генотипів, які проявляються у фенотипах

***Corresponding author:** Serhii Mishchenko, Institute of Bast Crops of NAAS, Hlukhiv, Ukraine,
✉ serg_mischenko@mail.ru

з новими селекційними ознаками і властивостями, стабільним продуктивним потенціалом, чітко вираженим ефектом гетерозису. Даний напрям в селекції конопель на даний час активно розвивається.

Досліджено рівень прояву та успадкування основних селекційних ознак у сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів конопель (Мищенко, 2016а; Мищенко, 2016в), особлива увага при цьому приділена генетико-статистичним закономірностям мінливості кількісних ознак, порівнянню відповідності емпіричного і теоретичного розподілу частот значень цих ознак у зв'язку із селекцією (Мищенко и Лайко, 2016), особливостям прояву явища гетерозису і його тривалості (Мищенко, 2016в). Доведено відсутність психотропності конопель при одночасному прояві гетерозису за іншими біологічними і цінними господарськими ознаками (Мищенко, 2016б; Мищенко 2016в). Установлено особливості успадкування ознак статі (Мищенко, 2015; Мищенко, 2016в), еколого-географічного типу (Мищенко, 2015) та вмісту олії в насінні (Мищенко, 2014) у різних типів гібридів. При цьому обґрунтовано теоретичні передумови використання інбридингу в селекції конопель, концептуальні основи створення гетерозисних гібридів (Мищенко, 2013; Мищенко та ін., 2016), практично створено перспективний селекційний матеріал.

Однак, у даних роботах відсутня порівняльна характеристика міжсортних гібридів і гібридів, створених із участю самозапилених ліній. Окремо доведено як ефективність міжсортної (Сенченко и др., 1977), так і можливість міжлінійної гібридизації (Лайко и др., 2000). Таке протиріччя і визначило вибір теми нашого наукового пошуку та його актуальність.

Мета досліджень – порівняти лінійносортові і міжлінійні гібриди конопель за основними селекційними ознаками.

Матеріали та методи

Схрещування проводили в умовах вегетаційного будинку з використанням групових ізоляторів. За материнські форми були використані по дві відмінні самозапилені лінії і по дві селекційні сім'ї сортів Глухівські 58, Глесія, Золотоніські 15, які схрещували з сортом-тестером Глухівські 51. Потомство F_1 за основними селекційними ознаками аналізували у розсаднику оцінки за площі живлення рослин 30 × 5 см.

Результати та їх обговорення

Аналіз гібридного потомства першого покоління показує, що різні гібриди мали значні відмінності за досліджуваними селекційними ознаками (табл. 1).

Таблиця 1 Селекційні ознаки лінійносортових і міжсортних гібридів конопель
Table 1 Breeding signs of line-variety and intervarietal hemp hybrids

Гібрид	ЗВ, см	ТД, см	ДС, см	МС, г	МВ, г	ВВ, %	МН, г	МТ, г
I ₆ Глухівські 58 / Глухівські 51	216,0	181,9	8,66	12,84	3,59	28,22	4,08	20,8
I ₄ Глесія / Глухівські 51	272,6	209,4	11,43	24,72	9,72	27,18	13,24	21,6
I ₆ Золотоніські 15 / Глухівські 51	298,7	220,7	15,36	50,54	15,48	30,73	26,72	18,2
Глухівські 58 / Глухівські 51	237,3	193,0	9,67	15,98	5,27	33,00	8,90	20,2
Глесія / Глухівські 51	271,8	195,3	12,02	27,86	8,36	30,20	16,96	19,8
Золотоніські 15 / Глухівські 51	276,6	218,4	12,00	33,34	8,50	24,82	13,10	17,9
НІР 0,05	26,9	14,8	1,97	11,54	3,51	2,46	7,18	1,4

ЗВ – загальна висота, ТД – технічна довжина, ДС – діаметр стебла, МС – маса стебла, МВ – маса волокна, ВВ – вміст волокна, МН – маса насіння, МТ – маса тисячі насінин

Загальна висота рослин коливалась в межах 216,0 – 298,7 см, технічна довжина стебла – 181,9 – 220,7 см, діаметр на середині технічної довжини стебла – 8,66 – 15,36 мм, маса стебла – 12,84 – 50,54 г, маса волокна – 3,59 – 15,48 г, вміст волокна – 24,82 – 33,00 %, насіннєва продуктивність – 4,08 – 26,72 г і маса тисячі насінин – 17,9 – 21,6 г. Значний розмах варіації існував за ознаками загальної висоти рослин, масою стебла, масою волокна і насіння з однієї рослини.

Низьку продуктивність демонстрував лінійносортовий гібрид І₆ Глухівські 58 / Глухівські 51 за більшістю цінних господарських ознак, крім вмісту волокна і маси тисячі насінин, які найменше значення мали у гібрида Золотоніські 15 / Глухівські 51 (24,82 % і 17,9 г відповідно). Висока продуктивність притаманна гібриду І₆ Золотоніські 15 / Глухівські 51, отриманому в результаті схрещування віддалених еколого-географічних типів – самозапиленої лінії південного типу і сорту середньоросійського типу. Виняток становили лише ознаки вмісту волокна і маси тисячі насінин, які відповідно у гібридів Глухівські 58 / Глухівські 51 й І₄ Глесія / Глухівські 51 мали значення 33,00 % і 21,6 г.

Існувала тенденція до того, що міжсортовий гібрид Глухівські 58 / Глухівські 51 здебільшого мав вищі показники за свого лінійносортового аналога, міжсортовий Глесія / Глухівські 51 і лінійносортовий гібрид І₄ Глесія / Глухівські 51 конкурували між собою, залежно від тієї чи іншої ознаки, Золотоніські 15 / Глухівські 51, безперечно, був нижчим за рівнем вираження селекційних ознак від свого лінійносортового аналога. Згрупувавши емпіричні дані за типами гібридів, констатуємо, що лінійносортові гібриди у цілому мали вищу господарську цінність (крім вмісту волокна) (табл. 2).

Таблиця 2 Селекційні ознаки різних типів гібридів конопель

Table 2 Breeding signs of different types of hemp hybrids

Тип гібридів	ЗВ, см	ТД, см	ДС, см	МС, г	МВ, г	ВВ, %	МН, г	МТ, г
Лінійносортові	262,4	204,0	11,82	29,37	8,60	28,71	14,68	20,2
Міжсортові	261,9	202,2	11,23	25,73	7,38	29,34	12,99	19,3

ЗВ – загальна висота, ТД – технічна довжина, ДС – діаметр стебла, МС – маса стебла, МВ – маса волокна, ВВ – вміст волокна, МН – маса насіння, МТ – маса тисячі насінин

Таку закономірність можемо пояснити проявом гетерозису за умови, коли в схрещування включені гомозиготні (стабілізовані) за рядом ознак самозапилені лінії, з інбредною депресією і віддаленим генотипом.

Висновки

Доведено ефективність лінійносортової гібридизації, порівняно з міжсортовою. Для практичної селекції рекомендовано схрещування віддалених еколого-географічних типів – самозапилених ліній південного типу, а сорту – середньоросійського типу.

Література

- Аринштейн, А.И. 1953. Селекция конопли. *Коноплеводство*. Москва: Сельхозгиз, с. 36–71.
- Вировец, В.Г. 2015. *Селекция ненаркотической посевной конопли*. Сумы: Еллада. 332 с. ISBN 978-966-1684-64-4.
- Вировец, В.Г., Лайко, І.М., Орлов, М.М., Кириченко, Г.І. 2011. *Селекція Конопли*. Суми: Еллада, с. 78–132. ISBN 978-966-1684-08-8.

- Лайко, И.М., Ситник, В.П., Вировец, В.Г. 2000. Некоторые аспекты изучения и создания гетерозисных гибридов конопли. *Селекция, технология производства та первинної переробки льону і конопель*, с. 88–92.
- Мищенко, С.В. 2013. Теоретичні передумови використання інбридингу в селекції конопель та створення гетерозисних гібридів. *Вісник Степу*, вип. 10, с. 93–97.
- Мищенко, С.В. 2014. Особенности наследования масличности семян у гибридов ненаркотической конопли. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*, вып. 2 (159–160), с. 70–75.
- Мищенко, С.В. 2015. Наследование признаков эколого-географического типа у рецiproкных сортолинейных, линейносортовых и межлинейных гибридов конопли. *Конкурентная способность отечественных гибридов, сортов и технологии возделывания масличных культур*. Краснодар, с. 94–98.
- Мищенко, С.В. 2015. Особливості успадкування ознак статі у сортолінійних, лінійносортових та міжлінійних гібридів однодомних конопель. *Селекція і насінництво*, вип. 108, с. 122–130.
- Мищенко, С.В., Лайко, И.М. 2016. Изменчивость количественных признаков линейных гибридов конопли F_1 – F_3 среднерусского и южного эколого-географических типов. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*, № 2 (34), с. 30–36. DOI: [10.18286/1816-4501-2016-2-30-36](https://doi.org/10.18286/1816-4501-2016-2-30-36)
- Мищенко, С.В. 2016а. Рівень прояву та успадкування селекційних ознак у сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів F_1 різних еколого-географічних типів. *Селекція і насінництво*, вип. 109, с. 101–110.
- Мищенко, С.В. 2016б. Вміст канабіноїдів у сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів конопель F_1 – F_3 та методичні аспекти їх створення. *Вісник Центру наукового забезпечення АПВ Харківської області*, вип. 21, с. 186–194.
- Мищенко, С.В. 2016в. Ефект гетерозису у сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів конопель при одночасній відсутності канабіноїдів та стабільній ознаці однодомності. *Вісник Степу*, вип. 13, с. 102–108.
- Мищенко, С.В., Лайко, И.М., Вировец, В.Г., Кириченко, Г.І. 2016. Концептуальні основи створення гетерозисних гібридів однодомних конопель. *У Технічні культури в умовах сучасного аграрного виробництва*. Суми, с. 3–15. ISBN 978-966-1684-72-9.
- Сенченко, Г.И., Вировец, В.Г., Щербань, И.И. 1977. Межсортовая гибридизация – основной метод создания однодомной конопли. *Биология, возделывание и первичная обработка конопли и кенафа*, вып. 40, с. 3–12.
- Сенченко, Г.И., Жатов, А.И. 1978. *Селекция. Конопля*. Москва: Колос, с. 44–82.



CULTURAL EXTENSION OF *TAXODIUM* IN THE TERRITORY OF SLOVAKIA AND ITS GENETIC-GENOMICAL NOTES

Mňahončáková Erika^{1*}, Ražná Katarína², Hrubík Pavel³

¹Botanic garden, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia

³Emeritus professor, Dunajská 16, 949 11 Nitra, Slovakia

KULTÚRNE ROZŠÍRENIE RODU *TAXODIUM* NA ÚZEMÍ SLOVENSKA A JEHO GENETICKO-GENOMICKÉ POZNATKY

Mňahončáková Erika, Ražná Katarína, Hrubík Pavel

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The subject of the research was to find out the cultural expansion of two species of *Taxodium*, namely *Taxodium ascendens* (Brongn.) and *Taxodium distichum* (L.) L. C. Rich. The occurrence of individuals was recorded on 18 different localities of Slovakia, obtaining the taxonomic-dendrometric characteristics of individual trees. Appropriate methodologies and available devices have been used. Biological data, such as tree planting, health status, landscaping value, and tree age were recorded. The *Taxodium distichum* (L.) L. C. Rich. is found in 15 localities in Slovakia and in the three localities of *Taxodium ascendens* (Brongn.). Regarding the number of trees represented, *Taxodium distichum* contains 35 trees growing on individual localities, of which 3 are state-protected trees. We did not confirm 9 trees at registered locations. In general, we have seen a declining level of maintenance and care for our historic parks and state-protected trees. Literary records characterizing the genome of these rare species are focused on the study of genetic variability and polymorphism mapping using various types of molecular markers to elucidate the genetic essence of phenotypic variability and the historical structure of species populations.

Keywords: *Taxodium distichum*; *Taxodium ascendens*; taxonomic-dendrometric; characteristics

Úvod

Druh *Taxodium* je známy svojou významnou toleranciou voči stresu zavodnenia, z čoho vyplýva jeho veľký ekologický a ekonomický potenciál (Qi et al., 2014). *Taxodium*, patrí do čelade Taxodiaceae – tisovcovité (Mareček et al., 2001). Známe sú tri druhy, ktorých domovom sú južné oblasti Severnej Ameriky a Mexika, väčšinou na bažinách alebo veľmi mokrých pôdach (Hieke, 2008). Uvádzame dva druhy: *Taxodium ascendens* (Brongn.) a *Taxodium distichum* (L.) L. C. Rich., ktoré boli predmetom výskumu a merania na Slovensku.

Tisovec potrebuje v mladosti polotieň, neskôr svetlé stanovište. V našich podmienkach je odolný voči zime, nie je príliš náročný na pôdu, ideálna je teplejšia, piesočnato hlinitá, dobre priepustná a hlavne

*Corresponding author: Erika Mňahončáková, Botanic garden, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, ✉ erika.mnahoncakova@gmail.com

dostatočne vlhká až mokrá pôda. Môže sa pestovať v bažinatom teréne, prípadne i v priechodne plytkých stojatých vodách. Na suchých stanovištiach zakrpatieva, koruny sú preschnuté a riedke. Neznáša zatienenie, znečistené ovzdušie znáša dobre (Hieke, 2008; Mareček et al., 2001).

Napriek výraznému ekologickému a ekonomickému potenciálu, genomické informácie tohto druhu sú limitované, čo značne spomaľuje tvorbu molekulových markérov a ďalšie poznávanie mechanizmov tolerancie daného druhu voči podmienkam zamokrenia (Qi et al., 2014).

Materiál a metódy

Prieskum na všetkých evidovaných lokalitách sme absolvovali osobnou účasťou autorov publikácie, preto môžeme zodpovedne konštatovať znižujúcu sa úroveň údržby a starostlivosti o naše historické parky a štátom chránené stromy (označenie stromov je však viac rešpektované). Pre zlepšenie súčasného stavu odporúčame rozšíriť zoznam štátom chránených stromov, ako aj niektorých významnejších historických parkov.

Pri našom výskume sme použili osvedčené metodické pracovné postupy a dostupné prístroje a iné pomôcky: výškomer SUUNTO, textilné pásmo s prepočtom cm obvodu kmeňa na jednej strane, na cm priemeru kmeňa na opačnej strane; ďalej sme merali šírku koruny stromu, ako priemet koruny na zem v dvoch smeroch; výška stromu v m; iné biologické údaje: plodenie stromu, zdravotný stav a sadovnícka hodnota; vek stromu – výpočtom podľa matematického vzorca; podľa roku introdukcie dreviny na Slovensko, prípadne do Európy; odhadom podľa celkových rozmerov stromu. Od zisťovania veku pomocou vývrtov z Presslerovho vrtáka, sme pre následnú finančnú náročnosť upustili. Zisťovanie veku stromov považujeme za metodicky najobťažnejšie, preto sa nevyhneme ani využitiu publikovaných údajov o prvej introdukcii dreviny na územie Slovenska.

Základné dendrometrické hodnoty namerané na jednotlivých stromoch vybranej skupiny drevín sú spracované v tabuľkovom prehľade.

Výsledky a diskusia

Kultúrne rozšírenie dvoch vybraných druhov cudzokrajných drevín, zriedkavo na Slovensku pestovaných, sme zaznamenali na 18 rôznych lokalitách (historické parky, botanické záhrady, arboréta, kategórie ostatnej vegetácie v urbanizovanom prostredí, ako aj pokusné plochy v lesných porastoch). Medzi nimi je aj štátom chránený strom tisovca dvojradového. Medzi najkomplexnejšie publikácie opisujúce rozšírenie uvedených drevín na Slovensku patria práce autorov: Benčať (1982), Holubčík (1968).

Zastúpenie na Slovensku má tisovec dvojradový – 15 lokalít (Tabuľka 1) a tisovec vystúpavý – 3 lokality (Tabuľka 2).

Z hľadiska početnosti zastúpenia evidovaných stromov sa *Taxodium distichum* vyskytuje 35 stromov, rastúcich na jednotlivých lokalitách, z toho 3 štátom chránené stromy. Pritom 9 stromov sme na evidovaných lokalitách nepotvrdili.

Veľkosť genómu tisovca dvojradového je viac ako trojnásobne väčšia v porovnaní s genómom človeka, avšak obsah DNA (1C) patrí medzi jeden z najmenších v rámci ihličnatých druhov (Liu et al., 2011). Veľkosť jeho genómu je 9731 Mb. Je to diploidný druh s počtom chromozómov $2n = 2x = 22$. Genomickou analýzou sa zistilo, že 90 % genómu tisovca je tvorené opakujúcimi sa sekvenciami DNA (repetetívna DNA). Väčšina týchto sekvencií je zastúpená nízkymi a strednými počtami kópií v genóme.

Tabuľka 1 Taxačno-dendrometrické charakteristiky stromov *Taxodium distichum* (L.) L.C. Rich. (pestovanie na Slovensku: 1842 – 2016, maximum 174 rokov)

Table 1 Taxonomic-dendrometric characteristics of *Taxodium distichum* (L.) L.C. Rich. Trees (cultivated in Slovakia during years 1842–2016, 174 years maximum)

Lokalita	Obvod kmeňa, cm	Priemer kmeňa, cm	Výška stromu, m	Šírka koruny, m	Plodenie (+/-)	Vek
Arborétum Mlyňany SAV	253	80,6	32	12 × 12	+	98
Arborétum Mlyňany P45	232; 234	73,8; 74,6	27	8 × 8		120
Bratislava, BZ PFUK	234	74,6	20	12 × 12	+	94
	156	49,6	22	7 × 7	+	62
	90	28,7	16	5 × 5	+	36
	233; 243	74,3; 77,3	25; 27	10 × 6; 12 × 12	++	97
	208	66,2	24	8 × 6	+	83
	170	54,6	20	10 × 6	+	68
Janova Ves	308	98,4	27	12 × 10	+	122
	300	95,9	18	10 × 10	+	120
	183	58,3	12	10 × 10	+	120
Krupina, CVČ DOMČEK	407	130,0	22	18 × 15	+	162
Malacky, Mestský park	251	80,0	24	17 × 17	+	100
Nitra, BZ SPU	20	6,4	3	1 × 1	–	20
Tomášikovo	445	142,1	32	16 × 16	+	170
	382	122,0	32	14 × 14	+	170
	386	123,3	32	10 × 10	+	170
	425	135,7	32	12 × 12	+	170
	360	115,0	32	12 × 12	+	170
	345	110,2	32	12 × 12	+	170
	306	97,8	30	10 × 10	+	170
	415	132,5	34	14 × 14	+	170
	420	134,1	34	14 × 14	+	170
Topoľčianky, Park ŠL	450	143,7	25	17 × 17	+	170
	370	118,3	25	14 × 14	+	148
	274	87,3	27	16 × 16	+	148
	320	102,3	29	15 × 15	+	148
	315	100,7	25	12 × 12	–	148
Tovarníky, Park OcÚ	460	146,9	25	15 × 15	+	170

Pokračovanie tabuľky 1
Continuation of Table 1

Lokalita	Obvod kmeňa, cm	Priemer kmeňa, cm	Výška stromu, m	Šírka koruny, m	Plodenie (+/-)	Vek
Trenčianske Teplice	520	165,9	18	14 × 14	+	170
Bernolákovo, hist. park	289	89,7	24	10 × 10	+	145
	243	77,6	24	10 × 10	+	145
	282	90,1	22	8 × 8	+	145
	333	106,4	26	10 × 10	+	145
Rakovice, hist. park SOZŠ	312	99,7	25	11 × 11	+	120
	328	104,8	35	12 × 12	+	120
Želiezovce, Mestský park	394	125,8	23	18 × 17	+	158
	510	162,8	27	18 × 20	+	174

Tabuľka 2 Taxačno-dendrometrické charakteristiky stromov *Taxodium ascendens* (L.) L.C. Rich.
Table 2 Taxonomic-dendrometric characteristics of *Taxodium ascendens* (L.) L.C. Rich. trees.

Lokalita	Obvod kmeňa, cm	Priemer kmeňa, cm	Výška stromu, m	Šírka koruny, m	Plodenie (+/-)	Vek
Bratislava, BZ PFUK	17	5,5	5	2 × 2	–	20
Nitra, BZ SPU	10	3,5	2	1 × 1	–	20
Arborétum Mlyňany P-35	20	6,4	6	3 × 3	–	40

Štúdie prirodzenej genetickej variability umožňujú objasniť genetickú podstatu fenotypovej variability a historickú štruktúru populácie druhu (Ikezaki et al., 2016). Autori sledovali morfológické a ekologické rozdiely medzi *Taxodium distichum* var. *distichum* a *Taxodium distichum* var. *imbricarium* pomocou vysoko výkonnej DNA sekvenácie. Stupeň genetických rozdielov medzi týmito dvomi varietami bol nízky, ale štatisticky významný. Prítomnosť niektorých lokusov poukazovala na aplikáciu pozitívnej selekcie jedincov, čoho dôsledkom je rôzna adaptability druhu na miestne environmentálne podmienky. Z výsledkov vyplýva, že testované jedince *Taxodium distichum* var. *distichum* boli geneticky rozdelené na dve geografické skupiny. Odhadované demografické parametre poukazujú na to, *Taxodium distichum* var. *imbricarium* bol odčlenený od *Taxodium distichum* var. *distichum* počas obdobia miocénu.

Tisovec patrí medzi druhy, ktoré sa vyznačujú vysokou vysokými nárokmi na vlhkosť. Pre účely zalesňovania pobrežných a zamokrených oblastí na juhovýchode Číny, bolo vytvorených viacero vnútro druhových krížencov.

Druhy *Taxodium distichum* a *Taxodium ascendens* boli súčasťou výskumu v rámci reliktných druhov, z hľadiska charakterizácie evolúcie génov MYB, kódujúcich jednu z najväčších skupín transkripčných faktorov, ktoré sa podieľajú na obranných mechanizmoch rastlín (Lu et al., 2014).

Poznatky o genetickej variabilite drevín sú základom pre udržateľný lesný manažment (Popović et al., 2015). Aj napriek významnému ekologickému a ekonomickému potenciálu druhu *Taxodium*, sú

informácie ohľadne genómu týchto druhov nedostatočné, čo má vplyv na ďalší výskum a tvorbu molekulových markérov.

Významnosť a dôležitosť aplikácie molekulových markérov vo výskume drevín potvrdzuje aj práca autorov Tsumura et al. (1999). Dva taxóny druhu tisovca, *Taxodium distichum* var. *distichum* a *Taxodium distichum* var. *imbricarium* boli charakterizované pomocou CAPS markérov (Cleaved Amplified polymorphic Sequence, markéry dĺžkového polymorfizmu reštrikčne štiepenej zmnoženej DNA). Niektorí autori uvádzajú druh tisovec vystúpavý (*Taxodium ascendens* Brongn.) ako odlišný druh, zatiaľ čo iní ho uvádzajú ako varietu/ekotyp (*Taxodium distichum* var. *imbricarium* (Nutt.) Croom). V danej štúdii bola genetická variabilita spomínaných dvoch taxónov analyzovaná použitím 10 DNA markérov na báze sekvencií cDNA z klonov *Cryptomeria japonica*, ako príbuzného druhu tisovca. CAPS kodominantné markéry nenaznačili, že *Taxodium distichum* var. *imbricarium* je odlišný druh od *Taxodium distichum* var. *distichum*. Uvedení autori navrhujú pre tieto dva taxóny označenie ako varietu.

Jedným z najrozšírenejších typov molekulových markérov sú RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, polymorfizmus náhodne zmnoženej DNA). V prípade *Taxodium distichum* L. RICH. bolo na posúdenie genetickej variability 20 jedincov použitých 13 RAPD prajmerov. Na základe získaných hodnôt koeficienta podobnosti bola vytvorená zhluková analýza. Dvadsať jedincov bolo rozdelených do dvoch podzhlukov, poukazujúc na prítomnosť výraznej genetickej variability v rámci daného druhu (Popović et al. 2015). Snahou autorov Lu et al. (2013) bolo vytvorenie takej markérovacej techniky, ktorá by aj napriek nepostačujúcemu množstvu dostupných genomických údajov umožňovala charakterizovať 10 druhov siedmich rodov čeľade Taxodiaceae. Amplifikácia spoločných konzervovaných oblastí kódujúcich sekvencií označovaná ako ACGM (Amplified Consensus Genetic Marker) technika je aplikovateľná pre tvorbu markérov aj pri druhoch s obmedzenou dostupnosťou genomických údajov.

Ďalší typ markérov na báze exprimovaných sekvencií (EST, Expressed Sequence Tag) bol vytvorený na základe dostupných údajov sekvenácie transkriptómu genómu klonu tisovca 'Zhongshansa 406' (Chen et al., 2015). V genóme bolo analyzovaných 108 692 EST sekvencií s celkovou veľkosťou 69,3 Mb, v rámci ktorých sa identifikovalo 10 038 jednoduchých opakujúcich sa poradí nukleotidov (SSR, Simple Sequence Repeats). Priemerný výskyt SSR lokusov v transkriptóme bol jeden na 6,90 kb exprimovaných sekvencií. Najviac zastúpenou skupinou opakujúcich sa sekvencií tvorili jednonukleotidové sekvencie (65,56 %), následne trinukleotidové (22,37 %) a dinukleotidové (10,76 %). Pre vytvorenie SSR markérov boli vybraných 1958 EST-SSR lokusov a následne boli tieto SSR markéry overené návrhom 503 párov prajmerov. Viac ako 50 % z nich umožnilo amplifikáciu požadovaných produktov. Funkčná kategorizácia EST sekvencií potvrdila takmer 53 % homológiu so známymi bielkovinami. Skupina vytvorených EST-SSR markérov poskytuje hodnotný genetický a genomický nástroj pre ďalší genetický výskum druhu *Taxodium*.

Z uvedeného prehľadu je zrejmé, že problematika zaoberajúca sa molekulárnym výskumom týchto vzácných drevín siaha do obdobia ostatných piatich rokov. Práve vďaka súčasným moderným výskumným metódam, ku ktorým patrí aj sekvenácia genómu, a prístrojovej infraštruktúre, bude možné výrazne obohatiť bioinformačné databázy o dôležité informácie pre účely ochrany a manažmentu vzácných genetických zdrojov drevín.

Závery

Na základe poznatkov z nášho terénneho výskumu kultúrneho rozšírenia vybraných zriedkavo pestovaných cudzokrajných stromov, konštatujeme, že na Slovensku disponujeme vzácnym fytogenofondom cudzokrajných drevín, ktorý je potrebné chrániť, zveľaďovať a propagovať.

Literatúra

- Benčať, F. 1982. *Atlas rozšírenia cudzokrajných drevín a rajonizácia ich pestovania na Slovensku*. Bratislava: VEDA, vydavateľstvo SAV. 451 s. (mapy), 359 s.
- Hieke, K. 2008. *Encyklopedie jehličnatých stromů a keřů*. Computer Press a.s. 246 s. ISBN 978-80-251-1901-3.
- Holubčík, M. 1968. *Cudzokrajné dreviny v lesnom hospodárstve*. Bratislava : Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry, 371 s.
- Ikezaki, Y., Suyama, Y., Middleton, B. et al. 2016. Inferences of population structure and demographic history for *Taxodium distichum*, a coniferous tree in North America, based on amplicon sequencing analysis. *American Journal of Botany*, vol. 103, no. 11, p. 1937–1949.
- Lu, Y.-Q., Jia, Q., Tong, Z.-K. 2013. Development of amplified consensus genetic markers in Taxodiaceae based on *Cryptomeria japonica* ESTs data. *Journal of Forestry Research*, vol. 24, no. 3, p. 503–508.
- Lu, Y.-Q., Jia, Q., Tong, Z.-K. 2014. Cloning and sequence analysis of nine novel MYB genes in Taxodiaceae plants. *Journal of Forestry Research*, vol. 25, no. 4, p. 795–804.
- Mareček, F. et al. 2001. *Záhradnícky slovník naučný* 5. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací. 685 s. ISBN 80-7271-075-3.
- Murray, B.G. 1998. Nuclear DNA Amount in Gymnosperms. *Annals of Botany*, vol. 82, suppl. A, p. 3–15.
- Popović, V., Lučić, A., Ristić, D., Rakonjac, L., Hadrović, S., Drinić Mladenović, S. 2015. analysis of intra-population variability of bald cypress *Taxodium distichum* L. rich.) in seed stand near Backa Palanka using RAPD markers. *Genetika*, vol. 47, no. 2, p. 571–580.
- Tsumura, Y., Tomaru, N., Suyama, Y., Bacchus, S. 1999. Genetic diversity and differentiation of *Taxodium* in the south-eastern United States using cleaved amplified polymorphic sequences. *Heredity*, vol. 83, p. 229–238.
- Qi, B., Yang, Y., Yin, Y., Xu, M., Li, H. 2014. De novo sequencing, assembly, and analysis of the *Taxodium* 'Zhongshansa' roots and shoots transcriptome in response to short-term waterlogging. *BMC Plant Biology*, vol. 14, no. 201. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/14/201>.



COMPONENTS OF QUALITY OF PRODUCTS FOR SPECIAL MEDICAL PURPOSES

Motuzka Iuliia

Kyiv National University of Trade and Economics, Kyiv, Ukraine

СКЛАДОВІ ЯКОСТІ ПРОДУКТІВ ДЛЯ СПЕЦІАЛЬНИХ МЕДИЧНИХ ЦІЛЕЙ

Мотузка Юлія

Received 22. 6. 2017

Revised 25. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Products for special medical purposes are indispensable in the diet of the sick, wounded, and there are of the main factors of successful treatment and rehabilitation. This group of products has several advantages: high nutritional and biological value, physiological, easy delivery of nutrients in the human body, low level of complications and moderate cost. So, it is necessary to use of high-quality raw materials for their production, which must meet the requirements of this product group and the needs of consumers. The basic requirements for raw materials for the manufacture of products for special medical purposes are their safety, availability, confirmed clinical efficacy, high degree of purification, dispersion and solubility in water. The cost of raw materials in the production of this type of product is the main factor determining its cost and necessitates the development of the raw material base. It has been established that in the world practice of production of products for special medical purposes used to mainly vegetable and animal proteins (concentrates, isolates, hydrolyzates, peptides, and amino acids), omega-3, omega-6, omega-9 fatty acids of plant origin, glucose, fructose, herbal extracts and powders. In order to increase the biological value of food products, food fibers, vitamins and minerals are added. Necessary and urgent are the searching of domestic raw materials, which would meet the requirements for products of this group. It will stimulate the development of the production of domestic products for special medical purposes, taking into account the specific stages of treatment and restoration of the body of person, while ensuring the optimal ratio of "price-quality".

Keywords: product for special medical purposes; raw material; protein; glucose; herbal extract; production

Вступ

Упродовж останніх років все більш затребуваними стають продукти для спеціальних медичних цілей, зокрема ентеральне харчування. Дана група продуктів має ряд переваг: високу харчову і біологічну цінність, фізіологічність, простоту доставки в організм людини поживних речовин, низький рівень ускладнень і помірну вартість. Продукти є незамінними у харчуванні хворих, поранених, постраждалих, військовослужбовців та вважаються одним із основних чинників успішного лікування та реабілітації. Це обумовлює необхідність пошуку

*Corresponding author: Iuliia Motuzka, Kyiv National University of Trade and Economics, Kyiv, Ukraine,
✉ unmot@ukr.net

та використання високоякісної сировини для їх виробництва, що повинна відповідати вимогам до цієї групи продуктів та потребам споживачів.

Основними вимогами, що ставляться перед сировиною, що використовується для виробництва продуктів для спеціальних медичних цілей, є їх безпечність, доступність, підтверджена клінічна ефективність споживання, високий ступінь очищення, дисперсності та розчинності у воді (Akabaylar, 2012).

Також необхідно зазначити, що вартість сировини при виробництві цього виду продукції є основним фактором, що визначає її собівартість і обумовлює необхідність розвитку сировинної бази. Значний внесок у створення основ розробки продуктів для спеціальних медичних цілей зробили вчені А. В. Беляєв, А.Л. Костюченко, В.М. Луфт, І. Є. Хорошилов, Н. Akbaylar, R. Bankhead, K. Barendgret, I. Mayers, A.W. Wilkinson та ін.

Метою роботи є аналіз сировинної бази продуктів для спеціальних медичних цілей як складової їх якості та вирішення проблеми імпортозаміщення.

Матеріали та методи

В основу методологічної бази дослідження покладено методи наукового пізнання, системного підходу та узагальнення, наукові праці вітчизняних і зарубіжних вчених.

Результати та їх обговорення

У світовій практиці виробництва продуктів для спеціальних медичних цілей в якості основної сировини переважно використовуються: білки рослинного і тваринного походження (концентрати, ізоляти, гідролізати, пептиди, окремі амінокислоти), омега-3, омега-6, омега-9 жирні кислоти, глюкоза, фруктоза, цукрозамініки, рослинні екстракти й порошки. Для підвищення біологічної цінності до складу продуктів вносяться харчові волокна, вітаміни та мінеральні речовини (Bilsborough, 2006).

Основною сировиною, що використовується при виробництві продуктів для нутритивної підтримки організму людини, є вуглеводи. Серед них найбільш широкого використовується глюкоза. Оскільки глюкоза може розщеплюватися з виділенням енергії за відсутності кисню (гліколіз), вона засвоюється органами та тканинами для яких мітохондріальне дихання частково або повністю є недоступним. До таких належать тканини в місцях уражень, коли ліпіди не можуть бути джерелом енергії через порушення кровообігу. Таким чином глюкоза є єдиним енергетичним субстратом, що забезпечує живлення клітин і тканини для їхнього відновлення. Крім того, цей вуглевод підсилює окисно-відновні процеси, поліпшує антиоксидантну функцію печінки, стимулює скорочувальну здатність міокарду та запобігає надлишковим втратам води організмом. Фруктоза засвоюється організмом після перетворення у глюкозу, через що є відтермінованим джерелом енергії. Крім того, фруктоза не поглинається інсулін-залежними тканинами, стабілізує рівень цукру в крові, що обумовлює можливість її використання у продуктах для людей, які страждають на цукровий діабет. Дослідженнями ряду вчених доведено, що при застосуванні фруктози у продуктах для харчування пацієнтів у критичних станах спостерігається підвищення здатності клітин імунної системи до виділення субстратів, що пригнічують дію інфекційних агентів.

Обов'язковою умовою, що ставиться перед білковою складовою продуктів, є вміст усіх незамінних амінокислот. З метою забезпечення білкових потреб використовуються білкові концентрати (як тваринного, так і рослинного походження), ізоляти, пептиди, амінокислоти та їх суміші (Беляєв, 2009). Головною метою їх використання є забезпечення швидкого відновлення білкових втрат під дією глюконеогенезу та створення сприятливих умов для метаболічних процесів енергетичного та пластичного обміну організму. Необхідно зауважити, що головними критеріями вибору сировини для забезпечення білкової складової продуктів

є її біологічна цінність, висока розчинність, здатність стабілізувати дисперсні системи. Зважаючи на це, при виробництві продуктів для нутритивної підтримки хворих доцільним є застосування концентратів білків молочної сироватки, ізолятів соєвого білка (Kohler, 2012). Особливої уваги при характеристиці сировини, що використовується при виробництві продуктів для нутритивної підтримки, заслуговують амінокислоти. Цінність їх використання обумовлена спрощеним процесом засвоєння та можливістю збалансувати амінокислотний склад відповідно до специфіки потреб організму. Однак, не вирішеним на сьогодні залишається питання забезпечення сировиною вітчизняного виробництва та налагодження технології отримання гідролізатів білків, які краще засвоюються організмом.

Використання у складі продуктів для нутритивної підтримки омега-3 та омега-6 поліненасичених жирних кислот зумовлено необхідністю оптимізації ліпідного обміну. У сучасній практиці виробництва продуктів для спеціальних медичних цілей у основному використовуються омега-3 і омега-6 незамінні жирні кислоти рослинного походження, що обумовлено їх більш високими органолептичними властивостями порівняно з аналогічними тваринного походження (Хорошилов, 2009). Разом з тим, дані компоненти на ринку України лише імпортного виробництва, що значно впливає на ціну готового продукту.

Широко використовуються при виробництві харчових продуктів для спеціальних медичних цілей натуральні харчові волокна (Kohler, 2014), що обумовлено їх пребіотичними властивостями та здатністю сприятливо впливати на шлунково-кишковий тракт завдяки абсорбції жовчних кислот, холестерину, покращувати моторику шлунку.

Важливим фактором, що обумовлює біологічну цінність харчових продуктів, є їхня вітамінно-мінеральна цінність. Для задоволення метаболічних потреб цих споживачів у мікронутрієнтах у продукти спрямовано вносяться окремі штучно синтезовані вітаміни, вітамінно-мінеральні та мінеральні премікси, мінеральні солі високого ступеня очищення [Хорошилов, 2009]. Значна увага у цьому процесі приділяється мікронутрієнтам, що характеризуються антиоксидантними властивостями. Зокрема, найбільш часто при виробництві продуктів для нутритивної підтримки людей із соматичними захворюваннями та травмами використовуються вітаміни ретинол, аскорбінова кислота, кальциферол, токоферол, філохінон, тіамін, рибофлавін, ніацин, пантотенова кислота, піридоксин, ціанкобаламін; мінеральні солі, що призначені для забезпечення потреб у натрії, калії, кальції, магнії, ферумі, купрумі, цинку, мангані, хлорі, фосфорі, йоді.

Необхідно відмітити ще одну групу сировини для виробництва продуктів – екстракти та порошки з рослинної сировини. Найбільш широко використовуються екстракти шипшини, ромашки, шавлії, м'яти. Подібне збагачення продуктів пояснюється їх властивостями – протизапальними, загоювальними, тонізуючими, підвищеною антиоксидантною здатністю. Окрім цього у сучасній практиці виробництва спеціальних продуктів застосовується екстракт рослини *Tribulus Terrestris*, що містить переважно стероїдні сапоніни фураностанолового типу, серед яких переважає протодіосцин, який метаболізується в організмі людини до дегідроепіандростерона. Науково доведено, що ця речовина значно сприяє прискоренню м'язового росту, активізації білкового обміну, підвищенню рівня проникності клітинних мембран й імунітету; покращенню метаболізму холестерину.

Висновки

Отже, сировинні компоненти є основним фактором, що обумовлює безпечність та якість продуктів для спеціальних медичних цілей і забезпечення потреб споживачів. Однак, слід зазначити, що більшість інгредієнтів є імпортного походження, що унеможливорює створення дієвої альтернативи продукції іноземного виробництва. Беручи до уваги те, що розвиток виробництва вітчизняних продуктів для спеціальних медичних цілей є важливою соціальною проблемою, до її розв'язання важливим є привернення уваги представників державних

органів влади, медичних закладів, наукових установ, громадських організацій, бізнес-структур. Необхідним і нагальним є пошук вітчизняної сировини, яка б відповідала вимогам до продуктів даної групи. Для цього доцільним є залучення потенціалу профільних установ та організацій для отримання необхідних сировинних компонентів, забезпечення науково-дослідної, практичних складових тощо. Це сприятиме стимулюванню налагодження виробництва вітчизняних продуктів для спеціальних медичних цілей з урахуванням специфіки етапів лікування та відновлення організму, при забезпеченні оптимального співвідношення “ціна-якість”.

Література

Akbaylar, H. 2012. Basic principles of enteral feeding. *Turk Gastroenterology*, vol. 13, no. 4, p. 186–191. DOI: 10.3118/43.

AKE Recommendation: Enteral and Parenteral Support in Adults. 2000. Germany, 92 p.

Bilsborough, S. 2006 A review of issues of dietary protein intake in human. *Int J. Sport Nutr Exerc Metab*, vol 16, no. 2, p. 129–152. DOI: 10.1278/43

Enteral formula selection: a review of selected product categories. 2011. Available at: http://www.oley.org/documents/Enteral_Formula_Selection.pdf

Food and Nutrition Communication. 2006. Available at: http://www.nestle.com/asset-library/Documents/Library/Documents/Nutrition_Health_Wellness/Food-and-Nutrition-Apr2006.pdf

Kohler, M. 2014. Clinical nutrition. Product Segments. Available at: Way of access http://www.fresenius.de/documents/04_CMD_2012_Clinical_Nutrition.pdf (accessed: 5. 1. 2014).

Беляев, О. В. 2009. *Парентеральное и энтеральное питание в интенсивной терапии*. К.: КИМ. 344 с. ISBN 873-3-440-67554-1.

Клінічний досвід. харчування хірургічних хворих. 2010. Available at: <http://www.dovidnyk.org/articles/24/49.html>

Протокол нутритивной поддержки критических состояний. 2014. Available at: <http://www.kuzbassanest.h15.ru/nutri.html>

Хорошилов, И.Е. 2009. *Клиническая нутрициология*. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 284 с. ISBN 954-7-520-68569-3.



THE MORPHOLOGY OF POLLEN GRAINS OF THE SOME SPECIES OF ROSACEAE JUSS. FAMILY

Motyleva Svetlana¹, Brindza Jan², Kulikov Ivan¹

¹Federal state budgetary scientific institution "All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery" (ARHIBAN), Moscow, Russia

²Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Features of pollen grains, sculpture 2 species Rosaceae Juss. (*Malus domestica* Borkh and *Pyrus communis* L.) has been studied in detail using scanning electron microscopy method. The pollen material is picked up in Slovak Republic, was used in the study. Shape of the pollen grains is oblong-ellipsoidal. In terms of poles, the grain is round. The pollen grains *Malus domestica* and *Pyrus communis* has – 3 colossus, the hole is long. A complex type of exine is characteristic of the studied species of Rosaceae. The average size of the poles axis of pollen grains is *Malus domestica* trees is in the range of 27.91–36.62 µm, the equatorial diameter is in the range of 13.28–17.17 µm. The average size of the pole axis of pollen poles of *Pyrus communis* trees is 38.83–56.83 µm, the equatorial diameter is 20.26–29.92 µm. The ratio of the pole axis to the equatorial (P/E) is the degree of elongation of the pollen grains (roundness). The pollen of *Malus domestica* breeds is more elongate compared with the pollen of *Pyrus communis*. Pollen of *Malus domestica* rocks are more elongated compared with the pollen of *Pyrus communis* (P/E is 14% more). The traits analysed could be useful for plant breeders or for gene bank curators at the first steps of identification of cultivars, since the analysis is simpler and less expensive than other methods.

Keywords: *Malus domestica* Borkh.; *Pyrus communis* L.; pollen morphology; scanning electron microscopy

Introduction

Many of the species of *Malus domestica* Borkh. and *Pyrus communis* L. are complex hybrids, and among the forms of wild plants, there are many interspecific hybrids, complicating classification. That's why the ability to identify morphological features of pollen grains of Apple and pear, using not only external features, but also microstructures with the use of modern equipment is of great interest.

Analysis of morphology and ultrastructure of pollen grain by electron microscopy (transmission and scanning) may be useful for distinguishing species and cultivars (Shivana, 2003). Pollen ultrastructure has been used to distinguish cultivars of apple (Currie et al., 1997; Martens and Fretz, 1980; Marcucci et al., 1984), pear (Westwood and Challice, 1978). The complex of morphological characteristics allows to determine the differences (or similarities) between close species or breeds, morphological heterogeneity, especially the variability of their sizes due to hybridization, polymorphism (Куприянова и Алешина, 1978; Palinological Database; Tzarenko, 2012).

*Corresponding author: Svetlana Motyleva, Federal state budgetary scientific institution "All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery" (ARHIBAN), Moscow, Russia, ✉ motyleva_svetlana@mail.ru

Thus, the study of the morphology of pollen grains – the size, shape, structure of exine, the number of holes and locations, in our opinion, is quite relevant. Comparative electron microscopic studies of the pollen of *Malus domestica* and *Pyrus communis* grown in Slovakia was not carried out earlier; this determined the aim of our study.

Materials and methodology

For the evaluation we removed the pollen from the apple trees – cultivar Júlia and from the pear trees – cultivar Conference grown in the demonstration garden of the Slovak University of Agriculture in Nitra.

Pollen was taken mechanically from the flowers in full flowering. Microstructures are taken on the scanning electronic microscope Carl Zeiss LS 15 in the Institute of Biodiversity and Biological Safety of Slovak Agricultural University in Nitra by PhD of Agriculture S.M. Motyleva. To collect pollen samples, branches with flower buds in the “balloon” stage were collected and transported to the laboratory, where anthers were isolated from the flower buds, placed in petri dishes (Ø 7 cm) and dried at room temperature (24 h) until anther dehiscence. Pollen was collected in small vials and stored at 3–5 °C in a desiccator containing silica-gel. Preliminary dried pollen was put on the special carbonic scotch placed on the object table of the scanning electronic microscope with a thin metal spreading rod. The comparative morphological studying of the pollen grains was performed according to the working rules on the Carl Zeiss LS 15 : 500 times – during the measurements; 1,000–10,000 times – while taking the pictures of the exine sculpture features. The measurements of the pollen grains linear dimensions were performed via 100–200 times repeatability in not less than 10 microscope fields with the average value calculation. All the mentioned in the text dimensions are given in μm . The data were analyzed using statistical software.

Results and discussion

The pollen grains morphometric values are given in Table 1.

Table 1 The morphological characteristic of family Rosaceae Juss. representatives pollen grains

Measurements	<i>n</i>	Min	Max	<i>x</i>	V, %
<i>Pyrus communis</i> L.					
<i>P</i> , μm ,	250	38.83	56.83	47.83	8.86
<i>E</i> , μm	250	20.26	29.92	25.09	8.04
<i>P/E</i>	250	1.91	1.89	1.9	–
<i>Malus domestica</i> Borkh.					
<i>P</i> , μm	200	27.91	36.62	36.22	6.83
<i>E</i> , μm	200	13.28	17.01	15.15	5.62
<i>P/E</i>	200	2.1	2.15	2.12	

P – length of polar axis; *E* – the length of the Equatorial axis; (*P/E*) – form index; *n* – number of measurements; min – minimum measured value; max – maximum measured value; *x* – arithmetic average; V, % – variation coefficient

The average size of the pole axis for the *Malus domestica* studied breeds pollen grains is within 27.1–36.22 μm ; the equatorial diameter is within 13.28–17.01 μm . The average size of the pole axis for the *Pyrus communis* studied breeds pollen grains is within 36.49–39.78 μm ; the equatorial diameter is within 14.35–19.31 μm . The equatorial length of the pollen grains was generally much greater than the polar length. The ratio of the pole axis to the equatorial one (P/E) marks the degree of the pollen grains elongation (roundness). The pollen of *Malus domestica* breeds is more elongate compared with the pollen of *Pyrus communis*. Pollen of *Malus domestica* rocks are more elongated compared with the pollen of *Pyrus communis* (P/E is 14% more).

Pascoe (2007) reported that *Malus domestica* is a non-operculate, trizonocolporate pollen grain that is narrowly elliptic to rhombic-obtuse. Sculpturing can be finely regulating to somewhat striate. Colpus is deep but terminating at the poles but widening slightly at this point also. Our results support this finding.

The pollen grains form is oblong-ellipsoid, cultivars examined were elliptical and trizonocolporate with subdivision of the surface area into three equal parts (Figure 1A, B). The exine pattern is tender-undulate, fine-mesh, the picture has the breed features. The poles of the grain are round. A significant presence of pits on exine was seen. Axine is complicated. The obtained pictures clearly show that the pollen grains of the represented species of the family Rosaceae are 3 colporate.

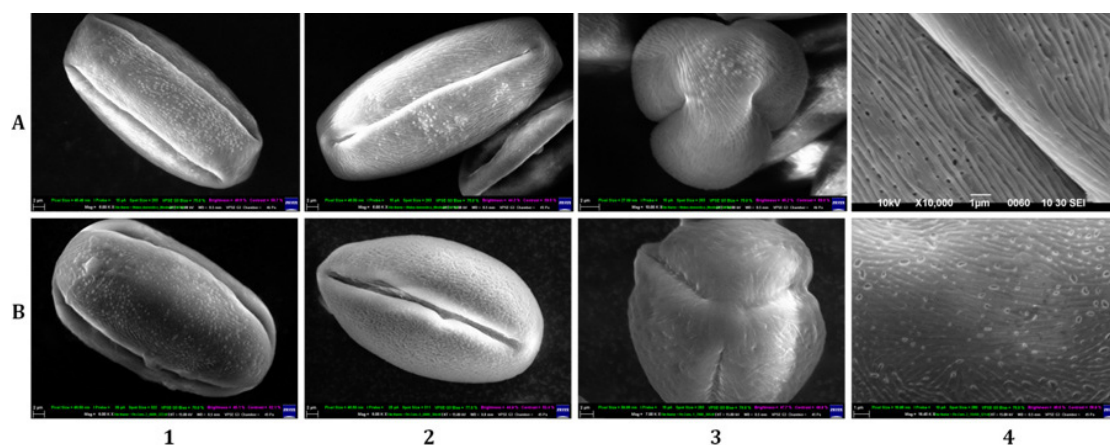


Figure 1 Scanning electron micrographs (SEM) images of pollen grains
A – *Malus domestica* Borkh., B – *Pyrus communis* L.; 1,2 – equatorial view; 3 – polar view; 4 – surface view of grain.

The number of the misshapen pollen grains is up to 15–25%. This fact, in some ways, can be connected with the greenness of some pollen.

Conclusions

The studying of the *Malus domestica* and *Pyrus communis* pollen via scanning electronic microscopy allowed to separate the most important parameters which can be used to identify the representatives of the family Rosaceae. They are the form (the pollen grains elongation, the length and the width ratio and the surface picture (microsculpture). The pollen is tricolpate. The traits analyses could be useful for plant breeders or for gene bank curators at the first steps of identification of cultivars, since the analysis is simpler and less expensive than other methods.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers in international network AgroBioNet, as a part of international program “Agricultural biodiversity to improve nutrition, health and quality of life” (TRIVE ITMS26110230085) within the project AgroBioTech ITMS 26220220180. Co-author Svetlana Motyleva (№ 51700373) is grateful to the Agency Visegrad Fund for providing a scholarship for the research internship, during which she received the results and knowledge presented in this paper.

References

- Currie, A.J., Noiton, D.A., Lawes, G.S., Bailey, D. 1997. Preliminary results of differentiating apple sports by pollen ultrastructure. *Euphytica*, vol. 98, no. 3, p. 155–161. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1003174529263>
- Marcucci, M.C., Sansavini, S., Ciampolini, F., Cresti, M. 1984. Distinguishing apple clones and cultivars by surface morphology and pollen physiology. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, vol. 109, p. 10–19.
- Martens, J., Fretz, T.A. 1980. Identification of eight crabapples by pollen surface sculpture. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, vol. 105, p. 257–263.
- PalDat – Palinological Database. <http://www.paldat.org/>
- Pascoe, M.S. 2007. *SEM: pollen images of selected british flora: towards development of a national database*. 258 p.
- Shivana, K.R. 2003. *Pollen Biology and Biotechnology* (Enfield, NH, USA: Science Publishers, Inc.).
- Tzarenko, L.V. 2012. The pollen analysis in the plants selection. In: Scientific magazine KubGAU, vol. 77, no. 3, p. 1–11. <http://ej.kubagro.ru/2012/03/pdf/09.pdf>
- Westwood, M.N., Challice, J.S. 1978. Morphology and surface topography of pollen and anthers of *Pyrus* species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 103, p. 28–37.
- Куприянова, Л.А., Алешина, Л.А. 1978. *Пыльца двудольных растений флоры Европейской части СССР*. Laminaceae – Zygophyllaceae. Л.: Наука, с.111.



THE PECULIARITIES OF *ACTINIDIA* SPECIES LEAVES MICROMORPHOLOGY

Motyleva Svetlana*, Kozak Nataliya, Kulikov Ivan, Medvedev Sergei, Imamkulova Zulfira

Federal state budgetary scientific institution "All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery" (ARHIBAN), Moscow, Russia

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The peculiarities of micromorphology of 4 species and 9 breeds of actinidia leaves from the collector plantations of FSBSI ARHIBAN are visualized via scanning electronic microscopy method. The comparative analysis of micro-sculptural and quantitative morphological characteristics was performed. Species and cultivars differences of *Actinidia* Lindley leaves are determined. The cells of actinidia adaxial side of leaves have similar irregular polyangular, lengthened, rarely oval form. *Actinidia arguta* (Siebold ex Zucc.) Planch. ex Miq. and *Actinidia polygama* (Siebold ex Zucc.) Maxim. have flexuous, irregular polyangular, rarely oval one. *Actinidia purpurea* Rehd. representatives have the cells of greatly polyangular and slightly flexuous form. *Actinidia kolomikta* (Maxim. ex Rupr.) Maxim. cells are greatly flexuous, in the space between the ribs on the both leaf sides flat trichomes are determined which consist of 2–3 members. The perimeter and the ratio of leaves length to their width of *Actinidia kolomikta* leaf abaxial side is close to the adaxial side ones. To determine the perimeter of *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea* and *Actinidia polygama* abaxial side cells is difficult due to the solid waxy layer. The minimum stomatal length is characteristic for *Actinidia polygama* (9.73 μm), the maximal one is at *Actinidia arguta* and *Actinidia purpurea* (15.54 and 16.11 μm respectively). All 4 actinidia species possess short trichomes along the primary rib. For *Actinidia kolomikta* in comparison with the rest species more lengthened cells form of the leaf adaxial side ($l/h = 1.96$) is characteristic. In majority cases the substantial differences in the stomatal number between male and female forms are not found.

Keywords: *Actinidia*; genetic collection; specie; breed; leaf; scanning electronic microscopy

Introduction

Actinidia is a perennial deciduous twining fruit liana. Mature fragrant fruit have a pleasant sour-sweet taste and fine texture. *Actinidia* fruit are full of a great number of biologically active substances including vitamin C (Мотылева и др., 2014). In ARHIBAN in the village Mikhnevo, Moscovskaya region, the organized collection of rare actinidia fruit lianas (*Actinidia* Lindley) consists of 167 samples of 3 species, which grow in the Far East of Russia: *Actinidia kolomikta* (Maxim. ex Rupr.) Maxim., *Actinidia arguta* (Siebold ex Zucc.) Planch. ex Miq., *Actinidia polygama* (Siebold ex Zucc.) Maxim. and 5 samples of introduced from China *Actinidia purpurea* Rehd., together with 20 hybrid forms of this specie together with *Actinidia arguta* (Козак и Колбасина, 2014; Козак, 2015).

*Corresponding author: Svetlana Motyleva, Federal state budgetary scientific institution "All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery" (ARHIBAN), Moscow, Russia, ✉ motyleva_svetlana@mail.ru

The purpose of the present researches is the comparative evaluation of qualitative and quantitative morphometric characteristics of actinidia collection samples leaves.

Materials and methodology

The experimental researches are performed in the laboratory of FSBSI ARHIBAN Plants genofond and bioresources center, (Mikhnevo, Moscovskaya region). The actinidia samples from genetic collection were studied (Kozak, 2015). The researches were performed within 2013–2015.

The research objects were actinidia 4 species leaves: *Actinidia kolomikta* (the breeds of pistillate (female) type Prelestnaya, Prazdnichnaya, Nadezhda, Sestra, Priusadebnaya and the pollinating (male) variety Sakhar-Medovich), *Actinidia arguta* (the breeds of pistillate type – Zolotaya kosa, Doch' Zei and the pollinating variety Syn Zei); *Actinidia polygama* (the breeds of pistillate type – Zlata, Lesnaya, Perchik, Solntselikaya and the pollinating varieties Aurel, Blondin, Brunet); *Actinidia purpurea* (the pollinating variety Konsul and the pistillate type SPS-2). The samples preparations for the research were performed using the methods described in the works (Барыкина и др., 2004; Бисерова, 2013). The pieces of the lamina middle third located in the center between the leaf edge and the primary rib (to the left or to the right of the rib) were studied. The following morphological characteristics were examined: the epidermis cells form; the waxy layer character; the folding of the leaf adaxial side; the folds on the leaf abaxial side; the presence (absence) of the trichomes; the cells perimeter of the leaf adaxial side (it was measured along the outline with 300–600 zooming); the ratio of the leaf adaxial and abaxial sides cells length to their width (it was calculated after the corresponding parameters measurements); the number of stomatos on 1 mm² (it was counted in microscope vision on 300× or 500× zooming); the stomatos length (it was determined according to the measurements). The measurements were repeated 100 times (not less than on 10 microscope fields, on the cuttings from not less than 10 leaves) with the average value calculation. The statistic processing was performed via Microsoft Excel.

The comparative-morphological studying of epidermis cells of the leaf adaxial and abaxial sides and the stomatal mechanism was performed according to the working rules on the scanning electron microscope JSM 600 LA by JEOL company (Japan) on conditions of the low vacuum ($P = 40\text{--}60$ Pa) on 150–700 and 2,000 zooming for the leaf adaxial side and 150–800 and 2,500 one for the leaf abaxial side.

Results and discussion

The figure, the leaf epidermis microsculpture, the cells form, the trichomes, strands and foldings presence, the stomatos location have specific and characteristic features for each plant species and breed and are the diagnostic features which can help to solve a lot of questions of systematics, ecology, physiology, and plants identity (Васильев и др., 1978; Паутов и др., 2002). The cells of actinidia leaves adaxial side have similar irregular polyangular, lengthened, rarely oval form. *Actinidia arguta* and *Actinidia polygama* have flexuous, irregular polyangular, rarely oval one. *Actinidia purpurea* representatives have the cells of greatly polyangular and slightly flexuous form. *Actinidia kolomikta* cells are greatly flexuous, in the space between the ribs on the both leaf sides flat trichomes are determined which consist of 2–3 members. All 4 actinidia species possess short trichomes along the primary rib. The waxy layer is solid and smooth (Figure 1). The quantitative morphometric features are given in Table 1.

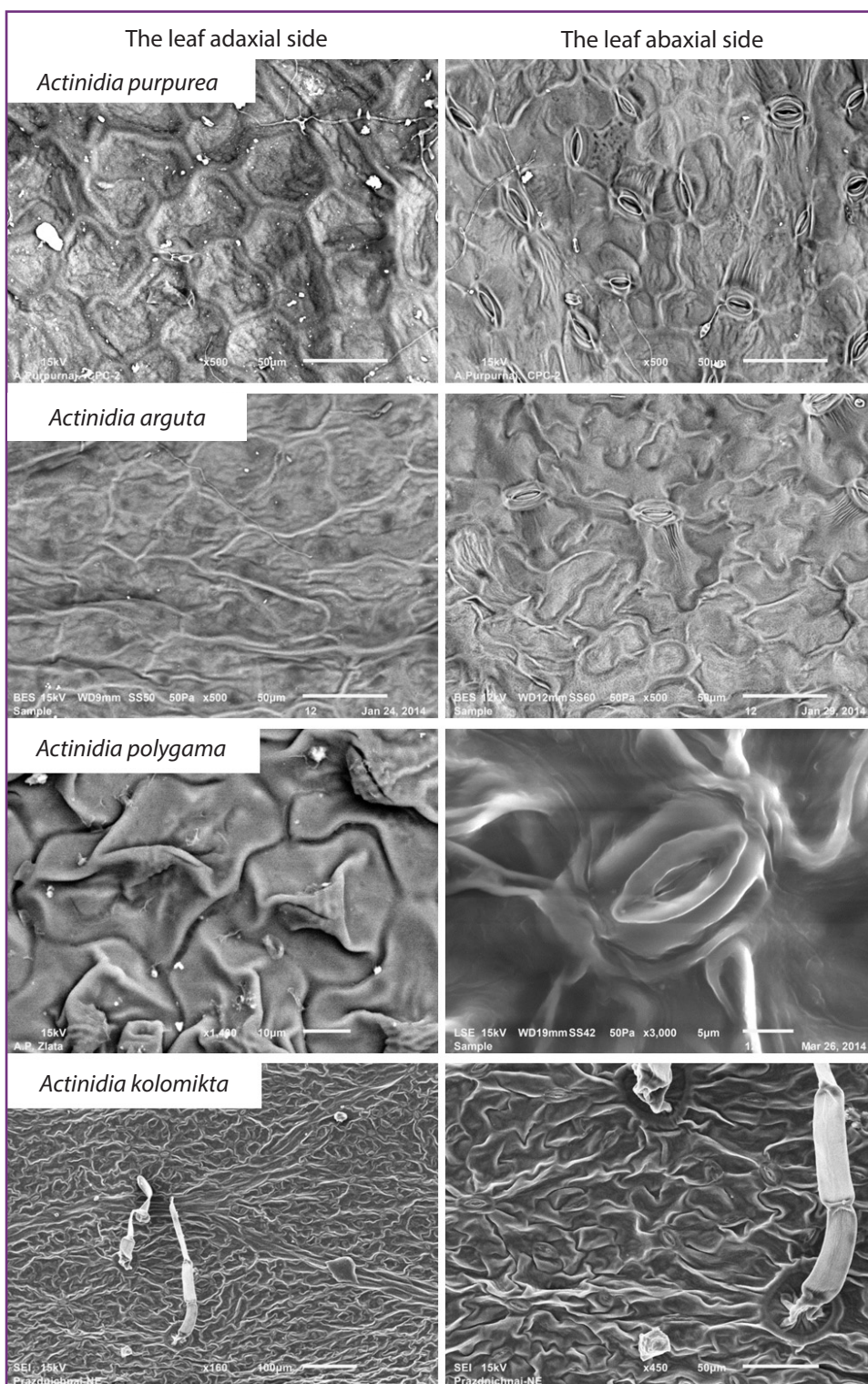


Figure 1 The morphological peculiarities of actinidia leaves surface

Table 1 The breeds morphometric features of different *Actinidia* spp., $\bar{x}$ (2013–2015)

Species, cultivars	Leaf adaxial side			Leaf abaxial side		
	cells perimeter, μm	cells l/h	cells perimeter, μm	cells l/h	Stomatos L, μm	stomatal number, pcs/mm^2
<i>Actinidia kolomikta</i>						
Nadezhda ♀	100.87 ± 9.12	2.09 ± 0.87	61.75 ± 5.12	2.16 ± 1.84	12.84 ± 2.89	296.42 ± 1.8
Prelestnaya ♀	117.94 ± 22.17	2.01 ± 0.75	114.12 ± 6.71	1.98 ± 2.01	13.96 ± 4.21	141.87 ± 4.1
Prazdnichnaya ♀	138.77 ± 14.13	1.60 ± 0.54	121.56 ± 14.8	1.72 ± 1.95	10.71 ± 3.47	273.36 ± 3.2
Priusadebnaya ♀	160.69 ± 12.11	1.81 ± 0.48	225.08 ± 6.24	2.04 ± 1.34	16.96 ± 1.84	346.02 ± 3.4
Pamiati Kolbasinoi ♀	190.45 ± 13.11	2.06 ± 0.81	136.52 ± 7.02	1.78 ± 2.14	18.68 ± 0.52	166.95 ± 3.4
Sestra ♀	112.88 ± 10.24	2.05 ± 0.45	97.43 ± 6.14	2.27 ± 2.01	12.07 ± 2.11	295.8 ± 2.2
Sakhar Medovich ♂	139.42 ± 14.35	2.12 ± 0.77	179.3 ± 4.32	1.45 ± 2.23	13.11 ± 2.45	415.02 ± 2.1
$\bar{x}$	137.28	1.96	133.68	1.59	14.05	276.48
<i>Actinidia polygama</i>						
Zlata ♀	151.1 ± 12.31	2.08 ± 1.0	*	*	11.58 ± 3.11	307.61 ± 3.1
Lesnaya ♀	148.5 ± 11.21	1.46 ± 0.54	115.1 ± 4.11	2.23 ± 0.4	9.92 ± 3.14	242.24 ± 1.2
Perchik ♀	137.7 ± 13.21	0.67 ± 0.98	*	*	9.63 ± 4.11	259.18 ± 2.0
Solntselikaya ♀	121.8 ± 8.98	1.98 ± 1.11	*	*	8.69 ± 1.7	242.21 ± 1.8
Aurel ♂	97.5 ± 10.20	1.39 ± 0.87	*	*	11.79 ± 4.05	268.81 ± 3.1
Blondin ♂	88.8 ± 9.18	0.60 ± 0.78	*	*	8.11 ± 2.1	224.91 ± 2.4
Brunet ♂	138.45 ± 10.12	2.13 ± 2.04	*	*	8.41 ± 2.11	466.95 ± 3.4
$\bar{x}$	126.26	1.47	*	*	9.73	287.84
<i>Actinidia arguta</i>						
Doch' Zei ♀	162.70 ± 9.18	2.45 ± 0.64	*	*	13.78 ± 5.8	237.89 ± 1.7
Zolotaya Kosa ♀	139.14 ± 8.54	1.38 ± 0.51	*	*	16.21 ± 2.84	222.03 ± 6.0
Syn Zei ♂	130.93 ± 8.15	1.51 ± 0.54	*	*	16.63 ± 3.11	131.92 ± 8.1
$\bar{x}$	144.23	1.78	*	*	15.54	197.28
<i>Actinidia purpurea</i>						
SPS-2 ♀	171.94	1.77	115.98	1.54	16.64 ± 2.12	276.82 ± 1.4
Konsul ♂	142.47	1.68	115.23	1.47	15.58 ± 1.87	276.82 ± 1.2
$\bar{x}$	157.21	1.73	115.61	1.51	16.11	276.82

* to determine the perimeter abaxial side cells is difficult due to the solid waxy layer

The largest medium perimeter is characteristic for *Actinidia purpurea* and *Actinidia arguta* (157.12 and 144.3 μm). The ratio of the cells length to their width at *Actinidia kolomikta*, *Actinidia arguta*,

Actinidia purpurea and *Actinidia polygama* is 1.96; 1.78; 1.73 and 1.47 correspondingly. The perimeter and the ratio of the leaves length to their width of *Actinidia kolomikta* leaf abaxial side is close to the adaxial side ones.

To determine the perimeter of *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea* and *Actinidia polygama* abaxial side cells is difficult due to the solid waxy layer. The minimum stomatal number on 1 mm² is characteristic for *Actinidia arguta* (197.3 pcs/mm²). For the rest species the stomatal number is within 276.5–287.8 (pcs/mm²). The minimum stomatal length is characteristic for *Actinidia polygama* (9.73 µm), the maximal one is at *Actinidia arguta* and *Actinidia purpurea*.

Conclusions

In *Actinidia kolomikta*, *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea* and *Actinidia polygama* cultivars, the cells of the adaxial side of the leaf have a similarly irregularly shape: polygonal, elongated, less often oval. Short trichomes were found on both sides of the leaf along the central vein. For *Actinidia kolomikta* in comparison with the rest species more lengthened cells form of the leaf adaxial side ($l/h = 1.96$) is characteristic. In majority cases the substantial differences in the stomatal number between male and female forms are not found. The stomata are located on the adaxial side of the leaf. They differ in size: the varieties of species *Actinidia arguta* and *Actinidia purpurea* – the largest – 13.8–16.6 µm, from *Actinidia polygama* stomata minimum length – 9.73 µm. The minimum stomatal length is characteristic for *Actinidia polygama* (9.73 µm), the maximal one is at *Actinidia arguta* and *Actinidia purpurea*.

References

- Барыкина, Р.П. и др. 2004. *Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы*. М.: Изд-во МГУ. 312 с.
- Бисерова, Н.М. 2013. *Методы визуализации биологических ультраструктур*. М.: Изд-во МГУ. 62 с.
- Васильев, А. Е., Воронин, И.С., Еленевский, А.Г., Серебрякова, Т.И. 1978. *Ботаника. Анатомия и морфология растений*. М.: Просвещение. 480 с.
- Козак, Н.В. 2015. *Генетическая коллекция актинидии. Генетические коллекции плодовых, ягодных, редких и цветочно-декоративных культур ФГБНУ ВСТИСП (дескриптор)*. М.: ФГБНУ ВСТИСП, с.41-48.
- Козак, Н.В., Колбасина, Э.И. 2014. О ценных коллекционных образцах актинидии аргута. *Садоводство и виноградарство*, № 3, с. 6–11.
- Мотылева, С.М., Мертвищева, М.Е., Козак, Н.В. 2014. О морфолого-биохимических особенностях сортов актинидии коломикта *Actinidia kolomikta* (Maxim. ex Rupr.). *Материалы V научной конференции «Генетика, физиология и селекция растений»*. Молдова, Кишинев, с. 281–285.
- Паутов, А.А., Яковлева, О.В., Колодяжный, С.Ф. 2002. Микрорельеф поверхности листьев у *Populus* (Salicaceae). *Ботанический журнал*, № 1, с. 67–71.



DEVELOPMENT OF ANALYTICAL PROCEDURE OF DETERMINATION OF SUM OF FLAVONOIDS IN HAZELNUT (*CORYLUS AVELLANA* L.) POLLEN

Nikolaieva Nataliia^{1*}, Nôžková Janka¹, Hudz Nataliia², Grygorieva Olga³, Brindza Jan¹

¹Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

²Faculty of Pharmacy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

³M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Pollen contains components necessary for growth and development of a new organism. Polyphenolic compounds are one of them. Pollen phenolic compounds are presented with flavonoids which have different structures and biological functions. Analytical procedure of spectrophotometric method was developed to determine the total flavonoids content in hazelnut (*Corylus avellana* L.) pollen and its methanol extracts. 0.9 ml 50% ethanol was added to 0.1 ml each extract to form volume of 1.0 ml, and then 1.0 mL of 2% solution of aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was added. The mixture of extract was left for 70–90 minutes. As blank was a mixture which consisted of the same volumes of an extract and 50% ethanol. 1 ml of 2% solution of aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted with the same volume of 50% ethanol. The curve of quercetin dihydrate was plotted in the range of its concentrations of 5.9 to 29.5 mg/L. 1 ml of the obtained solutions of quercetin dihydrate was mixed with 1.0 ml of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol. The amount of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted by the same volume of 50% ethanol in the blank for each solution of quercetin dihydrate. The curve of rutin trihydrate was plotted in the range of its concentrations of 20.12 to 100.6 mg/L. 1 ml of the obtained solutions was mixed with 1.0 ml of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol. The amount of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted by the same volume of 50% ethanol in the blank for each solution of rutin trihydrate. The absorbance of tested extracts and solutions of rutin was determined at 410 nm, solutions of quercetin was determines at 425 nm. The total flavonoid content in the tested pollen extracts was determined in the range of 133.41 to 274.23 mg of flavonoids in 1 L of an extract in reference to quercetin and 418.75 to 839.32 mg of flavonoids in 1 L of an extract in reference to rutin which means 3.34–6.86 mg and 10.47–20.98 mg per 1 g pollen in reference to quercetin and rutin, respectively.

Keywords: hazelnut; pollen; phenolic compounds; flavonoids; rutin; quercetin

Introduction

The chemical composition of pollen has gained worldwide research interest in the field of plant physiology and biochemistry, development of herbal food and pharmaceutical products, products on the base of beekeeper products, including dietary supplements, etc. (Leja et al., 2007; Schulte et al., 2008; Brindza and Brovaskyi, 2013; Nikolaieva et al., 2014). Pollen is rich in chemical composition because it contains components necessary for the growth and development of a new

*Corresponding author: Nataliia Nikolaieva, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic, ✉ n.nikolaieva703@gmail.com

organism: proteins, lipids, carbohydrates, nucleic acids, vitamins, minerals, hormones, carotenoids, phenolic substances, etc. (Shahidi et al., 2007; Schulte et al., 2008; Aličić et al., 2014; Fatrcová-Šramková et al., 2016).

Polyphenolic compounds (mainly phenolic acids and flavonoids) are known to be present in a variety of plant tissues, including pollen. Phenolic acids and flavonoids possess antioxidant features, neutralize active oxygen species and scavenge free radicals due to their specific chemical structure and are associated with a reduced risk of various chronic diseases related with oxidation stress. Among such diseases are cardiovascular diseases, atherosclerosis, cancer, diabetes, cataracts, cognitive dysfunction and age-related function of decline, etc (Troszynska et al., 2007; Leja et al., 2007; Han et al., 2012; Fatrcová-Šramková et al., 2016). A lot of researchers indicate that antioxidant ability of pollen seems to be due to phenolic compounds. The polyphenolic content of pollen can include derivatives of phenolic acids and flavonoids that are species specific (2–5% w/w) (Campos et al., 2008). In floral pollen phenolic compounds are mostly presented with flavonoids, their glycosides and derivatives of cinnamic acid (Leja et al., 2007). The main constituents of flavonoids are kaempferol, quercetin, luteolin and their derivatives. Specific flavonoids were identified in pollen. Among them is aglycon triacin in the Myrtaceae family (Leja et al., 2007; Negri et al., 2011). Flavonoids are pigments responsible for the flowers coloration and each type of pollen has its own specific system of flavonoids (Aličić et al., 2014). Flavonoids have different structural features and show several biological activities, in particular, they take part in light harvesting, photo protection and antioxidation of plants. Flavonoids and carotenoids are also considered as exogenous natural antioxidants for animals and people through consumption of grains, vegetables, fruits and other plants parts (Šarić et al., 2009; Han et al., 2012; Aličić et al., 2014; Fatrcová-Šramková et al., 2016).

Hazelnut (*Corylus avellana* L.) is considered as source for obtaining food, cosmetics and pharmaceutical products (Yurttas et al., 2000; Masullo et al., 2016; Blyznyuk et al., 2016). Hazelnut is a good source of tocopherols and nontocopherol phenolics. Among polyphenols in hazelnut were identified gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, epicatechin and/or caffeic acid, sinapic acid, and quercetin (Yurttas et al., 2000). Five phenolic acids (p-coumaric acid, caffeic acid, gallic acid, ferulic acid, and sinapic acid) were tentatively identified and quantified by Alasalvar et al. (2006) in hazelnut kernel and hazelnut green leafy cover water extracts with content of ethanol 80% (v/v) and acetone 80%. Ghirardello et al. (2010) identified eight phenolic acids in hazelnut kernels: derivatives of benzoic acid (gallic, protocatechuic, 4-hydroxybenzoic, vanillic and syringic acids) and derivatives of cinnamic acid (p-coumaric, o-coumaric and sinapic acids). Hazelnut kernels contain unsaturated acids. Among non-consumed parts of this plant are leaves, bark, flowers, pollen, hard shell, green leafy cover. 12 compounds were identified in male flowers of hazel. Among them were quercetin 3-O-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-b-D-glucopyranoside, kaempferol 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside, quercetin 3-O-β-D-lucopyranoside, quercetin 3-O-α-L-rhamnopyranoside, giffonin I, kaempferol 3-O-α-L-rhamnopyranoside, kaempferol 3-O-(4"-cis-p-coumaroyl)-a-L-rhamnopyranoside, alnusone, and diarylheptanoids (giffonin Q, giffonin R, giffonin S) (Alasalvar et al., 2006; Masullo et al., 2016).

The main objective of this research was to develop the approach for determination of sum of flavonoids in *Corylus avellana* pollen collected from trees growing in different places of the Slovak Republic.

Materials and methodology

Samples of branches of *Corylus avellana* were collected in January-February 2017. Samples were prepared from different areas in Slovakia: botanical garden in Nitra (Nitra-01, Nitra-02, Nitra-03, Nitra-04), village Banka (Banka-01, Banka-02, Banka-03) and village Zemianske Podhradie. They stayed at the room temperature being sunk on 5 cm in bottles with potable water. In 24 hours flowering began. Abundant flowering was observed in 48 hours. Pollen was collected by shaking branches. After shaking pollen was sieved and placed in aseptic tubes, which are stored in the fridge.

Pollen were put in containers, methanol was added in necessary volume and extraction was carried out at 15–25 °C with constant shaking for 24 hours at a ratio of raw material-solvent: 1:25 (maceration). In 24 hour extracts were filtered through filter paper.

Analytical procedure of spectrophotometric method was developed to determine the total flavonoids content of hazelnut pollen in its methanol extracts (Hudz et al., 2017). 0.9 ml 50% ethanol was added to 0.1 ml each extract to form volume of 1.0 ml, and then 1.0 mL of 2% solution of aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was added. The mixture of extract was left for 70–90 minutes. As blank was mixture which consisted of the same volumes of an extract and 50% ethanol. 1 ml of 2% solution of Aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted with the same volume of 50% ethanol. The absorbance was determined at 410 nm.

The curve of quercetin dihydrate was plotted in the range of its concentrations of 5.9 to 29.5 mg/L. 1 ml of the obtained solutions of quercetin dihydrate was mixed with 1.0 ml of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol. The amount of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted by the same volume of 50% ethanol in the blank for each solution of quercetin dihydrate.

The curve of rutin trihydrate was plotted in the range of its concentrations of 20.12 to 100.6 mg/L. 1 ml of the obtained solutions was mixed with 1.0 ml of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol. The amount of 2% aluminum chloride hexahydrate in 50% ethanol was substituted by the same volume of 50% ethanol in the blank for each solution of rutin trihydrate.

Results and discussion

Alcohol extracts of plant material are rich in flavonoids, what is more extent of extraction depends on concentration of alcohol in solvent (Шостак та ін., 2014). The absorbance of solutions with different content of quercetin dihydrate at 425 nm and rutin trihydrate at 410 nm was determined for constructing the calibration curves. Appropriate equations for calculation of sum of flavonoids in tested extracts of hazel pollen were $y_1 = 0.0276 \cdot X + 0.0009$ for quercetin dihydrate ($R^2 = 1.0$), and $y_2 = 0.0095 \cdot X - 0.0199$ ($R^2 = 0.9952$) for rutin trihydrate, where X was measured in mg/l.

The results of our research with the tested extracts are presented in Table 1 and Figure 1, 2.

The total flavonoid content in the tested extracts was determined in the range of 133.41 to 274.23 mg in 1 L of an extract in reference to quercetin and 418.65 to 839.32 mg in 1 L of an extract in reference to rutin that means 3.34–6.86 mg and 10.47–20.98 mg per 1 g pollen in reference to quercetin and rutin, respectively.

Table 1 Flavonoids content in mg in 1 L of the tested extracts of *Corylus avellana* L. poll

Sample origin	Sum of flavonoids in mg/L with reference to	
	quercetin	rutin
Nitra-01	242.4	743.6
Nitra-02	225.2	692.4
Nitra-03	274.4	839.2
Nitra-04	201.6	622.8
Banka-01	248.4	762.0
Banka-02	146.8	458.4
Banka-03	133.6	418.8
Zemianske Podhradie-04	238.8	732.8

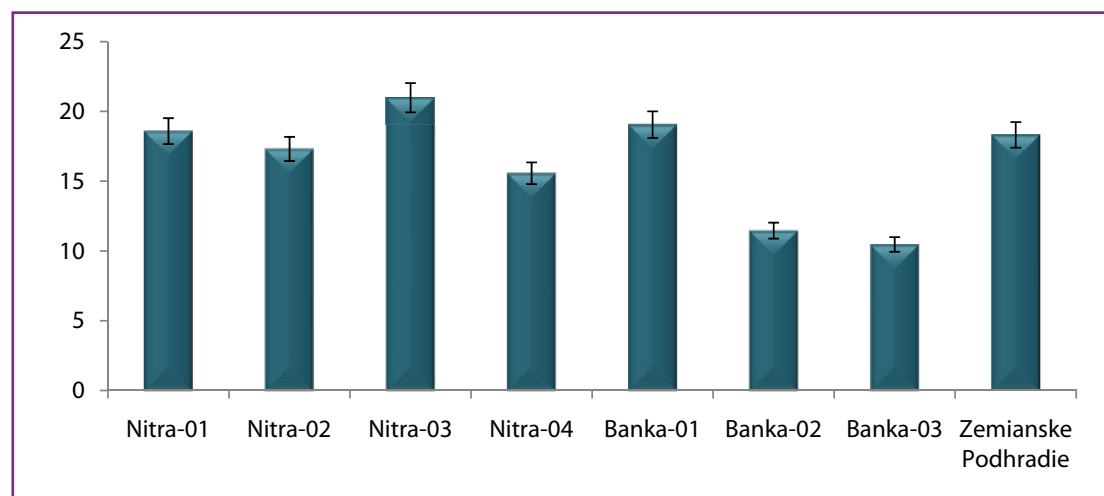


Figure 1 Sum of flavonoids in mg with reference to quercetin in 1 g of *Corylus avellana* L. pollen

The principle of aluminum chloride colorimetric method is that aluminum chloride forms complexes with flavons and flavonols wherein it reacts with the C-4 keto group and either the C-3 hydroxyl group of the ring C, and/or C-5, C-7 hydroxyl group of the ring A and the C-3' or C-4' of the ring B hydroxyl groups (Chang et al., 2002). According to Chang et al. (2002), such flavonols as galangin, morin, kaemferol, rutin, quercetin, quercitrin and myrecetin have absorption maximum at 415–440 nm (ethanol in concentration of 36.5% was as medium). Our studies confirmed that absorption maximum of ethanolic solutions of quercetin was at 425 ± 2 nm and ethanolic solutions of rutin was at 410 nm.

The results of our study demonstrated that four samples from Nitra were homogenous, average sum of flavonoids and standard deviation were (5.90 ± 0.77) mg in 1 g of pollen. Samples from Banka-01 and Zemianske Podhradie were in this range. The other two samples from Banka had significantly lower content of flavonoids. The highest and lowest levels of flavonoids were found in pollen of samples of Nitra-3 and Banka-3, respectively. In general, content of flavonoids in pollen of the tested trees of hazel was in the range of 0.334–0.686% and 1.05–2.10% 1 g pollen in reference to quercetin

and rutin, respectively. These data are consistent with the data of Campos et al. (2008) about content derivatives of phenolic acids and flavonoids in pollen in the range of 2–5% (w/w).

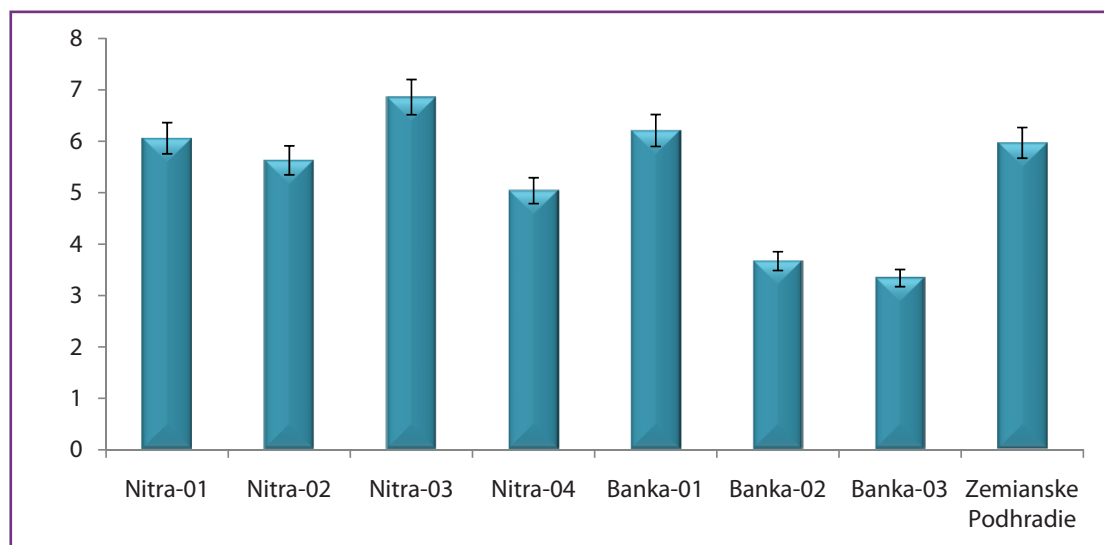


Figure 2 Sum of flavonoids in mg with reference to rutin in 1 g of *Corylus avellana* L. pollen

Conclusions

Procedure of the determination of flavonoids in *Corylus avellana* pollen were developed. It is necessary to use chromatographic studies with the purpose of confirming the correctness of the choice of analytical markers for calculation of sum of flavonoids.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» and within the project ITEBIO (ITMS 26220220115). Coauthor N. Hudz is grateful to the International Visegrad Fund for providing a scholarship for the research as experiments were conducted and this paper was created during the contracted research project (51600967).

References

- Alasalvar, C., Karamac, M., Amarowicz, R., Shahidi, F. 2006. Antioxidant and antiradical activity in extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and in hazelnut green leafy cover. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 13, p. 4826–4832. DOI: [10.1021/jf0601259](https://doi.org/10.1021/jf0601259)
- Aličić, D., Šubarić, D., Jašić, M., Pašalić, H., Ačkar, Đ. 2014. Antioxidant properties of pollen. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, vol. 3, no. 1, p. 6–12.
- Blyznyuk, N., Prokopenko, Yu., Gergiyants, V. 2016. Development of methods for determination of phenolic acids and flavonoids in capsules containing *Corylus avellana* L. dry extract. *Journal ScienceRise* vol. 2, 4, no. 19, p. 18–22. DOI: [10.15587/2313-8416.2016.61495](https://doi.org/10.15587/2313-8416.2016.61495)
- Brindza, J. Brovarskyi, V. 2013. *Pollen and bee pollen of some plant species*. Kyiv: Korsunskiy vidavnychiy dim «Vsesvit». 137 p.

- Campos, M.G.R., Bogdanov, S., Bicudo de Almeida-Muradian, L., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C., Ferreira, F. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, vol. 47, no. 2, p. 154–161. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2008.11101443>
- Chang Chia-Chia, Yang Ming-Hua, Wen Hwei-Mei and Chern Jing-Chuan. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 10, no. 3, p. 178–182.
- Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Máriássyová, M., Kačániová, M. 2015. Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, vol. 51, no. 3, p. 176–181. DOI: 10.1080/03601234.2015.1108811.
- Ghirardello, D., Prosperini, S., Scursatone, B., Gerbi, V., Zeppa, G. 2009. Identification of soluble phenolic acids in hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernel. *Acta Horticulturae*, no. 845, p. 677–680. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.845.106
- Han, R.M., Zhang J.P., Skibsted, L.H. 2012. Reaction dynamics of flavonoids and carotenoids as antioxidants. *Molecules*, vol. 17, p. 2140–2160. DOI: 10.3390/molecules17022140.
- Hudz N., Brindza J., Grygorieva O., Schubertová Z., Filipiska A., Ivanišová E. 2017. Phytochemical studies of bee bread extracts. *Збірник праць X міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції до 25-річчя заснування НДІ фітотерапії ДВНЗ «Ужгородський національний університет»: Сучасні аспекти збереження здоров'я людини, Ужгород, с. 80–83.*
- Leja, M., Mareczek, A., Wyżgolik G., Klepacz-Baniak, J., Czekońska, K. 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry*, vol. 100, no. p. 237–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.047>
- Massulo, M., Mari, A., Cerulli, A., Bottone, A., Kontek, B., Olas, B., Pizza, C., Piacente, S. 2016. Quali-quantitative analysis of the phenolic fraction of the flowers *Corylus avellana*, source of the Italian PGI product “Nocciola di Giffoni”: Isolation of antioxidant diarylheptanoids. *Phytochemistry*, vol. 130, p. 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.06.007>
- Negri, G., Teixeira, E.W., Alves, M.L.T.M.F., Moreti, A.C., Otsuk, I.P., Borguini, R.G., Salatino, A. 2011. Hydroxycinnamic acid amide derivatives, phenolic compounds and antioxidant activities of extracts of pollen samples from Southeast Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no. p. 5516–5522. DOI: 10.1021/jf200602k
- Nikolaieva N., Grygorieva O., Brindza J., Garkava K.G., Klymenko S.V. Antioxidant activity of hazelnut (*Corylus avellana* L.) and sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) pollen extracts. *Scientific conference «Challenges in modern agricultural production»*. Scopje, Macedonia, p. 44. <http://www.agricultforest.ac.me/userfiles/3%20ANNOUNCEMENT.pdf>
- Šarić, A., Balog, T., Sobočanec, S., Kušić, B., Šverko, V., Rusak, G., Likić, S., Bubalo, D., Pinto, B., Reali, D., Marotti, T. 2009. Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47, p. 547–554. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.12.007>
- Schulte, F., Lingott, J., Panne, U., Kneipp, J. 2008. Chemical characterization and classification of pollen. *Analytical Chemistry*, vol. 80, no. 24, p. 9551–9556. DOI: 10.1021/ac801791a
- Shahidi, F., Alasalvar, C., Liyana-Pathirana, C. M. 2007. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and in hazelnut by-products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, no. 4, p. 1212–1220. DOI: 10.1021/jf062472o
- Troszyńska, A., Narolewska, O., Wołeszo, A. 2007. Extracts from selected tannin-rich foods – a relation between tannins content and sensory astringency. *Polish Journal of food and nutrition sciences*, vol. 57 no. 3, p. 329–334.
- Yurttas, H.C., Schafer, H.W., Warthesen, J.J. 2000. Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus* spp.) phenolics. *Journal of Food Science*, vol. 65, no. 2, p. 276–280. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15993.x
- Шостак, Т.А., Калинюк, Т.Г., Гудзь, Н.І. 2014. Особливості фармацевтичної розробки рослинних препаратів (Огляд літератури). *Фітотерапія, Часопис*, № 4, с. 77–82. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Fch_2014_4_23



EFFECTIVENESS OF ARTIFICIAL REPRODUCTION *ACIPENSER GUELLENSTAEDTII*

Nikonorova Hanna*, Kireeva Irina

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ЕФЕКТИВНІСТЬ ШТУЧНОГО ВІДТВОРЕННЯ *ACIPENSER GUELLENSTAEDTII*

Ніконорова Ганна, Кіреєва Ірина

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The Russian sturgeon is vanishing species. A Russian sturgeon is also known as "Diamond Sturgeon" or "Tsar Fish" because of its majestic size and look. River Dam projects have affected almost all spawning ground of this species. It is estimated that the wild population of the Russian Sturgeon has reduced by 90% in just three generations of the species. Interest in replenishing wild stocks with hatchery-reared fish has created a need for an accurate methodological process of fertilization of both fish raised in aquaculture systems and fish in the wild. The caviar of the Russian sturgeon is one of the most sought after, and the flesh of the fish is also in demand always making poaching of the fish more frequent. The objective of this study was monitoring main indexes for Russian sturgeon in a period of spawning. Was holding a characterization of the main indicators of females of Russian sturgeon, a correlation between the main indicators.

Keywords: Russian sturgeon; fish; spawning; caviar; female

Вступ

Нестача плідників осетрових у природних умовах на сьогоднішній день є дуже вагомою проблемою, яка ставить на меті важливу задачу – створення маточного поголів'я осетрових шляхом заводського відтворення. Вивчення та аналіз особливостей відтворення і вирощування анадромних видів осетрових, зокрема російського осетра, як з наукової, так і з практичної точки зору є важливою задачею. Природоохоронний статус виду в Червоній книзі України – уразливий.

Головним чином, штучне відтворення осетра орієнтоване на отримання товарної продукції, а меншу частину цього напрямку займає отримання і вирощування життєстійкої молоді для вселення у природні водойми (Детлаф, 1981).

Покоління осетрових отриманих штучно і покоління від природного розмноження, не зовсім ідентичні. За своїми фізіологічними особливостями, за ростом і розвитком «заводська» молодь може бути дуже схожа з «дикою» молоддю, але при високому рівні біотехніки та випуску молоді найбільш високих кондицій, покоління отримане на заводі буде менш різноякісне, ніж від природного нересту, оскільки утворене від значно меншої кількості батьків (Афоніч, 1971).

***Corresponding author:** Hanna Nikonorova, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ annetnikonorova@gmail.com

Тому в ситуації, що склалась, єдиною реальною можливістю збільшення обсягів виробництва осетрової продукції в Україні є розвиток аквакультури цих риб, завдяки якій створюються умови для одержання товарної продукції вже протягом перших 2 – 4 років після початку виконання відповідних робіт (Третяк, 2010).

Основною метою дослідження був опис головних показників самок російського осетра в II турі нерестової кампанії при заводському відтворенні (маса самок та їх ікри, робоча плодючість, % запліднення та кількість розвиненої ікри), порівняння цих показників між самками та висновок щодо точності проведення робіт та успішності нерестової кампанії.

Матеріали та методи

Дослідження проводилися на повносистемному господарстві ПП «Фортуна-XXI» (продукція підтверджена сертифікатами CITES та ін.) у квітні-травні 2015 року. Джерелом водопостачання є р. Дніпро. Об'єкт досліджень – російський осетр (*Acipenser gueldenstaedtii*). Предмет дослідження – технологія заводського відтворення російського осетра. Методи дослідження – загальноприйняті у рибництві (Андрющенко, 2014). Переднерестове витримування плідників здійснювалось у садках та пластикових басейнах. Для стимуляції дозрівання статевих продуктів на господарстві використано еколого-фізіологічний метод А.Н. Державіна та Н.Л. Гербільського (1947). Стимулююча речовина – змішаний препарат (гліцериновий гіпофізарний препарат + сурфагон). Метод отримання статевих продуктів – відціджування. Метод запліднення ікри – напівсухий метод В.П. Враського (1856), з використанням молок від власних самців. Ікру знеклеювали в апаратах модифікації Вейса, інкубація проводилась в апаратах «Осетр». Терміни дозрівання і готовності плідників до нересту визначали за графіком Т. А. Детлаф та А. С. Гінзбург (1969).

Результати та їх обговорення

У 2015 р. для отримання статевих продуктів російського осетра на заводі сформовано маточне стадо плідників, які використовувалися у нересті не одноразово. Нерестова кампанія проходила у II тури, в яких взяли участь 9 самок російського осетра: 5 екз. (№ 1, 2, 3, 4, 5) – в I турі та 4 екз. (№ 1, 2, 3, 4) – у II (табл. 1).

Таблица 1 Рибоводно-біологічні результати роботи із самками *Acipenser gueldenstaedtii* у 2 турі нерестової кампанії 2015 року

Table 1 The fish breeding and biological results of study of *Acipenser gueldenstaedtii* females in the second tour of spawning 2015

Ознака	Тур					
	1	2	3	4	середнє значення	Σ
Маса ♀, кг	15	16,5	20,5	21	18,25	–
Час дозрівання, год.	42	37	36	31	36,5	–
Маса ікри, кг	3,1	3,5	4,1	4,2	3,7	14,9
Кількість ікринок в 1 г, екз.	45	43	37	44	42	–
Робоча плодючість, тис. ікр.	139,5	150,5	155,4	180,4	156,45	–
% запліднення	93,6	87,2	84,9	91,3	–	–
Кількість розвинутої ікри, тис. ікр.	130,6	131,3	131,9	164,7	139,62	–

Стимуляцію дозрівання статевих продуктів проводили еколого-фізіологічним методом Державіна. Сомок I і II туру утримували в різних садках та басейнах. Оптимальна доза стимулюючої речовини склала – 4 мг/кг для сомок і 2 мг/кг для самців. Серед проін'єктованих сомок II туру спостерігалась 100% позитивна реакція на стимулюючу ін'єкцію.

Час дозрівання сомок в контрольованих умовах коливався від 31 (самка № 4) до 42 годин (самка № 1) при середньому показнику 36,5 години.

Маса сомок, які брали участь у II турі нерестової кампанії змінювалась в діапазон 15,0 (№ 1) – 21 кг (№ 4).

Стан зрілості статевих продуктів особин визначали пробами за допомогою спеціального щупа, який вводили через стінки черевця до статевої залози на глибину 12 см.

На господарстві «Фортуна-XXI» для отримання ікри від сомок використовували метод Подушки. Від сомок II туру було отримано 14,9 кг ікри, в тому числі від № 1 (♀) масою 15,0 кг – 3,1 кг; № 2 (♀) масою 16,5 – 3,5 кг; № 3 (♀) масою 20,5 кг – 4,2 кг; № 4 (♀) масою 21,0 кг – 4,1 кг ікри. При цьому, максимальну кількість ікри віддала самка № 3 – 4,2 кг. У середньому на одну самку II туру отримано 3,7 кг ікри.

Від сомок російського осетра отримано досить крупну ікру, що незначно відрізнялась за розмірами. Проте у сомок з меншою масою відмічався й менший розмір ікринок. Так у сомок № 1, 2, 3 кількість ікринок в 1 г склала 45, 43 і 37 відповідно. У найкрупнішої самки № 4 масою 21 кг ікра була найбільша, а кількість ікринок в 1 г склала 37. Середня кількість ікринок в 1 г по II турі нерестової кампанії – 42 екземпляри.

Показник робочої плодючості сомок російського осетра варіював у межах 139,5 тис. ікр. (№ 1 ♀) – 180,4 тис. ікр. (№ 4 ♀). Робоча плодючість № 1 (♀) сягнула показника 139,5 тис.ікр., № 2 (♀) – 150,5 тис.ікр., у № 3 (♀) цей показник склав 155,4 тис.ікр., а у самки № 4 робоча плодючість була максимальною – 180,4 тис. ікринок. В середньому робоча плодючість сомок за II туру нерестової кампанії склала 156,45 тис. ікринок.

Протягом нерестової кампанії прослідковуються високі результати на всіх ланках технологічного процесу, що свідчить про якість плідників, а також правильні умови догляду та утримання їх у господарстві, високу якість кормів та відповідні гідрохімічні умови не лише у період відбору статевих продуктів, а і протягом усього періоду перебування риб на господарстві. План з отримання ікри російського осетра виконаний на 100 %.

Висновки

У II турі нерестової кампанії 2015 року на заводі використано маточне стадо плідників (4 самки). Стимулювання дозрівання статевих продуктів сомок дало 100% відповідь. Відбір статевих продуктів проводили методом Подушки, за допомогою якого отримано 14,9 кг ікри. Середня робоча плодючість склала 156,45 тис. ікринок. Середня кількість ікринок в 1 г сомок становила 42 екз. План з отримання статевих продуктів сомок двох турів виконано на 100 %.

Література

- Андрющенко, А.І. 2014. Аквакультура штучних водойм. Частина 2. *Індустріальна аквакультура*. Київ, 586 с.
- Третьак, О.М., Ганкевич, Б.О., Колос, О.М., Яковлева, Т.В. *Стан запасів осетрових риб та розвиток осетрової аквакультури в Україні*. Київ, 442 с.
- Афонич, Р.В., Гордиенко, О.Л., Солдатов, Е.В. 1971. *Рыбоводная оценка производителей осетра разного веса и возраста по икре, личинкам и ранней молоди*. Россия, 320 с.
- Державин, А.Н. 1947. *Воспроизводство запасов осетровых рыб*. Азербайджан, 258 с.
- Детлаф, Т.А., Гинзбург, А.С., Шмальгаузен, О.И. 1981. *Развитие осетровых рыб. Созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинки*. Москва, 285 с.



OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR THE CREATION OF VEGETABLE ADAPTOGENIC SUBSTANCE FOR FUNCTIONAL PHYTOCOMPOSITION

Palamarchuk Olena^{1*}, Dzhurenko Nadiya¹, Steshenko Olga²

¹M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СОЗДАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ АДАПТОГЕННОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ФИТОКОМПОЗИЦИИ

Паламарчук Олена, Джуренко Надія, Стешенко Ольга

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

Nowadays the creation of harmless, effective remedies that can influence the level of human adaptive capacity for the impact of various factors, including the extreme nature is one of the key issues of contemporaneity. To restore the protective functions of the body, the use of plant adaptogens, which have undoubted advantages due to their high efficiency, with the most balanced chemical composition of functional ingredients, capable not only of providing the body with healthy energy, but also compensate for the deficiency of irreplaceable essential macro- and micronutrients. For ascertaining the possibilities of preserving the biopotential and the quality of the medicinal vegetative raw material (LRS) by creating new complex phytoadaptogenic remedies of preventive and improving action, a study was conducted to determine the advantages and rational parameters for achieving the high technological effect of the convective method of drying leaves of *Ginkgo biloba* L., *Aralia mandchurica* Rupr. et Maxim., *Echinacea purpurea* (L.) Moench and *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. as its preservation. It was established that the observance of an individual approach and the selection of optimal modes of convective drying for a particular type of raw material (air speed, thickness of the raw material layer, temperature, drying time, maximum preservation of qualitative and quantitative indices of valuable BAS) as its preservation ensures the maximum retention of active substances and allows to significantly expand the production capacity of high-quality functional phytocompositions regardless of the seasonal load chronological line. The created composite substance is substantiated taking into account the assessment of organoleptic properties and potential abilities of each plant to provide adaptogenic, immunostimulating, antioxidant and other effects at sufficient levels of macro- and micronutrients.

Keywords: adaptogeni; active natural substances; antioxidants; immunostimulants; adaptation potential

Вступ

У сучасному світі пізнавальна сторона досліджень все більше поступається місцем їх практичній складовій. Роста значущість наукових результатів, що забезпечують створення

*Corresponding author: Olena Palamarchuk, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ pastinacase1@gmail.com

принципово нових технологій і продукції з новими споживчими властивостями. При цьому акцент робиться на посиленні практичної орієнтації наукових результатів з урахуванням реалій сучасного життя. Останнім часом відмічається потужний сплеск досліджень, висвітлюючих всебічне уявлення про наслідки впливу цивілізації на здоров'я людини (Гаркава і др., 2000). Тому безперечний інтерес представляє перспективний оздоровлюючий і профілактичний науково-практичний напрям, який, безумовно, є одним з пріоритетних у XXI столітті (Меерсон, 1988; 1993; Яременко, 2008).

Головним стає не енергетичне забезпечення, не калорійність харчування, а вживання природних біологічно активних речовин (БАР) захисної і лікувально-профілактичної дії на життєво важливі функції здорового і хворого організму (Лазарева, 2005; Коренская и др., 2010). Особливості набуває проблема підвищення адаптивних можливостей людини за допомогою корекції додатковими біологічно активними функціональними продуктами спеціального призначення, здатними не тільки забезпечити організм енергією, а і компенсувати дефіцит незамінних есенціальних макро-і мікронутрієнтів, імуномодуляторів, антиоксидантів, вітамінів, тощо (Панин, 1978; Дубовик и др., 2000; Влазнева, 2011). Арсенал подібних засобів все ширше використовується практично здоровими людьми з метою профілактики для підвищення якості життя, функціональних ресурсів, працездатності, неспецифічній опірності та розширенню меж адаптації організму (Грибель и Пашинский, 1986; Буянова, 2000; Кацерикова, 2004). Пріоритетними залишаються природні засоби адаптогенів-актопротекторів на основі рослинної сировини з комплексом БАР, близьких за своєю природою до ендегенних сполук організму, здатних виявляти адекватну коригуючу дію на різних рівнях біологічної організації (Беспалов и Некрасова, 2000; Коренская и др., 2010). Всезростаюча увага до фітоадаптогенних засобів зумовлена рядом переваг широкого спектру і плавного наростання фармакологічного ефекту, низької токсичності і відсутності негативних побічних реакцій при тривалому вживанні (Дубовик, 2000; Рыжкова, 2000; Поветьева, 2005; Хобракова, 2010; Барнаулов и Осипова, 2013).

Найбільш фармакологічно активними, відомими рослинними біостимуляторами, до яких і сьогодні інтерес дослідників не слабшає, є аралія маньчжурська (*Aralia mandchurica* Rupr. et Maxim.), елеутерокок колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.), ехінацея пурпурова (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) і також реліктовий гінґо дволопатево (*Ginkgo biloba* L.). Не зважаючи на збільшену світову популярність зарекомендованих активних адаптогенів (Рыжкова, 2000 ; Лазарева, 2005; Поветьева, 2005), за більш ніж десятирічний період на їх основі не було зареєстровано оригінальних вітчизняних лікарських засобів, що і послужило передумовою для обґрунтування і розробки фітоадаптогенної композиційної суміші з урахуванням оцінки органолептичних властивостей і потенційної здатності кожної рослини, зумовленої фізіологічними властивостями наявних компонентів з оптимально збалансованим хімічним складом (Барнаулов и Осипова, 2013).

Фітоадаптогенна сировина – це багате джерело функціональних природних нутрієнтів – інгредієнтів первинного і вторинного синтезу для створення продуктів профілактичної і оздоровчої спрямованості (Головкин, 2001; Коренская и др., 2010). До інформативних належать показники фотосинтетичного апарату рослин, оскільки кількість пігментів в тканинах визначає їх функціональний стан і зміни, що відбуваються при зростанні, розвитку і стресах самої рослини (Мокроносів, 1983). Інтерес до каротиноїдів і, особисто, хлорофілів, які є цінною хімічною сполукою з унікальними властивостями, зумовлено їх багатосторонньою дією на організм людини: здатністю забезпечувати необхідну активність антиокислювальної захисної системи, посилювати обмін речовин, сприяти регенеративним процесам, виявляти стимулюючий вплив на різні органи і системи, підвищуючи тим самим захисні сили організму. Хлорофіл працює на молекулярному і клітинному рівнях, належить до магнійпорфіринів, стимулює функції імунної системи, допомагає в боротьбі з ознаками старіння, підтримці гормонального балансу, детоксикації організму і бере участь у нормалізації функціонального стану здорових

тканин. В наші дні проводяться дослідження фармакологічних та технологічних властивостей хлорофілів, розробляються технології нових видів продукції з його використанням. Унікальні властивості хлорофілу вже широко застосовуються в оздоровчий і профілактичний терапевтичний практиці (Lichtenthaler, 1987; Опарина и Рябова, 2015).

Однак, використання лікарської сировини (ЛРС) обраних фітоадаптогенів ускладнюється сезонністю її заготовки, обмеженими термінами зберігання (згідно інструкції по заготівлі – не більше 3-х діб) і необхідністю переробки відразу після збору. Високий вміст вологи в натуральній сировині призводить до того, що вона легко вражається фітопатогенними мікроорганізмами, а якість збереження є складним організаційним і технічним завданнями (Шретер, 1985).

Для уповільнення процесів руйнування БАР і зниження фармакологічної активності ЛРС вдаються до консервування, метою якого є отримання продукту, здатного зберігатися тривалий час без значних змін якості. Сушіння у природних умовах – це довготривалий процес, який не завжди забезпечує належні показники якості готової продукції через непостійність погодних умов. Сушку в різних температурних режимах можна розглядати як найбільш простий та економічний метод консервування (Манжесов, 2010). Ринок технологічного сушарного устаткування сьогодні диктує нові вимоги, а також нові підходи по вдосконаленню технології сушки рослинного матеріалу з метою зниження її енергоємності, підвищення ефективності процесу. До найбільш поширених і перспективних способів консервації належить конвективна сушка, яка в порівнянні з іншими методами обезводнення, при правильному підборі технологічного процесу, дозволяє отримати сировинний продукт таким, що практично повністю зберігає початкові органолептичні показники, біохімічний склад і характеризується належною здатністю до регидrataції та високими термінами зберігання. Накопичені на сьогодні експериментальні і аналітичні дані (Манжесов, 2010; Темердашев и др., 2011), дозволяють досить чітко встановити вплив усіх чинників, що обумовлюють кінетику процесу сушки і якість сухого продукту. Для кожного виду продукту повинні підбиратися індивідуальні режими, при яких сушка і інші технологічні процеси мають проходити найефективніше (Бузук, 1991; Гаряев, 2011). Усе це обумовлює необхідність в глибокого дослідження і розробки технологій обезводнення лікарської сировини фітоадаптогенів, що вивчаються нами.

Таким чином, залежно від способу переробки ЛРС спостерігаються різні фізико-хімічні, органолептичні і мікробіологічні перетворення, які слід враховувати при розробці відповідних технологій. Усі ці зміни відіграють істотну роль і впливають на якість отримання функціонального фітозасобу (Влазнева, 2011).

Матеріали та методи

Як правило, об'єктом досліджень вивчались корені обраних рослин, які використовуються для створення дієтичних добавок та лікарських засобів адаптогенного спрямування. Виняток – гінкго дволопате, листки якого вже давно визнано лікарською поліфункціональною сировиною як традиційною, так і народною медициною (Барнаулов и Осипова, 2013). Листки ж іншої обраної сировини лежать поза межами наукових досліджень. З огляду на це, проведено дослідження з визначення раціональних технологічних параметрів конвективного сушіння неподрібнених листків гінкго білоба, аралії маньчжурської, ехінацеї пурпурової та елеутерококу колючого. Враховуючи, що умови і вибір процесу сушки залежать від морфологічної будови фітосировини, її хімічного складу, теплові технологічні режими визначались індивідуально для сировини кожного з видів для збереження фармакологічних властивостей ЛРС і забезпечення його якості. При розробці технологічних параметрів переробки сировини враховували застосування технологічних прийомів залежно від особливостей кожної ЛРС; підбір температурних режимів процесів теплової обробки і сушіння, що забезпечують максимальне збереження діючих речовин (Гаряев, 2011; Терешина, 2012). Режим сушіння підбирали за основними критеріями: швидкість руху повітря, товщина шару сировини, температура,

тривалість сушіння. Сушіння здійснювали на сітках при таких значеннях параметрів: швидкість руху повітря – 1,8 ... 2 м/с, товщина шару матеріалу – 10 мм. Тривалість сушіння обраних рослин за різних температур процесу визначали за досягненням в дослідних зразках вмісту вологи 10 %. На основі огляду літературних джерел (Гаряев, 2011; Терешина, 2012), такий вміст вологи у рослинній сировині забезпечує її стійкість в процесі зберігання.

Аналізи вмісту БАР проводили за загальноприйнятими методиками (Мусиенко, 2001; Темердашев и др., 2011; Стешенко и Арсеньева, 2014). Статистичну обробку отриманих цифрових даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel», стандартні відхилення не перевищували 5 %.

Результати та їх обговорення

В результаті проведених пошукових дослідів і апіорного ранжирування чинників конвективної сушки, були виділені найбільш значимі чинники для досліджуваної сировини, що істотно впливають на процес: режимні параметри, за яких досягається найбільш високий технологічний ефект – доведення сировини до технологічної норми за максимального вмісту БАР. В першу чергу, досліджено теплові процеси обробки сировини. Враховуючи, що аналізована рослинна сировина термолабільна і погано віддає вологу, а також, виходячи з технічних характеристик технологічного устаткування, найбільш раціональним був прийнятий варіант висушування сировини в два етапи: термообробка сировини для видалення основної частини вільної вологи впродовж 4 – 5 годин і досушування сировини – для видалення залишкової вільної та частини зв'язаної вологи впродовж 20 – 30 хвилин. При цьому, процес термообробки проводився робочим агентом (повітрям) при низхідному режимі температури, а процес досушування - при висхідному температурному режимі. Для визначення оптимальної температури сушіння рослинної сировини обрано діапазон 30 – 60 °С, що обумовлено низькою термостабільністю хлорофілу, який характеризується заданою фізіологічною активністю для обраних досліджуваних рослин.

Відомо, що БАР, які входять до складу ЛРС, нерідко піддаються змінам, у тому числі, зниженню концентрації, в процесі зберігання, а також при дії різних методів консервації, включаючи висушування (Гаряев, 2011). Отримані дані частково дозволяють зробити подібний висновок. В нашому випадку, при конвективному способі сушіння адаптогенної сировини кількість вільних органічних кислот знизилась в середньому на 20 – 30 %; відбувається також незначне зниження вмісту поліфенолів, в середньому, на 15 – 20 %. Подібний процес відомо обумовлений, передусім, збільшенням концентрації сухих речовин у міру видалення вологи, гідролізом високомолекулярних сполук, а також ферментативними і неферментативними реакціями лабільних сполук (Темердашев, 2011).

На підставі проведених модельно-лабораторних досліджень виявлено залежність від тривалості температурного процесу конвективного сушіння до остаточного 10 % вологовмісту та вмісту хлорофілу (мг/100 г сухих речовин) у сировині обраних фітоадаптогенів, що зображено на рисунку 1 і 2.

На рисунку 1 яскраво відображено однаковий для усіх видів обраної рослинної адаптогенної сировини. характер ліній залежності тривалості конвективного сушіння сировини від температурного процесу. Слід зазначити, при температурних параметрах 50 та 60 °С зневоднення дослідних зразків адаптогенів є інтенсивнішим, ніж при знижених температурах.

Проте, за даними, представленими на рисунку 2 виходить, що з підвищенням температури вміст хлорофілу в дослідженій сировині адаптогенних видів дещо знижується, однак, в діапазоні температур 30 – 40 °С це зниження є незначним. У разі підвищення температури до 45 – 50 °С і вище – втрати хлорофілу є достатньо суттєвими.

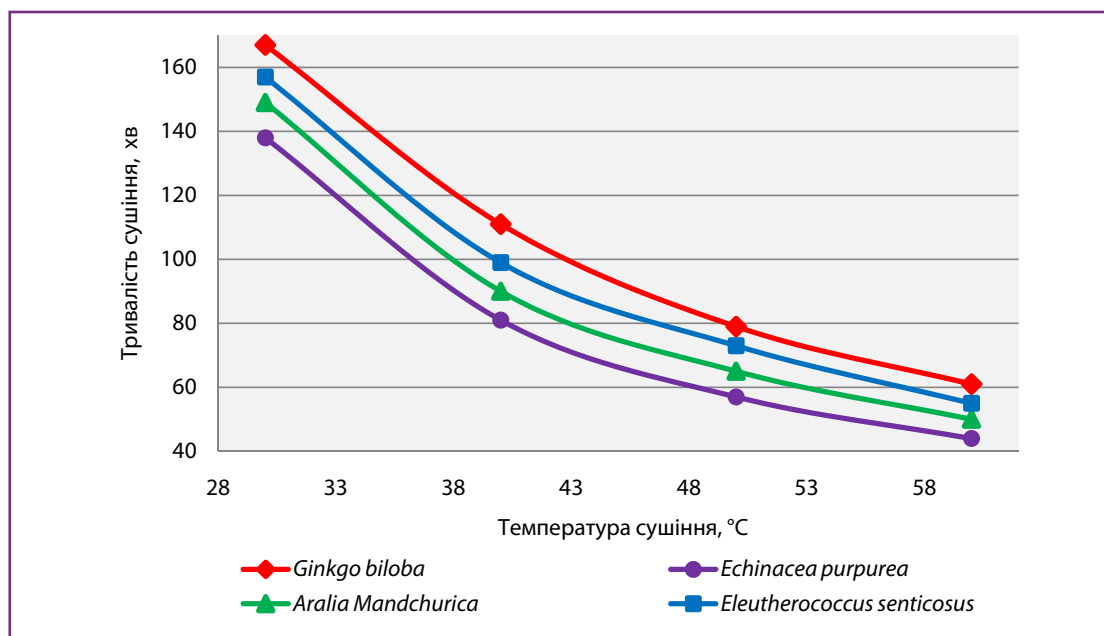


Рисунок 1 Залежність тривалості конвективного сушіння сировини фітоадаптогенів від температурного процесу

Figure 1 The dependence duration of the convection drying of raw materials of phytoadaptogens from temperature process

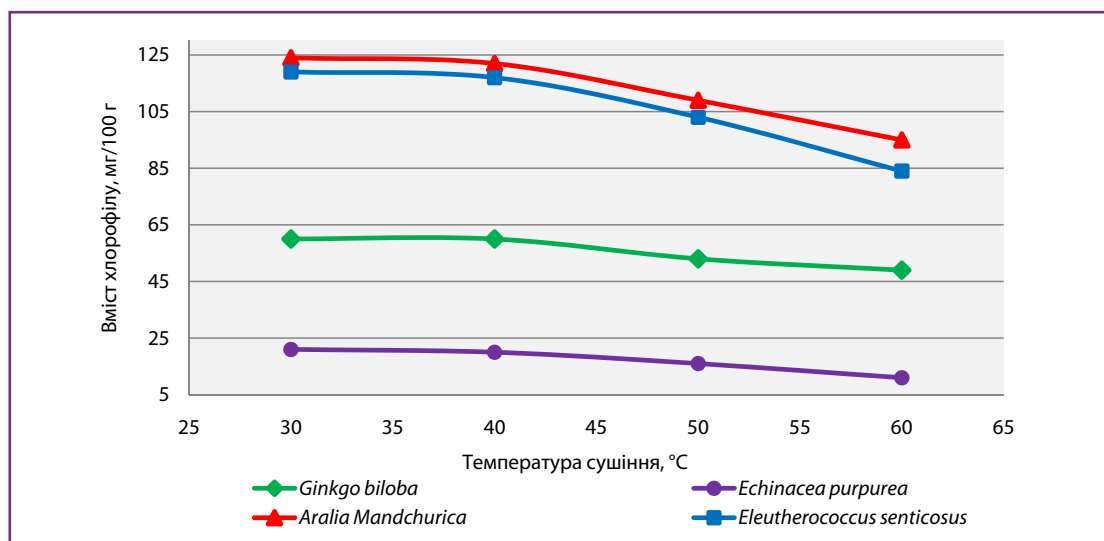


Рисунок 2 Залежність вмісту хлорофілу у сировині фітоадаптогенів від температури конвективного сушіння

Figure 2 Dependence of the chlorophyll content in the raw material of phytoadaptogens on the temperature convective drying process

Представлені дані свідчать про те, що вибраний процес сушіння є оптимальним і сприяє збереженню БАР, особливо, лабільних, в аналізованій сировині.

Проведений порівняльний аналіз показників якості сировини в процесі зберігання різних видів-адаптогенів дозволив встановити, що аналізована сировина є перспективною для створення функціональної фітокомпозиції з високою харчовою і адаптогенною цінністю з наявністю збережених достатньо значних відсотків вмісту поліфенолів, вуглеводного комплексу, вітамінів, особливо, пігментного складу.

На основі отриманої, технологічно збалансованої, якісної рослинної сировини розроблена композиційна субстанція, згідно з корисною моделлю (Деклараційний патент, 2016), яка містить екстракт листків гінґко дволопатевого і, додатково – сушені листки аралії маньчжурської, ехінацеї пурпурової, елеутерококу колючого для функціонального фітоадаптогенного засобу «Антистрес» (ФФК). В якості основних принципів проектування фітокомпозиції враховано фармакологічну сполучуваність фітоінгредієнтів і вибірковість фізіологічної дії на організм людини. Композиційна субстанція обґрунтована з урахуванням оцінки органолептичних властивостей потенційної здатності кожної рослини чинити адаптогенну, імуностимулюючу, антиоксидантну і іншу дію і рекомендованих рівнів споживання макро- і мікронутрієнтів (табл. 1, 2).

Адаптогенний ефект ФФК пов'язаний, в першу чергу, з наявністю різних груп флавоноїдних, поліфенольних, терпеноїдних, полівітамінных и ін. сполук, які є діючими біологічно активними сполуками і входять до рослинного комплексу (табл. 1, 2).

Таблиця 1 Макронутрієнтний склад ФФК «Антистрес», г/100 г

Table 1 Micronutrient composition of the adaptogenic functional phytocomposition, g/100

Речовини	Вміст, г/100 г
Вода	9,9 ± 0,2
Білки	7,4 ± 0,1
Жири	0,9 ± 0,02
Вуглеводи	8,6 ± 0,1
В т.ч. пектинові речовини	
Харчові волокна	63,6 ± 0,5
Органічні кислоти	5,5 ± 0,1
Зола	4,1 ± 0,1

Таблиця 2 Мікронутрієнтний склад ФФК «Антистрес», г/100 г

Table 2 Micronutrient consist of the adaptogenic functional phytocomposition, g/100 g

Речовини	Вміст, мг/100 г	Речовини	Вміст, мг/100 г
Поліфенольні речовини	8,9 ± 0,2	Хлорофіли	75,7 ± 0,3
Флавоноїди	0,5 ± 0,1	К	9,1 ± 0,2
Гідроксикоричні кислоти	1,0 ± 0,1	Са	4,0 ± 0,1
Сапоніни	3,0 ± 0,1	Na	0,1 ± 0,1
Каротиноїди	27,6 ± 0,2		

Рецептурні компоненти фітокомпозиції збалансовані за фізіологічними властивостями і підсилюють адаптогенний ефект один одного. Особливо відрізняється ФФК високим

вмістом пігментних речовин (мг/100г), зокрема, каротиноїдів, вміст яких відзначається показником $27,6 \pm 0,2$ і, а лідерами є хлорофіли, високий рівень вмісту яких дорівнює майже 76 мг/100 г. Функціональна фітокомпозиція адаптогенного спрямування малотоксична і нешкідлива у терапевтичних дозуваннях. Крім того, ФФК не має обмежень щодо споживання відповідно до чинного законодавства України.

Висновки

Вивчено вплив способу консервації на якість лікарської сировини. Встановлено, що вибраний процес сушіння є оптимальним і сприяє максимальному збереженню БАР в аналізованій сировині. Використання конвективного способу сушіння сировини фітоадаптогенів в якості консервації значно розширює можливості фармацевтичного виробництва фітозасобів незалежно від сезонного навантаження. Визначено оптимальні режимні параметри процесу сушки, при яких досягається найбільш високий технологічний ефект – доведення сировини до технологічної норми з метою її використання як субстанції при достатньому рівні макро- і мікронутрієнтів для функціональної фітокомпозиції адаптогенного спрямування.

Література

- Lichtenthaler, N.K., Colowick, S.P., Kaplan, N.O. 1997. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, vol. 148, p. 350–382.
- Барнаулов, О.Д., Осипова, Т.В. 2013. Стресс-лимитирующие свойства классических фитоадаптогенов. *Обзоры по клинической, фармакологической и лекарственной терапии*, № 3, с. 82–89.
- Беспалов, В.Г., Некрасова, В.Б. 2000. Изучение и применение лечебно-профилактических препаратов на основе природных биологически активных веществ. *СПб*, 470 с.
- Буянова, И.В., Чмаро Е.М. 2000. Использование растительного сырья в производстве продуктов функционального назначения. *Продовольственный рынок и проблемы здорового питания: Тез. доклад. научно-технической конфер. Орел*, с. 61.
- Влазнева, Л.Н. 2011. Создание продуктов здорового питания с функциональной направленностью: Дисс. канд. сель.-х. наук: 05.18.01. Мичуринск. Научоград РФ. 162 с.
- Гаряев, А.А. 2011. Оптимизация энергосберегающих схем установок конвективной сушки термолабильных материалов: дисс. канд. тех. наук: 05.14.04. Москва. 196 с.
- Гаркави, Л.Х., Квакина, Е.Б. 2000. *Адаптационные реакции и резистентность организма*. Ростов на Дону: Изд-во Ростовского унив-та, 225 с.
- Головкин, Б.Н. 2001. *Биологически активные вещества растительного происхождения*. в 3-х т. М. Наука.
- Грибель Н.В., Пашинский В.Г. 1986. Адаптивные свойства некоторых препаратов природного происхождения. *Острый и хронический стресс*. Сыктывкар, с. 78–81.
- Декларацийний патент «Спосіб одержання фітоекстракту адаптогенної дії» на корисну модель № 98029 від 10.04. 2016.
- Дубовик, Б.В., Ефремова, И. Н., Наджарян, А.В. 2000. Профилактика комплексными адаптогенами стрессогенных повреждений. *Рецепт-Recipe*, № 10, с. 68.
- Кацерикова, Н. В. 2004. *Технология продуктов функционального питания. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности*. Кемерово. 146 с.
- Коренская, И.М. и др. 2010. *Биологически активные вещества, входящие в состав лекарственного растительного сырья*. Воронеж: Издат.-полиграф. центр ВГУ. 66 с.
- Лазарева, Д.Н., Плечев, В.В., Моругова, Т.В. 2005. *Растения, стимулирующие иммунитет*. Уфа. 96 с.
- Манжесов, В.И. и др. 2010. *Технология хранения, переработки и стандартизация растениеводческой продукции: учебник*. СПб.: Троицкий мост. 704 с.

- Меерсон, Ф.З., Пшенникова, М.Г. 1988. *Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам*. М.: Медицина. 256 с.
- Меерсон, Ф.З. 1993. *Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации*. М. 345 с.
- Мокроносов, А.Т. 1983. *Фотосинтетическая функция и целостность растительного организма*. М. 64 с.
- Мусієнко, М.М., Паршикова, Т.В., Славний П.С. 2001. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. *Визначення вмісту хлорофілів та каратиноїдів у вищих рослин*. К.: Фітосоціоцентр, с. 99–101.
- Опарина, С.А., Рябова М.С. 2015. Растительные пигменты как альтернатива синтетическим красителям и индикаторам. *Молодой ученый*, № 23, с. 129–133.
- Панин, Л. Е. 1978. *Энергетические аспекты адаптации*. Л.: Медицина. 192 с.
- Поветьева, Т.Н., Пашинский, В.Г. 2005. *Особенности адаптогенного действия лекарственных растений*. Томск: ТГПУ. 172 с.
- Рыжикова, М.А. 2000. Адаптогены растительного происхождения. *Здравоохранение Башкирстана*, № 4, с. 106–111.
- Стешенко, О.М., Арсеньева, Л.Ю., Паламарчук, О.П. 2014. Визначення параметрів екстракції фенольних сполук фітоадаптогенної суміші. *Наукові праці ОНАХТ*, №. 46, с. 51–56.
- Темердашев, З.А., Фролова, Н.А., Цюпко, Т.Г. и др. 2011. Оценка стабильности фенольных соединений и флавоноидов в лекарственных растениях в процессе их хранения. *Химия растительного сырья*, № 4, с. 193–198.
- Терешина, Н.С. 2012. Методы консервации свежего лекарственного растительного сырья. *Проблемы экологии, здоровья, фармации и паразитологи. Науч. труды. изд. I МГМУ им. И.М. Сеченова*. М., с. 35–40.
- Хобракова, В.Б. 2010. Перспективы использования средств растительного происхождения для коррекции иммунодефицитов. *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*, № 3 (73), с. 278.
- Яременко, К.В. 2008. *Оптимальное состояние организма и адаптогены*. СПб.: ЭЛБИ-СПб., с. 129.



PRODUCT QUALITY OF DOMESTIC DUAL PURPOSE HYBRID CHICKENS UNDER CONDITIONS OF PRIVATE HOUSEHOLDS

Pankova Svetlana*, Katerynych Oleg

State Poultry Research Station of NAAS, Birky, Ukraine

ЯКІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ВІТЧИЗНЯНОГО ГІБРИДУ КУРЕЙ ПОДВІЙНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ В УМОВАХ ПРИСАДИБНИХ ГОСПОДАРСТВ

Панькова Світлана, Катеринич Олег

Received 21. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Shows the results of the assessment of the quality of meat and eggs of a new Ukrainian hybrid of a dual purpose, obtained by crossing a native breed hens "Poltavska glinyasta" with cocks of factory line G2 white "Plymouth Rock" breed of domestic selection are presented. As a result, fattening cockerels during 12 weeks and their slaughter at the end of the experiment found a statistically significant advantage of hybrid young over the maternal form of live weight (53.7%), eviscerated carcass weight (60.7%), the output of an eviscerated carcass (3.1%) and muscle tissue (72%). For the chemical constituents hybrids meat is not inferior to the original form. Analysis of the physical and morphological indicators of eggs showed a significant advantage ($P > 0.999$) of the hybrid bird over the maternal line at the age of 30 weeks by the eggs weight (57.9 and 54.1 g), yolk weight (16.2 and 14.3 g) and the energy value of eggs (155.3 and 148.6 kcal). At 49 weeks of age egg quality parameters hybrid were at the level of parental forms – egg weight 67.2 g, the contents of the yolk in eggs 30.5%, the ratio of albumin to the yolk – 1.9, indicating a high energy value of the product – 162.8 kcal per 100 g of egg mass. Thus, showed the double (combined) type of productivity of hybrid, which uses of is aimed at obtaining meat (with fattening cockerels) and eggs (while keeping hens) high quality.

Keywords: chickens; dual-purpose hybrid; meat qualities; chemical composition; quality of eggs; morphological indicators; energy value

Вступ

За останні п'ять десятиліть генетично детермінований антагонізм між темпом нарощування живої маси і інтенсивністю несучості призвів до диференціації спеціалізованих кросів для виробництва м'яса і яєць. З одного боку, це бройлери, які всього за 35 днів досягають живої ваги близько 2,1 кг при конверсії корму 1,6 кг корму на 1 кг приросту. З іншого, – несучки, які за 365 днів відкладають 295 яєць при конверсії корму 2,3 кг корму на 1 кг яєчної маси. Проте, на відміну від м'ясної птиці, де здійснюють відгодівлю і самців і самок, в яєчних кросах використання обох статей неможливе, що призводить до загибелі самців в добовому віці. Ця практика викликає все більшу стурбованість у суспільстві, щодо неї існують етичні та правові застереження (Bruijn et al., 2015).

*Corresponding author: Svetlana Pankova, State Poultry Research Station of NAAS, Birky, Ukraine,
✉ svet_my@ukr.net

Перспективним рішенням є використання порід подвійного призначення (Preisinger et al., 2014). В цьому випадку обидві статі набувають економічної цінності, оскільки самці мають прийнятну швидкість росту і забійний вихід, а самки – показують високу несучість. Світові селекційні компанії пропонують птицю подвійного призначення, отриману при схрещуванні м'ясних і яєчних ліній з використанням зчепленого зі статтю гену карликовості, наприклад Lohmann Dual, Walesby Special, Novogen Dual та ін. Дослідження показали, що Lohmann Dual і Walesby Specials мають достатню м'ясну та яєчну продуктивність (Damme et al., 2015).

Останнім часом в Україні також зростає потреба споживачів, особливо фермерів, на птицю з комбінованою продуктивністю, яка вдало поєднує у собі достатню для домашнього господарстванесучістьімасуєць,маючиприцьомугарнім'ясніякостіпривисокійжиттєздатності. Виходячи з цього, у Державній дослідній станції птахівництва НААН з використанням вітчизняного генофонду курей (самців заводської лінії Г2 м'ясо-яєчної породи Плімутрок білий і самок лінії 14 яєчно-м'ясної породи Полтавська глиниста) створений універсальний гібрид, який в умовах присадибних господарств є досить ефективним для отримання як м'ясної, так яєчної продуктивності (Панькова та ін., 2015; Катеринич і Панькова, 2016).

Метою роботи є оцінка якості продукції (м'яса і яєць) гібриду курей подвійного призначення, створеного для присадибного сектора з використанням аборигенної породи та птиці вітчизняної селекції різних напрямів продуктивності.

Матеріали та методи

Дослідження проведені в умовах експериментальної ферми "Збереження державного генофонду птиці" Державної дослідної станції птахівництва НААН України. Для вивчення м'ясних якостей гібридних півників у порівнянні до півників вихідних форм (Г2 та 14) від кожної групи було посаджено на вирощування по 60 голів у добовому віці. Курчат вирощували на підлозі, щільність посадки 5,0 – 5,5 гол./м², годівля вволю повнораціонним комбікормом для ремонтного молодняку (ОЕ – 290 кКал/100 г, СП – 20 %). Термін відгодівлі становив 12 тижнів. Наприкінці досліду було забито по 5 голів від кожної групи для визначення маси і виходу патраної тушки, ножних і грудних м'язів та аналізу м'яса за такими показниками: вміст сирого жиру, сирого протеїну, вологи та золи. Забій та оцінку м'ясних якостей птиці було проведено згідно стандартних методик.

Для вивчення якості яєць на випробування було посаджено по 100 голів гібридних та чистопородних несучок. Дорослих курей утримували в двохярусних групових кліткових батареях за щільності посадки 9,5 – 9,8 гол./м², умови годівлі та утримання всіх груп відповідали нормативам. У віці курей 30 і 49 тижнів було вивчено наступні фізико-морфологічні показники яєць: маса й індекс форми яєць; маса шкарлупи, жовтка й білка; співвідношення маси білка й жовтка. Розрахунок енергетичної цінності яєць здійснювали за формулою, запропонованою А.Е. Остряковою та ін. (2003). Було досліджено по 30 яєць від кожної групи з використанням загальноприйнятих методик (Фисинин и Тищенко, 1998).

Результати та їх обговорення

Результати аналізу м'ясних якостей молодняку у віці 12 тижнів та хімічного складу м'яса наведено в таблиці 1. Встановлено вірогідне перевищення гібридних півників над материнською формою за живою масою (на 53,7 %) та масою патраної тушки (на 60,7 %). Вихід патраної тушки також був вищим у гібридів на 3,1 %. При порівнянні цих показників у гібридів та батьківської форми відмічено протилежні результати, хоч і дещо меншою мірою, – перевага батьківської форми на 24 % за живою масою, на 26,4 % – за масою патраної тушки і всього на 2,1 % – за виходом патраної тушки.

Таблиця 1 Показники м'ясних якостей та якості м'яса гібридних та чистолінійних півників
Table 1 Indicators meat qualities and meat quality of hybrid and purebred cockerels

Показники	Група птиці		
	Г2	14	Г2×14
Передзабійна жива маса, г	3 340,7 ±169,9 ^{a1}	1 653,0 ±116,9	2 540,1 ±149,9 ⁶²
Маса патраної тушки, г	2 304,7 ±133,5 ^{a1}	1 056,0 ±87,5	1 696,6 ±99,0 ⁶²
Вихід патраної тушки, %	68,9	63,7	66,8
Маса м'язів, г:			
грудних	405,7 ±29,5 ^{a1}	158,1 ±19,5	286,5 ±26,2 ^{a2}
стегна	264,2 ±22,0 ^{a1}	112,3 ±12,8	183,7 ±8,9 ⁶²
гомілки	219,0 ±13,8 ^{a1}	99,9 ±10,8	168,1 ±13,0 ⁶²
Відносна маса м'язів (до патраної тушки), %:			
грудних	17,6	15,0	16,9
стегна	11,5	10,6	10,8
гомілки	9,5	9,5	9,9
Хімічний склад грудних м'язів, %:			
волога	71,85	74,65	74,52
сирий протеїн	18,20	19,72	19,39
сирий жир	4,82	0,14	0,61
зола	5,13	5,49	5,48
Енергетична цінність 100 г грудних м'язів, кКал	119,4	82,2	85,2
Хімічний склад ножних м'язів, %:			
волога	71,17	72,14	74,09
сирий протеїн	17,59	17,05	16,49
сирий жир	8,39	7,77	5,36
зола	2,85	3,04	4,06
Енергетична цінність 100 г ножних м'язів, кКал	150,1	142,2	117,5

^{a1} – вірогідно при порівнянні гібрида (Г2×14) та батьківської форми (Г2): ^{a1} – $P > 0,95$; ^{a2}, ⁶² – вірогідно при порівнянні гібрида (Г2×14) та материнської форми (14): ^{a2} – $P > 0,95$, ⁶² – $P > 0,99$

В 49-тижневому віці гібридна птиця переважала обидві батьківські форми за масою яйця – на 0,4 – 5,6 г, що, очевидно, обумовлено проявом у них ефекту гетерозису. Ця перевага була вірогідною порівняно до материнської лінії в обидва вікові періоди ($P > 0,999$). За індексом форми яєць не спостерігалось істотної різниці між вихідними формами й гібридом, а також відзначено, що цей показник не залежав від віку птиці й перебував на рівні 72,9 – 73,9 %.

Відмічено також незначні міжгрупові відмінності за масою білка й жовтка у віці 30 тижнів. У гібридної птиці вміст жовтка в яйцях був максимальним – 28,1 %, що на 0,6 – 1,7 % вище, ніж

у вихідних форм. Вміст білка в цьому віці найвищим був у яйцях курей материнської форми – на 1,9 – 2,0 %, вище, ніж в інших групах. До 49-тижневого віку птиця всіх груп практично зрівнялася за вивченими характеристиками складових частин яйця.

За енергетичною цінністю яєць (у розрахунку на 100 г яєчної маси) всі групи птиці перебували майже на одному рівні. При цьому варто відзначити, що яйця, отримані від курей у віці 49 тижнів, мали енергетичну цінність вище на 7,5 – 12,7 кКал, ніж від більш молоді птиці, за рахунок збільшення в них частки жовтка.

Таким чином, яйця дорослих гібридних курей за фізико-морфологічними параметрами якості не поступаються вихідним формам і навіть переважають їх – за масою на 0,6 – 9,2 %, вмістом жовтка на 0,1 – 0,6 %, за енергетичною цінністю на 0,9 – 4,5 %.

Висновки

Дослідженнями доведено подвійний тип продуктивності нового українського гібриду курей, використання якого спрямоване на отримання м'яса та яєць високої якості. Оцінка забійних якостей півників в результаті відгодівлі протягом 12 тижнів свідчить про істотну перевагу гібридів над материнською формою, яка має яєчно-м'ясний напрям продуктивності: маса патраної тушки більша – на 60,7 %, вихід патраної тушки – на 3,1 %, м'язової тканини – на 2,5 %. За хімічними складовими м'ясо гібрида не поступалося вихідним формам. Аналіз фізико-морфологічних показників яєць показав їх високу масу у гібридних несучок – 67,2 г, вміст жовтка в яйцях – 30,5 %, енергетичну цінність 100 г яйцемаси – 162,8 кКал, що відповідає рівню батьківської форми. Ці результати свідчать про високу якість продукції птиці вітчизняної селекції – яєчно-м'ясної аборигенної породи Полтавська глиняста, м'ясо-яєчної породи Плімутрок білий і нового гібриду, отриманого при їхньому схрещуванні.

Література

- Bruijn, M. R. N., Blok, V., Stassen, E. N., Gremmen, H. G. J. 2015. Moral "Lock-In" in Responsible Innovation: The Ethical and Social Aspects of Killing Day-Old Chicks and Its Alternatives. *J. Agric. Environ. Ethics*, vol. 28, no. 5, p. 939–960.
- Dam, K., Urselmans, S., Schmidt, E. 2015. Economics of Dual-Purpose Breeds. *Lohmann Information*, vol. 50, no. 2, p. 4–9.
- Preisinger, R., Icken, W., Schmutz, M. 2014. Breeding dual-purpose chicken opposed to specialised hybrids. *Proc. XIVth European Poultry Conference*, Stavanger, Norway, p. 468.
- Катеринич, О. Панькова, С. 2016. Новое гибридное сочетание птицы. *Животноводство России*, № 10, p. 11–12.
- Острякова, А.Е., Подстрешный, А.П., Бреславец, В.А. 2003. Физико-морфологические показатели качества яиц различных линий и гибридов кур. *Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб.*, № 53, p. 93–106.
- Панькова, С.М., Катеринич, О.О., Захарченко, О.П., Фесенко Н.А. 2015. Новый вітчизняний м'ясо-яєчний гібрид для присадибного та органічного виробництва (економічна ефективність вирощування півників). *Сучасне птахівництво*, № 5, p. 21–24.
- Фисинин, В.И., Тищенко, А.Н. 1998. *Оценка качества кормов, органов, тканей, яиц и мяса птицы*. Сергеев Посад: ГНУ ВНИТИП. 113 р.



INTRODUCTORY EVALUATION OF SPECIES OF ORNAMENTAL HERBAL LIANAS IN THE CONDITIONS OF M.M. GRYSHKO NATIONAL BOTANICAL GARDEN OF NAS OF UKRAINE

Pavlenko Liudmyla, Mashkovska Svitlana*, Marynenko Natalia

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ІНТРОДУКЦІЙНА ОЦІНКА ВИДІВ ДЕКОРАТИВНИХ ТРАВ'ЯНИСТИХ ЛІАН В УМОВАХ НАЦІОНАЛЬНОГО БОТАНІЧНОГО САДУ ІМ. М.М. ГРИШКА НАН УКРАЇНИ

Павленко Людмила, Машковська Світлана, Мариненко Наталія

Received 26. 6. 2017

Revised 27. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

In order to determine the suitability of the use of introduced species of ornamental herbal lianas in the Forest-Steppe of Ukraine in vertical landscaping, we carried out their introductory assessment for economic and biological indicators and determined the prospects for their implementation. The objects of the study were 15 species of ornamental herbal lianas of collection fund of the M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine, which belonging to 6 botanical families. There are *Cardiospermum halicacabum* L. (Sapindaceae), *Cobaea scandens* Cav. (Polemoniaceae), *Ipomoea coccinea*, *Ipomoea hederacea* (L.) Jacq., *Ipomoea quamoclit* L., *Ipomoea lobata*, *Ipomoea tricolor* Cav., *Ipomoea purpurea* (L.) Roth., *Ipomoea indica* (Burm.) Mevill. (Convolvulaceae), *Thunbergia alata* Bojer ex Sims (Thunbergiaceae), *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae), *Phaseolus coccineus* L., *Lablab purpureus* (L.) Sweet., *Lathyrus odoratus*, *Lathyrus latifolius* (Fabaceae). Among them are the species representing the all 6 floristic kingdoms. As a result of the initial introductory experiment with plants of ornamental herbal lianas, 6 species (*I. coccinea*, *I. hederacea*, *I. purpurea*, *I. tricolor*, *I. indica*, *T. majus*) are considered by us as highly perspective for use in landscaping, and plants of 7 species (*C. halicacabum*, *I. lobata*, *I. quamoclit*, *L. purpureus*, *L. odoratus*, *P. coccineus*, *T. alata*) are promising. The last 13 species are the most promising for the enrichment of the range of flower garden and ornamental crops suitable for vertical planting in the conditions of the Forest-Steppe of Ukraine. Plants of the two species *Cobaea scandens* Cav., *Lathyrus latifolius* L. only were assessed by us as unpromising. The reason for this is the fact that plants of the above species lack fruiting in new soil-climatic conditions. Comprehensive comparative study of the results of the investigation showed that the plants of the species of highly promising and perspective categories are representatives of the Holarctic and Neotropic floristic kingdoms. Besides, a lot of species of ornamental herbal lianas which characterized by the stability of ontogenesis, the ability to multiply and resistance to abiotic factors come from here. Consequently, the above data can also serve as the basis for a prognostic assessment and the subsequent introduction of plants of new species of ornamental herbal lianas.

Keywords: species of ornamental herbal lianas; introductory evaluation Indicators; criteria; introductory conditions

*Corresponding author: Svitlana Mashkovska, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ mashkovska@ukr.net

Вступ

Інтродукційна оцінка рослин у нових умовах вирощування, як з точки зору адаптаційних можливостей виду й відповідності умов до його потреб, так і з точки зору прояву господарсько-біологічних якостей, на основі яких здійснюється групування видів за сферою їх можливого застосування, є невід'ємним завданням інтродукції (Горай, 2011).

Тому для визначення рівня придатності використання в Лісостепу України інтродукованих видів трав'янистих ліан у вертикальному озелененні, нами здійснено їх інтродукційну оцінку за господарсько-біологічними показниками і визначено перспективність щодо їхнього впровадження.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були 15 видів декоративних трав'янистих ліан колекційного фонду Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України, що належать до 6 ботанічних родин: *Cardiospermum halicacabum* L. (Sapindaceae), *Coboea scandens* Cav. (Polemoniaceae), *Ipomoea coccinea*, *Ipomoea hederaceae* (L.) Jacq., *Ipomoea quamoclit* L., *Ipomoea lobata*, *Ipomoea tricolor* Cav., *Ipomoea purpurea* (L.) Roth., *Ipomoea indica* (Burm.) Mevill. (Convolvulaceae), *Thunbergia alata* Bojer ex Sims (Thunbergiaceae), *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae), *Phaseolus coccineus* L., *Lablab purpureus* (L.) Sweet., *Lathyrus odoratus* L., *Lathyrus latifolius* L. (Fabaceae).

Серед них види, що представляють усі 6 флористичних царств, виділених Тахтаджаном (Тахтаджан, 1978). Інтродукційну оцінку видів декоративних трав'янистих ліан за господарсько-біологічними ознаками здійснено на основі шкали (Былов, 1978), з певними модифікаціями (Горай, 2011). Ідентифікацію шкідників та хвороб здійснювали за методикою (Синадський, 1982). Шкала та критерії інтродукційної оцінки декоративних видів трав'янистих ліан за господарсько-біологічними ознаками наведені в таблиці 1. Оцінку за кожним із показників проводили за 3-бальною шкалою. Загальний бал визначали як середнє значення із суми всіх балів (Методика, 1968). До високоперспективних (ВП) віднесено рослини видів, що мають загальний бал 2,6 – 3,0 – види перспективні для впровадження в озеленення, придатні для масового вирощування. До перспективних (П) віднесені рослини видів, що мають загальний бал 2,0 – 2,5 – види перспективні для впровадження в озеленення, але рекомендовані як другорядний декоративний асортимент. До малоперспективних (МП) віднесені рослини видів, що мають загальний бал менший, ніж 2 – види з невисокими показниками декоративних і господарсько-біологічних ознак, рекомендовані для вирощування в невеликих об'ємах, для підтримання колекційної кількості, тощо.

Результати та їх обговорення

Здійснюючи інтродукційну оцінку декоративних видів трав'янистих ліан в умовах Національного ботанічного саду за вищенаведеними показниками, нами виявлено, що з року в рік стійко плодоносили рослини всіх досліджуваних видів, окрім *Coboea scandens*, *Lathyrus latifolius*. Тому вони були оцінені 1 балом. Показники насінної продуктивності характеризувалися як низькі та середні (Павленко, 2014а).

Стійкість до шкідників є однією із важливих ознак, оскільки показує рівень адаптації інтродуцентів до нових умов. Найстійкішими видами виявилися *Cardiospermum halicacabum* та *Lablab purpureus*, які дуже рідко вражалися шкідниками і хворобами. Найпоширенішими шкідниками були попелиця та павутинний кліщ, які інфікували більше половини рослин видів декоративних трав'янистих ліан: види роду *Ipomoea*, *Coboea scandens*, *Tropaeolum majus*, *Thunbergia alata*. Найбільш вразливими були рослини *Lathyrus odoratus*, *Phaseolus coccineus*, які крім вище згаданих, вражалися ще 5–6 видами шкідників (Павленко, 2014б). Зокрема рослини *Lathyrus odoratus* неодноразово були інфіковані кореневою гниллю,

чорною ніжкою, мучнистою россою, сірою пліснявою, інколи – довгоносиками (Павленко, 2014б). Рослини *Phaseolus coccineus* виявилися вразливими до чорної квасолевої тлі, кутової плямистості, мозаїки квасолі, бурї плямистості та сірої плісняви.

Таблиця 1 Шкала та критерії інтродукційної оцінки декоративних видів трав'янистих ліан за господарсько-біологічними ознаками

Table 1 Scale and criteria of introductory evaluation of ornamental species of herbal lianas based on economic and biological grounds

Показник	Критерії	Бал
Плодоношення	– плодоношення стійке і рясне (з високим показником насінної продуктивності)	3
	– плодоношення стійке з середнім або низьким показником насінної продуктивності	2
	– плодоношення немає, або вид практично не плодоносить	1
Схожість насіння	– схожість насіння висока ($\geq 70\%$)	3
	– схожість насіння середня (50 – 69 %)	2
	– схожість насіння низька ($\leq 50\%$)	1
Здатність до самосіву	– самосів щорічний, рясний, життєздатний	3
	– самосів поодинокий, або не щорічний, життєздатний	2
	– самосів ніколи не утворюється	1
	– самосів не життєздатний	
Стан рослин в культурі, розмір пагонів	– розміри рослин збільшується	3
	– розміри рослин не відрізняються від природних або «в культурі» в інших місцях інтродукції	2
	– розміри рослин значно зменшуються	1
Тривалість квітнення	– понад 3 місяці	3
	– понад 2 місяці	2
	– близько одного місяця	1
Стійкість до хвороб та шкідників	– за візуальними спостереженнями за рослинами не виявлено ушкоджень від шкідників або збудників хвороб.	3
	– генеративна частина пошкоджена шкідниками	2
	– вірусних, бактеріальних чи грибкових хвороб не виявлено	
	– ушкодження не носять критичного характеру.	1
	– ушкодження шкідниками охоплюють генеративну та вегетативну частину рослин	
	– вид уражається регулярно і значною мірою	
	– пошкодження знижує декоративність і значно пошкоджує стан рослин.	

Здатність до самосіву – значимий показник адаптаційної здатності рослин до нових умов інтродукції. Розмножуватися через самосів можуть рослини *Ipomoea hederacea*, *Ipomoea indica*, *Ipomoea purpurea*, *Ipomoea tricolor*, *Tropaeolum majus*, які дають щорічний рясний та життєздатний самосів. Ці види оцінені за даним показником у 3 бали. Поодиноким самосівом

характеризуються *Ipomoea coccinea*, *Lablab purpureus*. Рослини інших досліджуваних видів не мають здатності до розмноження через самосів.

Насіння трав'янистих ліан характеризується хорошою схожістю, адже у рослин більшості досліджуваних видів, вона була значно вищою за 70 %. Дещо нижчою схожість була у *Thunbergia alata* (53 %), а найнижчим цей показник був у рослин *Coboea scandens*, *Lathyrus latifolius* – 25 та 37 %, відповідно.

Тривалість квітання рослин обчислювали як кількістю днів від початку розкриття першої квітки до повного завершення квітання, яке у рослин досліджуваних видів (за винятком *Lathyrus odoratus*) спостерігалось при зниженні температури навколишнього середовища. Рослини *Cardiospermum halicacabum*, види роду *Ipomoea*, *Lablab purpureus*, *Phaseolus coccineus*, *Tropaeolum majus*, *Thunbergia alata* характеризуються періодом квітання, що триває понад три місяці. До двох місяців квітували рослини *Coboea scandens*, а близько одного місяця – види роду *Lathyrus*.

Таблиця 2 Інтродукційна оцінка декоративних видів трав'янистих ліан за господарсько-біологічними ознаками

Table 2 Introductory evaluation of species of ornamental herbal lianas based on economic and biological signs

Види	Критерій оцінки, бали							
	стан рослин в культурі	стійкість до хвороб і шкідників.	плодоношення	здатність до самосіву	схожість насіння	тривалість квітання	загальний бал	визначення
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	2	3	2	1	3	3	2,3	П
<i>Coboea scandens</i>	2	3	1	1	1	2	1,7	МП
<i>Ipomoea coccinea</i>	3	2	3	2	3	3	2,7	ВП
<i>Ipomoea hederacea</i>	3	3	3	3	3	3	3,0	ВП
<i>Ipomoea indica</i>	3	3	3	3	3	3	3,0	ВП
<i>Ipomoea purpurea</i>	3	3	3	3	3	3	3,0	ВП
<i>Ipomoea lobata</i>	2	3	2	1	3	2	2,1	П
<i>Ipomoea tricolor</i>	3	3	3	3	3	3	3,0	ВП
<i>Ipomoea quamoclit</i>	3	3	2	1	3	3	2,5	П
<i>Lablab purpureus</i>	2	3	2	2	3	3	2,5	П
<i>Lathyrus odoratus</i>	3	2	2	1	3	1	2,0	П
<i>Lathyrus latifolius</i>	2	3	1	1	1	1	1,5	МП
<i>Phaseolus coccineus</i>	2	1	2	1	3	3	2,0	П
<i>Tropaeolum majus</i>	3	3	3	3	3	3	3,0	ВП
<i>Thunbergia alata</i>	2	3	2	1	2	3	2,2	П

категорії перспективності використання трав'янистих ліан в озелененні: ВП – високо перспективні, П – перспективні, МП – мало перспективні

Таким чином, в результаті первинного інтродукційного експерименту з рослинами видів декоративних трав'янистих ліан, 6 видів (*Ipomoea coccinea*, *Ipomoea hederacea*, *Ipomoea purpurea*, *Ipomoea tricolor*, *Ipomoea indica*, *Tropaeolum majus*) оцінені нами як високо перспективні (ВП) для використання в озелененні, рослини 7-ми видів (*Cardiospermum halicacabum*, *Ipomoea lobata*, *Ipomoea quamoclit*, *Lablab purpureus*, *Lathyrus odoratus*, *Phaseolus coccineus*, *Thunbergia alata*) як перспективні (П). Решта 13 видів є найбільш перспективними для збагачення асортименту квітниково-декоративних культур, що придатні для вертикального озеленення в умовах Лісостепу України. Лише рослини двох видів *Cobaea scandens*, *Lathyrus latifolius* були оцінені нами як малоперспективні. Причину цього ми вбачаємо у тому, що у рослин вище вказаних видів відсутнє плодоношення в нових ґрунтово-кліматичних умовах.

Висновки

Комплексне порівняльне вивчення результатів дослідження показало, що рослини видів високоперспективних (ВП) та перспективних (П) категорій є представниками Голарктичного та Неотропічного флористичних царств. Крім того, звідти ж походять трав'янисті ліани, що характеризуються стабільністю онтогенезу, здатністю до розмноження та стійкістю до абіотичних факторів. Отже, вище наведені дані зможуть також послужити основою для прогностичної оцінки при подальшій інтродукції рослин нових видів декоративних трав'янистих ліан.

Література

- Былов, В. 1978. Основы сравнительной оценки декоративных растений. *Интродукция и селекция цветочно-декоративных растений*. Москва: Наука, с. 7–32.
- Горай, Г. 2011. Декоративні види родини макових (Papaveraceae Juss.) в умовах Лісостепу України: інтродукційна оцінка, морфобіологічні особливості, перспективи практичного використання: дисертація. Київ. 213 с.
- Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. 1968. Вып. 6: Декоративные культуры. Москва: Колос. 224 с.
- Павленко, Л., Машковская, С. 2014. Морфологические особенности и посевные качества семян видов травянистых лиан в условиях Западной Лесостепи Украины. *Актуальные вопросы плодоводства и декоративного садоводства в начале XXI века. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 120-летию основания института и 80-летию основания сада-музея «Дерево дружбы»*. Сочи: ГНУ ВНИИЦиСК Россельхозакадемии, с. 317–323.
- Павленко, Л., Машковська, С. 2014. Шкідники та хвороби деяких видів однорічних трав'янистих ліан в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України. *Інтродукція, збереження та моніторинг рослинного різноманіття. Матеріали міжнародної наукової конференції до 175-ти річчя Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. Київ: Паливода А.В., с. 247–248.
- Синадский, Ю., Кортнеева, И., Добровичская, И. 1982. *Вредители и болезни цветочно-декоративных растений*. Москва: Наука. 592 с.
- Тахтаджян, А. 1978. *Флористические области Земли*. Ленинград. 248 с.



PRACTICAL ASPECTS OF USE OF PERSPECTIVE ORNAMENTAL PLANTS OF THE GENUS *ANEMONE* L. FOR THE LANDSCAPING IN FOREST-STEPPE OF UKRAINE

Pereboichuk Oksana

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ВИКОРИСТАННЯ ПЕРСПЕКТИВНИХ ДЛЯ ОЗЕЛЕНЕННЯ КВІТНИКОВО-ДЕКОРАТИВНИХ РОСЛИН РОДУ *ANEMONE* L. В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Перебойчук Оксона

Received 22. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The results of the introduction of decorative taxons of the genus *Anemone* L. in Forest-Steppe of Ukraine are represented in this article. On the basis of scientific principles, the main options for combining them in landscape compositions have been developed. Behind the life form of plants, taxa were grouped into a five groups: plants with long rhizomes and single flowers, ephemeroids (*Anemone altaica* Fisch. ex Ledeb., *Anemone nemorosa* L., *Anemone ranunculoides* L.); tuberous rhizomes (*Anemone blanda* Schott & Kotschy); with vertical caudexes and a taproot, or a mixed root system (*Anemone multifida* Poir., *Anemone narcissiflora* L., *Anemone rivularis* Wall., *Anemone rivularis* var. *flore-minore* Maxim.); roots sprouts *Anemone* (*Anemone canadensis* L., *Anemone dichotoma* L., *Anemone hupehensis* Hort. Ex Boynton, *Anemone hupehensis* var. *japonica* (Thunb.) Bowles & Stearn, *Anemone sylvestris* L., *Anemone tomentosa* (Maxim.) S.F. Pei); with a fibrous root system (*Anemone cylindrica* A.Gray, *Anemone virginiana* L., *Anemone virginiana* var. *alba* (Oakes) Alph.Wood.). By selected groups were analyzed their potential growth opportunities, the formation of habit and offered possibilities of use in the landscape under the conditions of the Forest-Steppe of Ukraine. *Anemone* are more attractive when used in the landscape style. The assortment of taxons is developed for various elements of floral-decorative design: single plantings, group plantings, single-species groupings, rock gardens, mixboxers, rabatte, landscaping around a water basins, single species gardens, natural garden, garden cognitive compositions etc. Thus, the use of plants of the *Anemone* species for the gardening in the conditions of the Forest-steppe of Ukraine will enable enrichment of the taxonomic assortment of flower-decorative plants and expand the opportunities for the formation of diverse, durable, highly decorative landscape compositions.

Keywords: ornamental herbaceous plants; *Anemone*; landscape compositions; gardening; floriculture; life form of plants

***Corresponding author:** Oksana Pereboichuk, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ fiorgy@meta.ua

Вступ

Одним із шляхів вирішення проблеми покращення стану навколишнього середовища урбанізованих територій є формування стійких міських біогеоценозів. Ефективність у поєднанні з високою декоративністю штучних насаджень передусім залежить від різноманітності і правильного підбору асортименту рослин в залежності від їх біоекологічних особливостей та функціонального призначення об'єктів. Тому вивчення питань щодо збагачення і оновлення асортименту перспективних для озеленення видів та культиварів, розробки варіантів їх використання і на сьогодні залишаються актуальними.

При створенні і реконструкції зелених насаджень, у тому числі й м. Києва, здебільшого приділяється увага деревам та кущам. Декоративні трав'янисті рослини використовуються в незначній кількості для часткового квітникового оформлення міста і практично не включаються в цілісні архітектурно-ландшафтні композиції. При цьому асортимент їх досить одноманітний і базується переважно на однорічних культурах.

Перші відомості про використання в декоративному садівництві більшості трав'янистих багаторічників датуються XV – XVI ст., проте значна частина із них і сьогодні залишається малопоширеною, чи й зовсім не використовується в культурі. Одними з таких є і представники роду *Anemone* L. Рекомендації про їх використання наводяться в класичній роботі для садівників J. Parkinson 'Paradisi in Sole Paradisus Terrestris' (Parkinson, 1904), де описано два види (*Anemone coronaria*, *Anemone pavonina*) та 30 їх культиварів, серед яких і гібриди з махровими квітками. На сьогодні таксони цього роду досить широко представлені у світовому асортименті (Index, 1994; Royal, 1996; McIndoe, 2005; Музичук, 2009), та є високоперспективними для озеленення в Україні, проте їх практично не використовують, трапляються вони здебільшого серед квітникарів-аматорів (Музичук, 2009; Музичук, 2013).

Садову цінність цих рослин визначає як природно притаманна їм висока декоративність, так і обумовлене їхньою широкою біологічною, зокрема, і екологічною диференціацією, багатство за формою, розмірами, строками цвітіння, різноманітністю геліо-, гідро- та трофоморф. Їх висока привабливість для практичного використання полягає і в тому, що саме ці види здатні забезпечувати барвами свого рясного цвітіння ранньо- та пізньовесняний (березень-травень), частково весняно-літній (травень-червень), та літньо-осінній (кінець серпня-жовтень) періоди, для яких асортимент квітникових рослин не такий багатий, як для літнього сезону.

Матеріали та методи

З метою більш широкого і доцільного використання в озелененні представників роду *Anemone* на основі наукових засад розроблено основні варіанти їх комбінування в ландшафтних композиціях. Для роботи використовувались успішно інтродуковані в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАНУ таксони роду *Anemone*, які за результатами проведеної нами оцінки успішності інтродукції за комплексом господарсько-біологічних показників виявились високоперспективними чи перспективними для широкого використання в декоративному садівництві (Перебойчук, 2013): *Anemone altaica* Fisch. ex Ledeb., *Anemone blanda* Schott & Kotschy, *Anemone canadensis* L., *Anemone cylindrica* A.Gray, *Anemone dichotoma* L., *Anemone hupehensis* Hort. Ex Boynton, *Anemone hupehensis* var. *japonica* (Thunb.) Bowles & Stearn, *Anemone multifida* Poir., *Anemone narcissiflora* L., *Anemone nemorosa* L., *Anemone ranunculoides* L., *Anemone rivularis* Wall., *Anemone rivularis* var. *flore-minore* Maxim., *Anemone sylvestris* L., *Anemone tomentosa* (Maxim.) S.F. Pei, *Anemone virginiana* L., *Anemone virginiana* var. *alba* (Oakes) Alph.Wood.

Результати та їх обговорення

Перспективні для озеленення види роду *Anemone* представлені різними феноритмотипами та екотипами, що дає змогу багатоманітного їх використання в ландшафтному оформленні

різноманітних об'єктів. Привабливість цих рослин зумовлена ще й тим, що більшість із них придатні для подвійного застосування, не тільки у квітниках, а й для підвищення естетичної привабливості великих масивів різних типів ландшафту, зокрема тінистих місць парків.

Рослини природної флори, до яких належать і таксони роду *Anemone*, більш органічні при використанні в декоративному садівництві в пейзажному стилі, головний принцип якого – природність. При підборі можливих варіантів їх використання (табл. 1) перш за все звертали увагу на життєву форму рослин, яка вказує на особливості розростання особин та на їх феноритмотип. За цими ознаками рекомендовані для озеленення нами види поділяються на: рослини з довгими кореневищами й поодинокими квітками, ефемероїди; із бульбо подібними кореневищами; із вертикальним каудексом і стрижневою, або змішаною кореневою системою; кореневопаросткові анемони; із мичкуватою кореневою системою.

Таблиця 1 Варіанти використання досліджуваних видів роду *Anemone* L. у озелененні
Table 1 Variants of the use of the studied species of the genus *Anemone* L. in the landscaping

Вид	Елементи квітково-декоративного оформлення								
	солітери	одновидові групи	групові посадки	рокарії	рабатки, міксобортери	озеленення водойм	моносад	природний сад	садові пізнавальні композиції
<i>A. altaica</i>	–	–	+	–	+	–	+	+	+
<i>A. blanda</i>	–	–	+	+	+	–	+	+	+
<i>A. canadensis</i>	–	+	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. cylindrica</i>	–	–	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. dichotoma</i>	–	+	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. hupehensis</i>	+	+	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. hupehensis</i> var. <i>japonica</i>	+	+	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. multifida</i>	–	+	+	+	+	–	+	+	+
<i>A. narcissiflora</i>	–	–	+	+	+	–	+	+	+
<i>A. nemorosa</i>	–	–	+	–	+	–	+	+	+
<i>A. ranunculoides</i>	–	–	+	–	+	–	+	+	+
<i>A. rivularis</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. rivularis</i> var. <i>flore-minore</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. sylvestris</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. tomentosa</i>	+	+	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. virginiana</i>	–	–	+	–	+	+	+	+	+
<i>A. virginiana</i> var. <i>alba</i>	–	–	+	–	+	+	+	+	+

До першої групи належать рослини (*Anemone altaica*, *Anemone nemorosa*, *Anemone ranunculoides*), які у природі трапляються у широколистяних лісах помірної зони, це ранньовесняно- та весняноквітучі види. Вони розширюють асортимент ранньоквітучих рослин і можуть становити альтернативу ранньоквітучим цибулинним культурам та гармонічно доповнювати їх. Особливість цих видів у тому, що вони не ростуть окремими особинами, а формують куртини та зарослі без чітких границь, інтенсивно захоплюють нові території. Тому їх доцільно використовувати в квітниках ландшафтного стилю, у групових посадках, міксбордерах, садах природного стилю, враховуючи те, що вони декоративні лише у період цвітіння. Особлива цінність цих видів ще й у тому, що вони чудово ростуть у затінку листяних дерев, де в період цвітіння отримують достатню кількість сонячного світла.

Із бульбоподібних видів найбільш перспективна для вирощування в умовах Лісостепу *Anemone blanda*. Бульбокореневі види анемон найбільш придатні для вирощування в рокаріях, оскільки вони достатньо посухостійкі й світлолюбні.

Біологічна особливість таксонів зі стрижневою кореневою системою – компактність, повільне розростання і декоративна стабільність (*Anemone multifida*, *Anemone narcissiflora*, *Anemone rivularis*, *Anemone rivularis* var. *flore-minore*). Вони ефектно виглядають як у полі-, так і в монокомпозиціях. Їх можна використовувати навіть у строгих квітниках регулярного стилю.

Цінність кореневопаросткових анемон (*Anemone canadensis*, *Anemone dichotoma*, *Anemone hupehensis*, *Anemone hupehensis* var. *japonica*, *Anemone sylvestris*, *Anemone tomentosa*) у тому, що вони утворюють стійкі густі зарості як на сонячних ділянках, так і в напівтіні, у тіні зменшується інтенсивність їх цвітіння. Покрив із цих рослин декоративний із весни до пізньої осені. Тому їх можна висаджувати однорідними групами. При деяких штучних обмеженнях кореневої системи рослини можна використовувати як солітери, вони будуть чудово акцентувати на собі увагу.

Компактні види із мичкуватою кореневою системою – гості Північно-Американського континенту (*Anemone cylindrica*, *Anemone virginiana*, *Anemone virginiana* var. *alba*) є не такими яскравими, як інші представники роду, проте їх компактний циліндричний габітус дозволяє використовувати рослини в групових посадках, міксбордерах, у садах природного стилю.

Сукупне тривале цвітіння інтродукованих нами таксонів (Перебойчук, 2013) з ранньої весни й до пізньої осені дає можливість створювати моносади неперервного цвітіння роду *Anemone* та успішно залучати їх для створення змішаних садів неперервного цвітіння.

У навчальних закладах, ботанічних садах, парках відпочинку доцільно залучати рослини цього роду для створення садових композицій які несуть також і пізнавальне навантаження: сезонне, географічне, біологічне, екологічне.

Висновки

Використання таксонів роду *Anemone* для озеленення в умовах Лісостепу України дозволить збагатити таксономічний склад асортименту квітково-декоративних рослин та розширить можливості при формуванні різнопланових, довговічних, високодекоративних ландшафтних композицій.

Література

- Index of garden plants*. 1994. Portland: Timber Press. 1234 p. ISBN 0-88192-246-3.
- McIndoe, A., Hobbs, K. 2005. *Herbaceous perennials: The Hillier gardener's guides*. London: David & Charles, 160 p. ISBN 978-0-7153-2024-2.
- Parkinson, J. 1904. *Paradisi in Sole Paradisus Terrestris* (1629). London: Methuen & co. 656 p.

- Royal Horticultural Society A-Z Encyclopedia of Garden Plants*. 1996. London: New York, Stuttgart, Moscow: Dorling Kindersley, 576 p. ISBN 0-7513-0436-0.
- Музичук, Г., Перебойчук, О. 2009. Квітничково-декоративні рослини роду *Anemone* L. у культурі генній флорі світу та перспективи їх інтродукції в Україну. *Інтродукція рослин*, № 4, с. 29–41.
- Музичук, Г., Перебойчук, О. 2013. Морфологічні та екологічні особливості, перспективи інтродукції і досліджень квітничково-декоративних рослин роду *Anemone* L. в умовах Полісся і Лісостепу України. *Інтродукція рослин*, №1, с. 62–72.
- Перебойчук, О. 2013. Итоги интродукции декоративных растений рода *Anemone* L. в условиях Полесья и Лесостепи Украины. *Цветоводство традиции и современность: материалы VI Междунар. науч. конф.* (Волгоград, 15-18 мая 2013 г.). Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», с. 125–128.



SEPARATION OF RYE SECALINS BY A-PAGE

Petrovičová Lenka*, Balážová Želmíra, Vivodík Martin, Gálová Zdenka

Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The aim of our study was to evaluate the electrophoretic profiles of secalins of fifteen genotypes of rye (*Secale cereale* L.), which were obtained by polyacrylamide gel electrophoresis in the presence at pH 3.1 (A-PAGE). Electrophoretic separation of storage proteins was conducted according to the methodology recommended by an international organization ISTA, with some own modifications. Fractions from the preparative separation were pooled in such a way that no components from one pool were present in the others. Doc-It LS software was used to detect and to calculate variability of genotypes within individual rye species. Preparative electrophoresis at low pH allowed a simple separation of γ 75k-secalins, ω -secalins and γ 40k-secalins from the crude material under non-denaturing conditions. The content of γ 75k-secalins varied in analyzed collection of rye from 22.86% (variety Čerkascanka tetra) to 53.93% (genotype Valtické) with an average 39.27%. The proportion of ω -secalins in our samples was in an average 39.27%. The largest percent representation of ω -secalins was proved in variety České (58.68%) and the lowest part of this subunits was detected in variety Radomske (25.83%). Our results showed that average representation of γ 40k-secalins was 22.05%, with the highest content in variety Viglašské (32.44%) overleaf with the lowest part of this fraction was detected in Valtické (8.28%). The variety of wheat Chinese spring and Marquis were used as standards. Storage proteins consist of three fractions, which are the main part of grain proteins and are used as a marker not only for genetic variability investigation, but also for characterization of genotypes. These pooled fractions could be used as starting material for single polypeptide purification.

Keywords: cereals; *Secale cereale*; electrophoresis; A-PAGE; secalins

Introduction

Rye (*Secale cereale* L) is a traditional cereal in Central, Eastern and Northern Europe, where it is used for the production of bread and crispbread and as fodder (Hansen et al., 2003). The cereal proteins contribute to the nutritional value of the diet and they are integral and fundamental part of food components. Nutritionally, they are the good source of energy and its amino acids are essential for growth and maintenance (Horszwald et al., 2009). Functionally, they affect the physicochemical and sensory properties of various foods. Recently published data indicate that rye and rye-based products (including breads) are a good source of lignans, phytosterols and phenolic compounds that are biologically active and possess antioxidant properties (mainly they are good free-radical scavengers, reducing agents, potential complexers of prooxidant metals and quenchers of the singlet oxygen formation) (Zielinski, 2002; Michalska et al., 2007; Horszwald et al., 2009).

***Corresponding author:** Lenka Petrovičová, Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak Republic, ✉ petrovicovalenka22@gmail.com

Genetic diversity has played a vital role in the success of crop improvement. Knowledge of genetic diversity has been successfully used for efficient germplasm management and utilization, genetic fingerprinting and genotype selection (FAO, 1998; Engles et al., 2002). However, there are many methods for estimating genetic diversity since they provide a simple way of quantifying genetic variation while assessing genotype performance under normal growing environments.

However, morphological traits are limited in number, modified by the environment and may be controlled by epistatic and pleiotropic gene effects (Fufa et al., 2005). The gliadin protein markers, as primary product of gene expression, are not affected by the plant growth environment and can reveal small changes (e.g. mutations) in accessible to visual examinations (Alieva et al., 2012). The objective of our work was to evaluate the electrophoretic profile secalins of rye by A-PAGE.

Materials and methodology

We analyzed five Czechoslovak, five Czech and five SUN (Union of Soviet Socialist Republics) genotypes of *Secale cereale*, which we obtained from the Gene Bank of Slovak Republic in Piešťany and Gene Bank of Czech Republic in Prague (Table 1). Secalins fractions were isolated from rye 2-chlorethanol extract. Storage proteins were extracted from the endosperm of mechanical homogenized grains. 10 µl of each sample was loaded into polyacrylamide gel. Electrophoretic separation of secalins was conducted by the standard reference electrophoretic method by ISTA (Draper, 1987). Separation was performed using analytical electrophoresis at pH 3.1 (A-PAGE). Electrophoresis was carried out at constant electric current 10 mA, 500V, 50W for approximately 14 hours.

Table 1 List of 15 rye cultivar, their country of origin and Taxone used for A-PAGE analyses

Genotype	Country of origin	Taxone
Valtické	Czechoslovakia	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
Keřkovské	Czechoslovakia	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
České	Czechoslovakia	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
Víglášké	Czechoslovakia	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
Breno	Czechoslovakia	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
Aventino	Czech Republic	<i>S. cereale</i> L.
Selgo	Czech Republic	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>tetraploidum</i> KOBYL
Radomske	Czech Republic	<i>S. cereale</i> L.
České normální	Czech Republic	<i>S. cereale</i> L.
Křmne žito	Czech Republic	<i>S. cereale</i> L.
Tetra start	Union of Soviet Socialist Republics	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>tetraploidum</i> KOBYL
Čerkascanka tetra	Union of Soviet Socialist Republics	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>tetraploidum</i> KOBYL
Voschod 1	Union of Soviet Socialist Republics	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
Golubka	Union of Soviet Socialist Republics	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>
Mnogokoloskaja	Union of Soviet Socialist Republics	<i>S. cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i> var. <i>cereale</i>

Union of Soviet Socialist Republics – SUN

Electrophoreograms were coloured in the mixture containing trichloroacetic acid and Coomassie Brilliant Blue R-250. Electrophoretic profiles were visualized in photo device with a black and white camera with a filter and lenses. Gels were evaluated using documentation and evaluation system Doc-It LS Image analysis UVP. We analysed five grain of each variety (*Secale cereale*). The variety of wheat Chinese spring and Marquis were used as standards. The DocIt-LS software was used for statistical interpretation of the electrophoreograms.

Results and discussion

Rye is important for breeding purposes and for gene introgression in other cereal species like wheat, as a source of favorable agronomic traits. Features such as nutrient efficiency, tolerance of diseases, allowing a reduced usage of pesticides and fertilizers during production. Rye proteins are important for rye bread-making quality and this can be attributed to significant in the content and structure of starch and proteins, which are influenced by harvest year and genotype (Hansen et al., 2003, 2004; Ribeiro et al., 2012).

Table 2 Content of protein electrophoretic subfractions in rye genotypes

Genotype	Country of origin	γ 75k-secalins	ω -secalins	γ 40k-secalins
Valtické	CSK	53.93	37.78	8.28
Keřkovské	CSK	39.39	43.43	17.18
České	CSK	29.60	58.68	17.71
Víglášké	CSK	40.33	27.22	32.44
Breno	CSK	52.68	26.27	21.50
Aventino	CZ	41.46	38.79	19.74
Selgo	CZ	44.35	30.14	25.50
Radomske	CZ	53.62	25.83	20.54
České normální	CZ	25.83	47.17	27.0
Křmne žito	CZ	37.93	40.15	21.91
Tetra start	SUN	35.96	41.39	22.63
Čerkascanka tetra	SUN	22.86	51.56	25.57
Voschod 1	SUN	38.22	39.65	22.13
Golubka	SUN	30.67	42.58	26.74
Mnogokoloskaja	SUN	39.64	38.42	21,93
Min		22.86	25.83	8.28
Max		53.93	58.68	32.44
X		39.10	39.27	22.05
SE, %		10.13	10.17	6.49
VK, %		25.92	25.91	29.43

CSK – Czechoslovakia; CZ – Czech Republic; SUN – Union of Soviet Socialist Republics; min. – minimum; max. – maximum; x – note: average; σ (%) – standard deviation; VK (%) – coefficient of variation

The nutritional and technological quality of grain is a complex variable related to the chemical composition of grain especially with the percentage representation of individual protein fraction which determines the direction of using grains (rye baking process, pharmaceutical use) (Chňápek et al., 2010).

Within fifteen genotypes of rye γ 75k-secalins, ω -secalins and γ 40k-secalins were identified by electrophoretic spectrum. The content of γ 75k-secalins varied from 22.86% (variety Čerkascanka tetra) to 53.93% (genotype Valtické) with an average 39.10%. The proportion of ω -secalins in samples was in an average 39.27%. The largest amount of the subunits was observed in variety České (58.68%) and the lowest one was detected in variety Radomske (25.83%). Our results showed that average representation of γ 40k-secalins was 22.05%, with the highest content in variety Víglašské (32.44%) overleaf with the lowest part of this fraction was detected in Valtické (8.28%) (Table 2).

In report Rumbo et al. (2002), the optimization of a preparative electrophoretic method to fractionate secalins is described. Separation was performed in preparative 7% polyacrylamide gels of 4 cm length at pH 3.1. Preparative electrophoresis at low pH allowed a simple separation of γ - and ω -secalins from crude material under nondenaturing conditions.

Conclusions

The aim of the present work was to describe profiles of storage proteins in fifteen genotypes of *Secale cereale* by A-PAGE. The methodology by ISTA is a suitable method for differentiation of rye genotypes, while storage proteins were separated very well into to γ 75k-secalins, ω -secalins and γ 40k-secalins. In conclusion, it was shown that preparative electrophoresis at pH 3.1 is a useful methodology for the preparation of purified secalins components and for a study of breadmaking quality of rye.

References

- Aliyeva, A., Ojaghi, J., Mehdiyeva, S. 2012. Electrophoretic Profiles of Gliadin Subunits to Evaluate Genetic Diversity of Azerbaijan Synthetic Branched Spike Wheat Accessions. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, vol. 12, no. 10, p. 1343–1349. DOI: [10.5829/idosi.aejaes.2012.12.10.6680](https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2012.12.10.6680)
- Draper, S.R. 1987. ISTA variety committee report of the working group for biochemical tests for cultivar identifikation 1983–1986. *Seed Science and Technology*, vol. 15, p. 431–434. DOI: [10.15258/sst](https://doi.org/10.15258/sst)
- Engles, J.M. M., Rao, V.R., Brown, A.H.D., Jackson, M.T. 2002. *Managing Plant Genetic Diversity*. 487 p. ISBN 9780851995229.
- FAO. 1998. The States of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO: Rome Italy, p. 510.
- Fufa, H., Baenziger, P. S., Beecher, B. S., Dweikat, I., Graybosch R.A., Eskridge, K.M. 2005. Comparison of phenotypic and molecular marker based classifications of hard red winter wheat cultivars. *Euphytica*, vol. 145, no. 1, p. 133–146. DOI: [10.1007/s10681-005-0626-3](https://doi.org/10.1007/s10681-005-0626-3)
- Hansen, H. B., Møller, B., Andersen, S. B., Jørgensen, J. R., Hansen, A. 2004. Grain characteristics, chemical composition and functional properties of rye (*Secale cereale* L.) as influenced by genotype and harvest year. *Journal of Agricultural 122 and Food Chemistry*, vol. 52, no. 8, p. 2282–2291. DOI: [10.1021/issn.0021-8561](https://doi.org/10.1021/issn.0021-8561)
- Hansen, H. B., Rasmussen, C. V., Bach Knudsen, K. E., Hansen, Å. 2003. Effects of genotype and harvest year on content and composition of dietary fibre in rye (*Secale cereale* L) grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 83, no. 1, p. 76–85. DOI: [10.1002/jsfa.1284](https://doi.org/10.1002/jsfa.1284)

- Horszwald, A., Troszyńska, A., Del Castillo, M. D., Zieliński, H. 2009. Protein profile and sensorial properties of rye breads. *European Food Research and Technology*, vol. 229, no. 6, p. 875–886. DOI: [10.1007/s00217-009-1129-6](https://doi.org/10.1007/s00217-009-1129-6)
- Chňápek, M., Gálová, Z., Tomka, M. 2010. Nutričná a technologická kvalita farebných genotypov pšenice letnej formy ozimnej (*Triticum aestivum* L.). *Potravinárstvo*, vol. 1, no. 4, p. 20–25.
- Michalska, A., Ceglinska, A., Amarowicz, R., Piskula, M. K., Szawara-Nowak, D., Zielinski, H. 2007. Antioxidant contents and antioxidative properties of traditional rye breads. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 55, no. 3, p. 734–740. DOI: [10.1021/jf062425w](https://doi.org/10.1021/jf062425w)
- Ribeiro, M., Seabra, L., Ramos, A., Santos, S., Pinto-Carnide, O., Carvalho, C., Igrejas, G. 2012. Polymorphism of the storage proteins in Portuguese rye (*Secale cereale* L.) populations. *Hereditas*, vol. 149, no. 2, p. 72–84. DOI: [10.1111/\(issn\)1601-5223](https://doi.org/10.1111/(issn)1601-5223)
- Rumbo, M., Margheritis, A., Chirido, F., Giorgieri, S., Fossati, C., Añón, M. 2002. Fractionation of secalins and hordeins by preparative electrophoresis at acid pH. *European Food Research and Technology*, vol. 214, no. 3, p. 198–201. DOI: [10.1007/217.1438-2385](https://doi.org/10.1007/217.1438-2385)
- Zielinski, H. 2002. Low molecular weight antioxidants in the cereal grains: A review. *Polish journal of food and nutrition sciences*, vol. 11, no. 1, p. 3–9.



HISTOCHEMICAL HETEROGENEITY OF SECRETORY STRUCTURES IN THE FLOWERS OF *LYSIMACHIA NUMMULARIA* L.

Radchenko Volodymyr, Likhanov Artyr*, Matyashuk Raisa

Institute for Evolutionary Ecology of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ГІСТОХІМІЧНА ГЕТЕРОГЕННІСТЬ СЕКРЕТОРНИХ СТРУКТУР У КВІТКАХ *LYSIMACHIA NUMMULARIA* L.

Радченко Володимир, Ліханов Артур, Матяшук Раїса

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The study of flowers of *Lysimachia nummularia* L. showed that glandular trichomes are formed on the stamen filaments, as well as on the adaxial and abaxial surfaces of the sepals and petals. The polyfunctionality of trichomes in plants *Lysimachia nummularia* are based on the biochemical and anatomical heterogeneity of cells and secretory structures, which are a functional component of the ecological plasticity of the species. Accumulation of phenolic compounds in the tissues of leaves, stems and flowers begins at the early stages of plant development. Secondary metabolites are localized in the cytoplasm of the cells of the upper and lower epidermis of the leaves, in the parenchyma of the stems of brepical plants. A significant amount of condensed polyphenolic compounds are found in cells of the parenchyma of the receptacle, the integumentary tapetum and the epidermis of the petals in the surrounding polysaccharides. They act as a chemical barrier, which slows down the oxidation of phenols. A significant number of pectins and glycans were found in the cells of the glandular trichomes. A certain spatial uneven distribution of polysaccharides in the external secretory structures is established. It is shown that they are concentrated in the basal cells of the legs and are almost completely absent in cells that are directly linked to the secretory head. Their cell walls are thin and almost completely formed by pectins. This creates the prerequisites for easy head breaking along with secretory fillers. Under such conditions, when they are harvested by bees, the risk of premature leakage, oxidation and polymerization of biologically active compounds is reduced. Polysaccharides in the cells of the secretory epithelium can be considered as the basis for the creation of a biopolymer film with bactericidal and fungicidal components that use bees when facing cell nests. It was found out that the cell components of the trichome head are capable of intense autofluorescence in blue, blue-green and green spectrums. The expressed structural and biochemical heterogeneity of micromorphological elements of the secretory system of plants *Lysimachia nummularia* is physiologically and ecologically related to their functions. In our opinion, these functions can be much more complicated than it was thought up to this day. Among these, their direct or indirect participation in the work of systems of extracellular and long-distance signaling, regulation of forage and nesting behavior of insects cannot be excluded.

Keywords: Idioblast; *Lysimachia nummularia* L.; phenols; polysaccharides; stamens; trichomes

*Corresponding author: Artyr Likhanov, Institute for Evolutionary Ecology of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ likhanov.bio@gmail.com

Вступ

Унікальний біохімічний склад секреторних структур рослин роду *Lysimachia* L. є джерелом енергії, незамінних поживних речовин і будівельних матеріалів, які потрібні для вузьких оліголектів роду *Macropis* Panzer (Радченко и Песенко, 1994). Біохімічний склад виділень секреторних структур квіток має виняткове значення для комах-запилювачів, які використовують ці речовини для облицювання стінок комірок.

Відомо, що у квітках і секреторних клітинах головчастих трихом рослин роду *Lysimachia* окрім флоральних ліпідів (Buchmann, 1987), накопичуються амінокислоти, каротиноїди, флавоноїди (Toth, 2012); пальмітинова, міристинова, ліолева, інші кислоти; борнеол, бензофенон, гексадекан, метилевганол (Демид, 2014); терпеноїди і тритерпенові сапоніни (Podolak, 2013). Ліпіди квіток *Lysimachia* аналогічні тим, що виробляються залозою Дюфура у інших видів бджіл. Бджоли використовують багатокomпонентну суміш продуктів секреції епітелію трихом *Lysimachia*, які окрім рослинних олій, містять органічні сполуки, що мають фунгіцидні та антибіотичні властивості. Саме така речовина використовується бджолами роду *Macropis* для облицювання комірок їх гнізд, що будуються у ґрунті. Питання використання бджолами продуктів рослинного походження як будівельного матеріалу з антисептичними властивостями є надзвичайно складним і водночас цілком практичним, тому заслуговує на увагу та потребує детального вивчення. Метою нашої роботи було дослідження гістохімічної гетерогенності секреторних структур *Lysimachia nummularia* L. в аспекті їх значення у взаємодіях із комахами-запилювачами.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на рослинах *Lysimachia nummularia*, які збирали протягом 2014 – 2016 рр. у лісопаркових насадженнях м. Києва. Гістохімічні дослідження секреторних структур проводили на постійних мікропрепаратах (7 – 8 μm) поперечних і поздовжніх зрізів генеративних органів рослин. Якісне визначення вторинних метаболітів, полісахаридів, білків у тканинах виконували за стандартними прописами (Фурст, 1979; Pellicciari and Biggiogera, 2017). Фотодокументацію і обробку отриманих даних виконували в спеціалізованій програмі для аналізу цифрових зображень – Image-Pro Premier 9.0.

Результати та їх обговорення

В умовах Київського Полісся більшість рослин *Lysimachia nummularia* має низький генеративний потенціал і тому популяції даного виду часто представлені вегетативними клонами. Типовим для вербозілля є гейтоногамія, коли запилення відбувається між квітками генетично однакових рослин. Перехресне запилення забезпечують бджоли, яких рослини приваблюють за допомогою специфічних атрактантів. Їх синтез відбувається у спеціальних клітинах членисто-головчастих трихом секреторного типу, що формуються на тичинкових нитках, а також на адаксіальній і абаксіальній поверхнях пелюсток й чашолистиків. Кількість трихом на одиницю площі є мінливою ознакою, яка залежить від умов місцезростання рослин. У елементах квітки найбільше число трихом спостерігається на тичинкових нитках. Головчасті трихоми мають досить складну будову. Вони утворюються з епідермальних клітин. Після периклінального поділу базальна клітина ділиться ще раз або двічі, від чого формується дво- три-, іноді чотириклітинна ніжка. Верхня клітина ділиться антиклінально і утворює багатоклітинну головку трихома. Клітини ніжок трихом біля основи тичинкових ниток досить видовжені, а базальні й середні клітини вкриті товстим шаром кутикули. Поліфункціональність трихом у рослин *Lysimachia nummularia* ґрунтується на біохімічній та анатомічній гетерогенності клітин і секреторних структур, які є функціональною складовою екологічної пластичності виду. Дана специфіка пов'язана із синтезом і локалізацією вторинних метаболітів, а також вільних жирних кислот і полісахаридів. Крім летких речовин і олій, у квітках рослин *Lysimachia nummularia*

синтезується і накопичується значна кількість фенольних сполук. За нашими даними, збільшення вмісту фенолів (кон'югатів оксикоричних кислот, флавоноїдів і конденсованих танінів), тритерпенових сапонінів та терпеноїдів у тканинах листків, стебел і квіток відбувається вже на початкових стадіях їх розвитку. Гістохімічні реакції дозволили виявити, що здебільшого вони локалізовані в цитоплазмі клітин верхнього і нижнього епідермісу. Перші клітини, що заповнюються поліфенольними сполуками (ідіобласти), виявляються в примордіях метамерів і в клітинах апікальної меристеми на відстані 180 – 250 μm від точки росту. У стеблах ювенільних пагонів і квітконіжок групи ідіобластів локалізуються серед клітин паренхіми вздовж провідних пучків (Figure 1, a-c). Слід також зазначити, що в секреторних клітинах виявлено високий вміст білків, які майже відсутні у клітинах-ніжках (Figure 1, i).

На особливу увагу заслуговує розподіл полісахаридів у структурах тканин генеративних органів. Нами визначено, що більшість нерозчинних у спиртах конденсованих поліфенольних сполук, що в значних кількостях містяться у клітинах паренхіми квітколожа, інтегументального тапетума та епідерміса пелюсток, оточені пектинами і зв'язаними з ними іншими полісахаридами (Figure 1, a, d, k). Після гідролізу пектиназою, клітини тканин зав'язі, насінневих зачатків і тичинок, що містили поліфенольні сполуки, більше не виявляли позитивної реакції на полісахариди. Отже, є підстави вважати, що останні є важливою складовою клітин-ідіобластів. Полісахариди огортають поліфеноли і формують капсулу, яка, вірогідно, виконує функцію хімічного бар'єра, що уповільнює процеси їх окиснювання. Значна кількість полісахаридів виявлена також у нерозчинній в спиртах фракції компонентів секреторних каналів (Figure 1, g, вказано стрілкою).

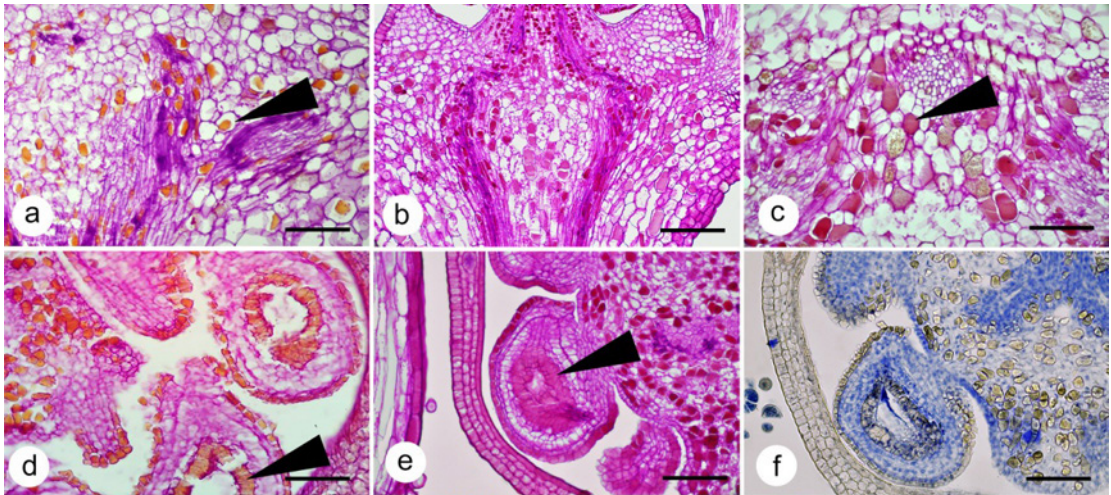


Рисунок 1a – f Локалізація білків і полісахаридів у клітинах та тканинах генеративних органів *Lysimachia nummularia* L.

a, d – локалізація полісахаридів та поліфенолів у стінках зав'язі та тканинах насінневих зачатків після ферментативного гідролізу пектинових речовин; b, e – тканини без попереднього гідролізу; c – реакція ШИК (Шифф-Йодна кислота) на виявлення полісахаридів після обробки тканинами геміцелюлози та ксиланази (стрілка вказує на ідіобласт); f – локалізація білка в тканинах насінневих зачатків

Figure 1a – f Localization of proteins and polysaccharides in the cells and tissues of *Lysimachia nummularia* L. generative organs

a, d – localization of polysaccharides and polyphenols in ovary walls and ovule tissues after enzymatic hydrolysis of pectin substances; b, e – the same without prior hydrolysis; c – PAS reaction to detect polysaccharides after tissue treatment with hemicellulase and xylanase (arrow shows idioblast); f – localization of protein in ovule tissues

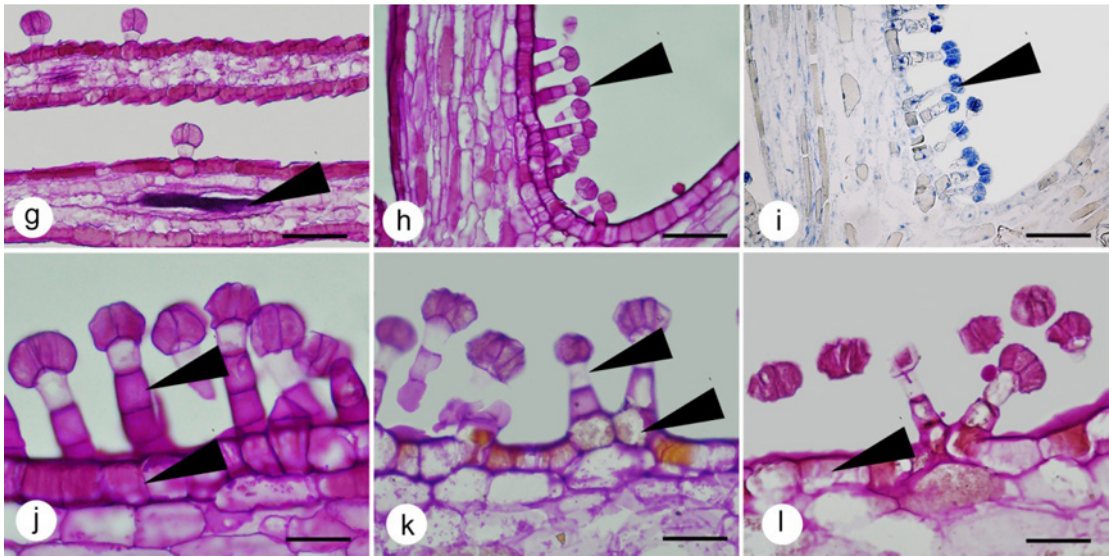


Рисунок 1g – l Локалізація білків і полісахаридів у клітинах та тканинах генеративних органів *Lysimachia nummularia* L.

g – полісахариди в секреторному вмістилищі; h – розподіл полісахаридів у клітинах секреторних трихом; i – локалізація білка в секреторних клітинах; j – накопичення полісахаридів у епідермісі, середніх та базальних клітинах ніжок трихом; k – реакція на полісахариди після ферментативного гідролізу пектинових речовин; l – реакція на полісахариди після ферментативного гідролізу тканин ксиланазою та геміцелюлазою (реакція Шифф-йодна кислота - ШЙК); a, c, d, j, h, i – bar = 100 µm; b, e, f – bar = 200 µm; j, k, l – bar = 40 µm

Figure 1g – l Localization of proteins and polysaccharides in the cells and tissues of *Lysimachia nummularia* L. generative organs

g – polysaccharides in the secretory receptacle; h – distribution of polysaccharides in the secretory, stalk and basal cells of glands; i – localization of protein in secretory cells; j – accumulation of polysaccharides in the epidermis, stalk and basal cells; k – reaction on polysaccharides after enzymatic hydrolysis of pectin; l – reaction on polysaccharides after enzymatic hydrolysis of xylanase and hemicellulase (periodicacid-Schiff – PAS reaction); a, c, d, j, h, i – bar = 100 µm; b, e, f – bar = 200 µm; j, k, l – bar = 40 µm

У головчастих трихомах *Lysimachia nummularia* нами також виявлено значні відкладення полісахаридів. У протопластах клітин-ніжок визначено пектини і геміцелюлози. Втім існує певна просторова нерівномірність їх розподілу у клітинах трихом. Полісахариди зосереджені у 1-й і 2-й базальних клітинах ніжок та майже повністю відсутні у клітині, що знаходиться під головкою (Figure 1, j, h). Важливим є те, що її клітинні стінки дуже тонкі й майже повністю утворені пектиновими речовинами з незначним відкладенням целюлози і ксиланів (Figure 1, j, k). Це створює передумови для легкого відламування головки разом із секреторним наповненням саме в цій частині трихом навіть за умов незначних механічних навантажень. У результаті зменшується можливість витікання, окиснювання і полімеризації біологічно активних сполук через передчасне ушкодження секреторної головки. До складу епітелію секреторних головок *Lysimachia nummularia* також входять пектини і зв'язуючі глікани. Втім їх частка складає приблизно половину від загального пулу полісахаридів, решта яких нами не визначена. Отже, бджоли при збиранні голівок залозистих трихом отримують значну кількість летких сполук, жирних кислот, терпенів і флавоноїдів, а також полісахаридів, що в значній кількості містяться в секреті і можуть виконувати роль полімерної матриці при облицюванні бджолами комірок у гніздах. Визначена структурна особливість розподілу конституційних полісахаридів пояснює механічні властивості клітинних стінок і може

розглядатись як коєволюційне пристосування для можливості ефективного збору рослинної олії бджолами роду *Macropis*. Отже, як справедливо відзначав ще В.В. Попов (1958), бджоли цього роду спряжено еволюціонували з рослинами роду *Lysimachia*.

Висновки

У переважній більшості ідіобластів поліфенольні сполуки оточені полісахаридними капсулами на основі пектинів, ксиланів і геміцелюлоз, які зменшують ймовірність автоінтоксикації клітин через негативний вплив продуктів окиснювання фенолів. Специфічне відкладання і розподіл полісахаридів у клітинних стінках і протопластах ідіобластів, клітин епідермісу і головчастих трихом за наявності відповідних гідролаз створює передумови для їх мобільного перетворення на оліго-, ди- і моносахариди, що забезпечує тканини необхідними для росту і розвитку вуглеводами. Тонкі пектинові стінки середніх клітин ніжки трихоми легко рвуться, і відокремлення голівок відбувається без ушкодження клітин секреторного епітелію. Значне накопичення полісахаридів в клітинах секреторного епітелію може розглядатись як основа для створення полімерної плівки з бактерицидними і фунгіцидними складовими, які використовують бджоли при облицюванні комірок гнізд.

Література

- Buchmann, S. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*, vol. 18, p. 343–369. ISSN 0066-4162.
- Cane, J., Eickwort, G., Wesley, F., Spielholz, J. 1983. Foraging, grooming and mate-seeking behaviors of *Macropis nuda* (Hymenoptera, melittidae) and use of *Lysimachia ciliata* (Primulaceae) oils in larval provisions and cell linings. *The American Midland Naturalist*, vol. 110, no. 2, p. 257–264. DOI: [10.2307/2425267](https://doi.org/10.2307/2425267)
- Pellicciari, C., Biggiogera, M. 2017. Histochemistry of single molecules. *Methods and Protocols*. Humana Press, p. 313–337. ISBN 978-1-4939-6787-2.
- Podolak, I., Koczurkiewicz, P., Michalik, M., Galanty, A., Zajdel, P., Janeczko, Z. 2013. A new cytotoxic triterpene saponin from *Lysimachia nummularia* L. *Carbohydrate Research*, vol. 375, p. 16–20. ISSN 0008-6215.
- Toth, A., Riethmüller, E., Alberti, A., Vegh, K., Kery, A. 2012. Comparative phytochemical screening of phenoloids in *Lysimachia* species. *Eur. Chem. Bull.*, vol. 1, no. 1-2, p. 27–30. ISSN 2063-5346.
- Демид, А.Є. 2014. Компонентний склад ефірної олії вербозілля лучного (*Lysimachia nummularia* L.). *Медична хімія*, т. 16, № 1, с. 58–61. ISSN 1681-2557.
- Попов, В.В. 1958. Особенности сопряженной эволюции *Macropis*, *Epeoloides* (Hymenoptera, Apoidea) и *Lysimachia* (Primulaceae). *Энтомологическое обозрение*, т. 37, вып. 3, с. 499–519.
- Радченко, В.Г., Песенко, Ю.А. 1994. *Биология пчел* (Hymenoptera, Apoidea). Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН. 350 с.
- Фурст, Г.Г. 1979. *Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей*. Наука, с. 40–65.



RESULTS OF SELECTION OF WINTER DURUM WHEAT IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA

Rotary Silvia*, Lyatamborg Svetlana

Institute of Genetics, Physiology and Plants Protection, Academy of Sciences of Moldova, Chisinau

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ В РЕСПУБЛИКЕ МОЛДОВА

Ротарь Сильвия, Лятамборг Светлана

Received 12. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

In such a way, using interspecific and intraspecific hybridizations, was created value sources of material for selection of hard winter wheat. By the way of repeated selections, there have been selected from hybrid combinations, highly productive and short – stalk lines which differ between them by high winter hardiness and other value economic and biological characters. All these lines have been studied into various experiences of the selection process (in breeding control and competitive nurseries). The grain yield of the best forms selected from various hybrids have varied from 3.4–4.4 t/ha that has been with 0.1–0.9 t/ha more than check variety. Because of work of many years, the plant breeder of our country has created new varieties of this valuable culture that are characterized by good winter hardiness, productivity and the resistance to mealy dew, rust and fusarial diseases. New varieties: Auriu 273, Hordeiforme 333, 335, 340, Auriu 1, 2, 3 are of interest for cultivation in the fields of Republic Moldova and as valuable donors in the process of hybridization and creation of new varieties. On the average, for 4 years the grain yield of these varieties was 3.1–4.9 t/ha. Characteristic of presented varieties was a good winter hardiness, average ripeness, resistance to diseases and to lodging, high technological indexes and others. They have a large grain of amber-yellow color containing a high percent of protein (13–15%) and gluten (25–30%). At present 4 (four) sorts (Auriu 273, Hordeiforme 333, 335, 340) are zoned in the Republic of Moldova. Our sorts and forms of hard winter wheat with high productivity have got a big practical value for selection in Moldova. Based on above said, it is possible to draw a conclusion that most of our sorts created by us can be used in crossings as sources and donors of one or a few economic valuable characters and features.

Keywords: winter durum wheat; selection; hybridization; productivity; quality of grain; cultivars

Введение

Озимая твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.) сравнительно молодая культура, созданная в результате межвидовой и внутривидовой гибридизации. Зерно этой культуры незаменимо в производстве высококачественных макаронных изделий. Используют ее довольно широко в хлебопекарной, крупяной и в кондитерской промышленности. Недостатками форм озимой твердой пшеницы препятствующих получению урожая зерна, равного озимой мягкой

*Corresponding author: Silvia Rotary, Institute of Genetics, Physiology and Plants Protection, Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, ✉ rotari.1960@mail.ru

пшеницы, является слабая их зимостойкость, низкая продуктивная кустистость и сравнительно мелкий колос (Буюкли, 1976; Мудрова, 2014).

Твердая пшеница по своей значимости среди всех видов пшеницы является второй культурой после мягкой и занимает в мире около 18 млн. га или 10 % от всех посевов пшеницы.

Для озимой твердой пшеницы в Молдове зимостойкость и морозостойкость является одним из важнейших биологических свойств, потому что минимальная температура на глубину залегания узла кущения может снижаться до -15 ... -20 °C. В морозные зимы наблюдается гибель растений, что приводит к изреживанию посевов и, как следствие, снижается урожайность зерна. Среди признаков, обеспечивающих адаптивность сортов озимой твердой пшеницы зимостойкость является определяющим, так как в геноме *Triticum durum* Desf гены зимостойкости изначально отсутствовали (Palade, 2008, 2010; Rotari, Veverita, 2013). Зимостойкость сортов озимой твердой пшеницы детерминируют гены озимой мягкой пшеницы. Продуктивность является главным критерием эффективности селекционной работы любой с/х культуры, в том числе и озимой твердой пшеницы. Выведение нового сорта с максимально возможным уровнем продуктивности является главной задачей современной селекции (Ермакова, 2009; Rotari, 2013).

Основная цель наших исследований – изучить, выделить и создать исходный материал для селекции растений на морозостойкость и продуктивность и в конечном счете вывести сорта озимой твердой пшеницы, сочетающие высокую продуктивность с морозостойкостью и другими хозяйственно-ценными признаками и свойствами.

Матеріали та методи

Опыты были заложены на полях Института Генетики, Физиологии и Защиты Растений Академии наук, Республика Молдова. Для создания и улучшения новых форм озимой твердой пшеницы использовали межвидовые и внутривидовые скрещивания. В качестве исходного материала были взяты районированные сорта озимой твердой и мягкой пшеницы нашей селекции и самые хорошие сорта из мировой коллекции. В качестве стандарта мы использовали сорт Гордейформе 335. Учетная площадь делянки в селекционном питомнике – 0,6 м², в контрольном питомнике – 5 м² и в конкурсном питомнике – 10 м². Посев произвели в третьей декаде сентября. Всходы появились через 7 – 8 дней, а кущение – в третьей декаде ноября. В онтогенезе проводились фенологические наблюдения. Были отмечены фазы кущения, выхода в трубку, колошение, цветение, созревание и др. Уборка конкурсного испытания и контрольного питомника выполнялась в один день комбайном «САМПО». Произведен учет продуктивности каждого нового генотипа и сорта.

Результати та їх обговорення

В целях создания более продуктивных зимостойких и неполегающих форм и сортов озимой твердой пшеницы с длинным многоколосковым колосом и крупным зерном, которые бы по комплексу биологических особенностей и хозяйственных признаков были на уровне лучших сортов озимой мягкой пшеницы, проводили межвидовые и внутривидовые скрещивания. Путем многократных отборов выделены из гибридных комбинаций высокопродуктивные низкостебельные линии, которые отличаются хорошей зимостойкостью, устойчивостью к мучнистой росе, ржавчине и фузариозу.

В последние годы в селекционном питомнике было изучено большое число линий (30 000) из межвидовых и внутривидовых гибридов. В результате всех испытаний мы отобрали 400 низкостебельных линий, которые отличаются хорошей продуктивностью, зимостойкостью и другими ценными хозяйственно-биологическими признаками. Эти формы в последующие годы были изучены в контрольном и конкурсном испытаниях.

Как видно из данных таблицы, урожай зерна лучших форм, выделенных из различных гибридов, составил 3,4 – 4,4 т/га, что на 0,1 – 0,9 т/га больше стандарта (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1 Характеристика линий озимой твердой пшеницы в конкурсном сортоиспытании
Table 1 Characteristics of the lines of winter durum wheat in competitive variety testing

Гибридная комбинация	Устойчивость			Урожайность т/га	± ст. т/га
	зимостойкость	бурая ржавчина	септориоз		
Ауриу 1	5	1	2	3,5	–
Ауриу 2	5+	0	2	3,9	+0,4
Ауриу 3	5+	1	1	3,9	+0,4
Горд. 333/Горд. 335	5	2	2	3,4	-0,1
Омраби/Днепрянка	5	2	1	3,9	0,4
ИО Кристалл 2	5+	0	2	4,4	0,9
Горд. 335/1162 (Болгария)	5	1	2	3,8	+0,3
Горд. 335/(1162/Ауриу 273)	5	2	2	3,8	+0,3
Горд. 335, стандарт	4	2	2	3,5	–

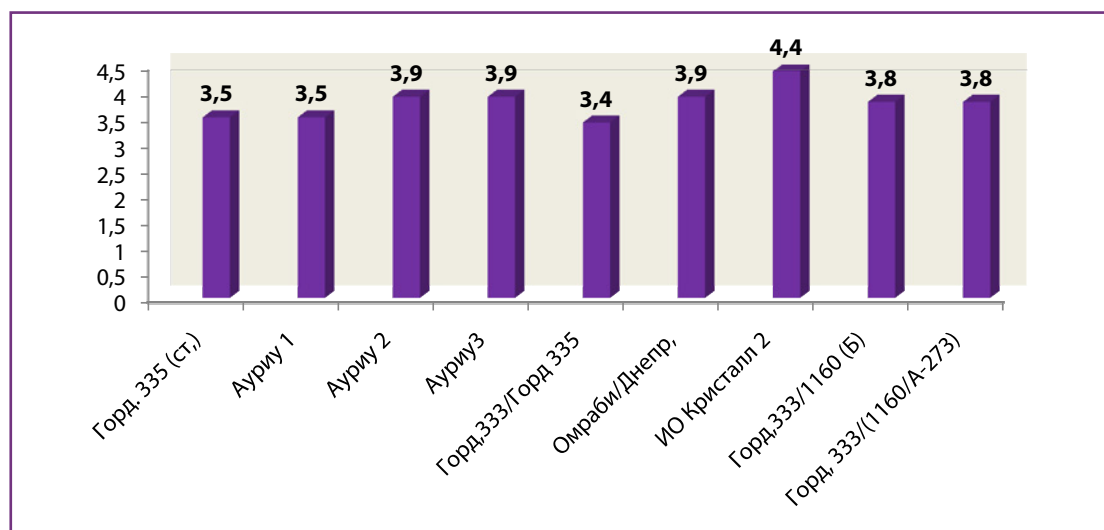


Рисунок 1 Урожай зерна лучших линий конкурсного сортоиспытания, т/га
Figure 1 Grain harvest of the best lines of competitive variety testing, t/ha

Изучение новых линий в контрольном и конкурсном питомниках позволило нам выбрать некоторые из них, которые превосходят самые лучшие сорта по продуктивности и устойчивости к абиотическим и биотическим факторам среды. В результате всей этой работы в последние годы были созданы сорта озимой твердой пшеницы: Ауриу 1, 2, 3. Характерной особенностью приведенных сортов является хорошая зимостойкость, среднеспелость, устойчивость к болезням и полеганию, высокие технологические показатели и другие. Они

имеют крупное зерно янтарно-желтого цвета, содержащее высокий процент белка (13 – 15 %) и клейковины (25 – 30 %).

В результате многолетней работы селекционеров нашей страны за последнее время были созданы много сортов этой ценной зерновой культуры с хорошей зимостойкостью, продуктивностью и другими хозяйственно-ценными признаками. В настоящее время 4 сорта районированы в Республике Молдова (Гордейформе 333, 335, 340 и Ауриу 273). У этих сортов озимой твердой пшеницы в последние 4 года урожай составил 3.1 – 4.9 т/га (рис. 2). Новые сорта: Ауриу 273, Гордейформе 333, 335, 340, Ауриу 1, 2, 3 представляют интерес для возделывания в сельском хозяйстве, как ценные доноры в гибридизации и селекции пшеницы для создания новых сортов.

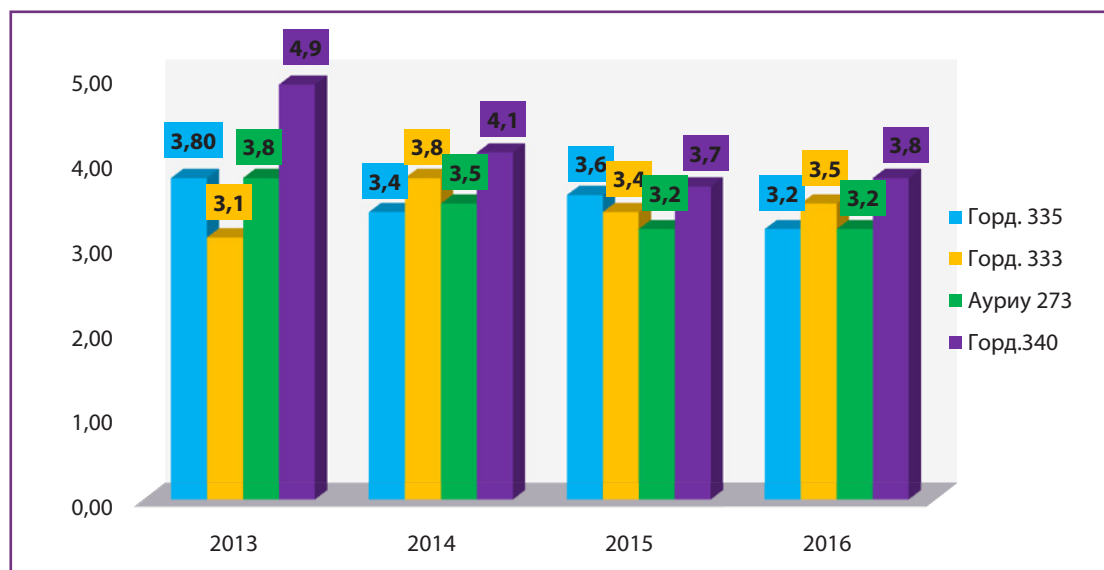


Рисунок 2 Продуктивность наших районированных сортов в последние 4 года (2013 – 2016), т/га
Figure 2 Productivity of our regionalized varieties in the last 4 years (2013–2016), t/ha

Выделившиеся по высокой продуктивности сорта озимой твердой пшеницы представляют большую практическую ценность для селекции в Молдове. Исходя из выше сказанного, можно сделать вывод о том, что большинство созданных нами сортов могут быть использованы в скрещиваниях как источники и доноры одного или нескольких хозяйственно-ценных признаков.

Висновки

Методами межвидовой и внутривидовой гибридизаций создан ценный исходный материал для селекции озимой твердой пшеницы. Путем многократных отборов выделены из гибридных популяций высокопродуктивные низкостебельные линии, которые отличаются хорошей зимостойкостью и другими ценными хозяйственными и биологическими признаками. В результате многолетней работы селекционеров нашей страны за последнее время выведен ряд новых сортов этой ценной культуры, которые отличаются высокой зимостойкостью, продуктивностью и другими ценными биолого-хозяйственными признаками. В настоящее время 4 сорта (Ауриу 273, Гордейформе 333, 335, 340) районированы в Республике Молдова. Новые сорта: Ауриу 273, Гордейформе 333, 335, 340, Ауриу 1, 2, 3 представляют интерес

для возделывания в сельском хозяйстве и как ценные доноры в гибридизации и селекции пшеницы с целью создания новых сортов.

Література

- Palade, N. 2008. Grâul durum de toamnă în condițiile climaterice extremale ale anilor 2006–2007. *Lucrări științifice UASM*, vol. 20, p. 72. CZU 016: 378.663.
- Palade, N. 2010. Grâul durum de toamnă în condițiile climatice contrastate ale anilor 2007–2008. *Știința agricolă. UASM*, no. 1, p. 122. ISSN 1857-0003.
- Rotari, S. 2013. Productivitatea și calitatea boabelor de grâu durum de toamnă. *Mat. Conf. Inter. Impactul realizărilor științifice asupra producției și calității cerealelor spicoase*, Republica Moldova, Bălți, p. 56–62. ISBN 978-9975-53-224-2.
- Rotari, S., Veverita, E. 2013. Rezistența grâului durum de toamnă la iernare, secetă, cădere și boli. *Materialele Simpozionului Științific Internațional "Agricultura Modernă - Realizări și Perspective" consacrat aniversării de 80 de ani de la Înființarea Universității Agrare de Stat din Moldova*, Agronomie și Ecologie, vol. 39, p. 290–93. ISBN 978-9975-64-250-7.
- Буюкли, П. 1976. *Селекция озимой твердой пшеницы в Молдавии*. Кишинев: Штиинца, 162 с. ISBN 9975-64-033-8.
- Ермакова, Н. 2009. Особенности развития формирования урожая и качества зерна озимой твердой и тургидной пшеницы в Лесостепи ЦПС: автореф. дисс. кандидата с.-х. Наук. Воронеж. 23 с.
- Мудрова, А. 2014. *Селекция озимой твердой пшеницы на Кубани*. Краснодар: КНИИСХ, 190 с.



PRODUCTIVE QUALITY AND DIGESTIBILITY OF NUTRITIVE SUBSTANCES IN THE ORGANISM OF BUNCHES AT THE USE OF FIRE POW

Savchuk Ivan^{1*}, Stepanenko Valentina², Pavliuk Nadiia²

¹Institute of Agriculture Polesie National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Zhitomir, Ukraine

²Zhytomyr National Agroecological University, Zhitomir, Ukraine

ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА И ПЕРЕВАРИМОСТЬ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ БЫЧКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПЕЛЮШКИ

Савчук Иван, Степаненко Валентина, Павлюк Надежда

Received 11. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

The results of scientific research on the solution of the problem of protein supply to young cattle for growing and fattening in the Polesie of Ukraine at the expense of local high-protein feed – peliushki (pea of the field) are summarized. Scientific and production experiments were conducted on the bulls of Ukrainian black-and-white dairy breed in the physiological court of the Institute of Agriculture of Polesye of the National Academy of Sciences of Ukraine. In two experiments, rations for experimental steers of control and experimental groups were the same for energy supply, protein, mineral substances and vitamins. The animals of the control groups received feeds in which the lack of digestible protein was provided by feeding the sunflower meal (0.64–0.97 kg/head/day). In the experimental groups, for the balancing of the rations of feeding young cattle for protein, the grain of peas of the field (natural) (0.85 kg/head/day) and extruded (1.03 kg/head/day) was used. The data of the conducted research experiments indicate that the introduction of different high protein feeds into rations of bulls to ensure the optimal level of digestible protein positively affects the productive qualities of animals. Optimization of rations of feeding of bull-calves on digestible protein due to natural and extruded grain of pea field in comparison with sunflower meal helps to increase daily average weight gain of animals by 2.4–6.8% and decrease in feed costs per unit of growth by 0.4–4.4%. The inclusion of peas in the field of the ration of young cattle in comparison with sunflower meal promotes better digestibility of crude protein by 2.8% and lack of extractives by 2.9%. The deposition of nitrogen in the body of the bull-calves of the experimental group relative to the received food and digested was, respectively, 0.8 and 2.3%, than in the control.

Keywords: gobies; pea of the field; sunflower meal; digestible protein; live weight; average daily weight gain Digestibility

Введение

Протеиновое обеспечение кормовой единицы в зоне Полесья Украины за последние годы не превышает 80 – 82 г. При этом валовой дефицит протеина составляет 18 – 20 % к потребности. Вследствие этого ежегодные перерасходы кормов при производстве животноводческой продукции исчисляются в десятках тысяч тонн кормовых единиц. Несбалансированность

*Corresponding author: Ivan Savchuk, Institute of Agriculture Polesie National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Zhitomir, Ukraine, ✉ stepanenko_64@list.ru

протеинового питания приводит к перерасходу кормов при производстве говядины в 1,65 раза по сравнению с полноценным кормлением (Богданов, 1986; Снітинський та ін., 2004). Поэтому поиск путей решения проблемы белка за счет изыскания новых источников высококачественного протеина и повышения питательной ценности традиционных кормов является актуальным.

Практика зарубежных развитых стран и лучших хозяйств Украины показывает, что проблему кормового белка лучше всего преодолевают за счет бобовых культур, которые накапливают протеина значительно больше, чем другие растения (Зубець та ін., 2010). Вместе с тем, в последние годы в полесских областях Украины начали массово выращивать пелюшку – горох полевой. Питательность 1 кг зерна пелюшки составляет 1,16 – 1,24 кормовых единиц с содержанием 194 – 207 г переваримого протеина (Савченко та ін., 2007).

Поэтому целью наших исследований было сравнительное изучение эффективности использования пелюшки (в натуральном и экструдированном виде) со жмыхом подсолнечным (завезенным в зону Полесья) при производстве говядины.

Материалы и методы

Научно-производственные опыты проведены на бычках украинской черно-пестрой молочной породы на физиологическом дворе Института сельского хозяйства Полесья НААН Украины. Группы подопытных животных формировались по методу пар-аналогов с учетом возраста, живой массы, интенсивности роста (Овсянніков, 1976). Исследования проведены в условиях стойлового периода при привязном содержании животных по следующей схеме (табл. 1).

Таблица 1 Схема научно-производственных опытов
Table 1 Scheme of scientific and industrial experiments

Группы животных	К-во голов в группе	Особенности кормления животных в опытном периоде	Доля переваримого протеина в рационе за счет высокопротеиновых кормов, %
Контрольная (1х)	7	ОР (3х) (грубые, сочные, концентрированные и минеральные корма) + жмых подсолнечный	22,3
Опытная (1х)	7	ОР + дерть пелюшки натуральной	26,0
Контрольная (2х)	6	ОРххх (грубые, сочные, концентрированные и минеральные корма) + жмых подсолнечный	24,9
Опытная (2хх)	6	ОР + дерть пелюшки экструдированной	25,1

№ опыта: 1х – длительность опытного периода 92 дня; 2х – длительность опытного периода 122 дня;
3х ОР – основной рацион.

В двух опытах рационы для подопытных бычков контрольных и опытных групп были одинаковыми по набору кормов, энергетической питательности, обеспеченности протеином, минеральными веществами и витаминами.

Животные контрольных групп получали корма рационов, в которых недостаток до нормы переваримого протеина обеспечивали за счет скармливания жмыха подсолнечного (0,64 – 0,97 кг/гол/сутки). Для балансирования рационов кормления молодняка крупного рогатого скота по протеину в опытных группах использовали пелюшку натуральную (0,85 кг/гол/сутки) и экструдированную (1,03 кг/гол/сутки).

Результаты и их обсуждение

Данные проведенных научно-исследовательских экспериментов свидетельствуют о том, что ввод в кормовые рационы бычков разных высокобелковых кормов для обеспечения оптимального уровня переваримого протеина положительно влияет на продуктивные качества животных (табл. 2).

Таблица 2 Показатели продуктивности подопытных бычков

Table 2 The productivity of the experimental steers

№ опыта	Группы бычков	Среднесуточные привесы, г			Затраты кормов на 1 кг привеса, корм. ед.		
		M ± m	± к контролю		M	± к контролю	
			г	%		г	%
1	контрольная	862 ± 63	–	–	7,91	–	–
	опытная	883 ± 47	+21	+2,4	7,88	-0,03	-0,4
2	контрольная	938 ± 29	–	–	8,67	–	–
	опытная	1002 ± 36	+64	+6,8	8,29	-0,38	-4,4

При скормливании контрольным бычкам жмыха подсолнечного, а животным опытной группы – дерти пелюшки натуральной в первом опыте существенной разницы в привесах живой массы не установлено (862 – 883 г) при практически одинаковых затратах кормов на 1 кг привеса (7,88 – 7,91 корм. ед.).

Использование в рационах растущего молодняка крупного рогатого скота дерти экструдированной пелюшки (опыт 2) способствовало получению более высоких среднесуточных привесов живой массы (на 64 г, или 6,8 %) по сравнению с аналогичными показателями контрольных животных, которым давали жмых подсолнечный. Затраты кормов на 1 кг привеса живой массы бычков контрольной группы были больше на 0,38 кормовых единиц, или на 4,6 % относительно аналогов опытной группы.

Результаты убойных качеств животных свидетельствуют о том, что достоверной разницы в показателях убойного выхода, выхода мяса и его энергетической ценности с трехреберного отруба в зависимости от белкового корма в рационе не установлено. Однако, незначительно больше оказался выход мяса и его калорийность у молодняка контрольной группы.

Переваримость кормов – это второй этап после потребления и очень важный при оценке эффективности использования тех или иных новых кормов, которые внедряются в производстве для кормления животных. Исходя из этого, в первом опыте, где изучали использование жмыха подсолнечного и дерти натуральной пелюшки, был проведен балансовый опыт по переваримости питательных веществ и балансу азота.

Анализ результатов обменного опыта показал, что переваримость питательных веществ исследуемых кормов рационов бычками обеих групп была на достаточно высоком уровне (табл. 3).

Таблица 3 Переваримость питательных веществ кормов рационов подопытными животными, % ($n = 3$; $M \pm m$)

Table 3 Nutrient digestibility of feed rations in experimental animals, % ($n = 3$; $M \pm m$)

Питательные вещества	Группы	
	контрольная	опытная
Сухое вещество	57,9 $\pm$ 1,4	57,7 $\pm$ 1,1
Органическое вещество	60,4 $\pm$ 1,3	60,0 $\pm$ 0,9
Сырой протеин	61,9 $\pm$ 2,5	64,7 $\pm$ 1,7
Сырой жир	68,5 $\pm$ 4,5	68,0 $\pm$ 8,7
Сырая клетчатка	50,9 $\pm$ 1,0	47,8 $\pm$ 1,9
БЭВ	64,9 $\pm$ 1,6	67,8 $\pm$ 2,5

Использование натуральной пелюшки в качестве высокобелкового корма к рациону молодняка крупного рогатого скота на откорме сравнительно со жмыхом подсолнечным способствовало лучшей переваримости сырого протеина (на 2,8 %) и БЭВ (на 2,9 %) при недостоверной разнице ($P < 0,95$). Несколько хуже переваривали сырую клетчатку (на 3,1 %, $P < 0,95$) бычки опытной группы, нежели их аналоги из контрольной, при почти одинаковых показателях сухого (57,7 – 57,9 %) и органического веществ (60,0 – 60,4 %) и сырого жира (68,0 – 68,5 %).

Данные изучения баланса азота в организме подопытных животных свидетельствуют об отсутствии каких-либо существенных различий между бычками контрольной и опытной групп (табл. 4).

Таблица 4 Среднесуточный баланс азота у подопытных животных, г

Table 4 The average daily nitrogen balance in experimental animals, g

Показатели	Группы	
	контрольная	опытная
Принято с кормами	187,71	180,45
Выделено с калом	63,96 $\pm$ 3,45	63,33 $\pm$ 2,81
Переварено	123,75	117,12
Выделено с мочой	37,68 $\pm$ 2,87	32,89 $\pm$ 1,71
Всего выделено	101,64	96,22
Отложено в теле: г	86,07 $\pm$ 1,88	84,23 $\pm$ 3,09
% к принятому	45,9	46,7
% к переваренному	69,6	71,9

Баланс азота у молодняка крупного рогатого скота обеих групп был положительным. Однако животные опытной группы сравнительно с контрольными аналогами несколько меньше откладывали азота в теле – на 2,1 % (84,23 против 86,07 г). Но если сравнивать относительные показатели эффективности использования азота, так в теле бычков опытной группы его

отложилось больше относительно к принятому и переваренному, соответственно, на 0,8 и 2,3 %, нежели в контрольной группе.

Таким образом, потребление молодняком крупного рогатого скота гороха полевого оказало положительное влияние на переваримость питательных веществ в их организме и усвоение азота.

Выводы

Оптимизация рационов кормления бычков на откорме по переваримому протеину (согласно существующих норм) за счет натурального и экструдированного зерна гороха полевого сравнительно со жмыхом подсолнечным способствует повышению среднесуточных привесов живой массы животных на 2,4 – 6,8 % и снижению затрат кормов на единицу прироста на 0,4–4,4 %. Включение пелюшки в качестве высокобелкового корма в состав рациона молодняка крупного рогатого скота сравнительно со жмыхом подсолнечным способствует лучшей переваримости сырого протеина на 2,8 и БЭВ на 2,9 %. Отложение азота в теле бычков опытной группы относительно к принятому и переваренному было больше, соответственно, на 0,8 и 2,3 %, чем в контроле.

Литература

- Богданов, Г.О., Караващенко, В.Ф., Зверев, А.Л. та ін. 1986. *Довідник по годівлі сільськогосподарських тварин*. Вид.-во Урожай. 488 с.
- Снітинський, В.В., Яремко, Р.М., Кружель, Б.Б. 2004. Протеїнове живлення молодняку великої рогатої худоби. *Вісник аграрної науки*, № 12, с. 25–29.
- Зубець, М.В. та ін. 2010. *Наукові основи агропромислового виробництва в зоні Полісся і західному регіоні України*. Київ: Изд-во Аграрна наука. 944 с. ISBN 978-966-540-292-3.
- Савченко, Ю. та ін. 2007. Зерно пелюшки: його кормова ефективність. *Тваринництво України*, № 5, с. 37–39. ISBN 0321-1525.
- Овсянников, А.И. 1979. *Основы опытного дела в животноводстве*. Москва: Изд-во Колос. 304 с.



THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN THE LEAVES OF *GALEGA OFFICINALIS* L. AND *GALEGA ORIENTALIS* LAM. CULTIVARS

Shymanska Oksana, Vergun Olena*, Rakhmetov Jamal, Fishchenko Valentyna

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The present study aims to investigate the differences in leaf pigment content of plants of cultivars of *Galega* L. species. Plant raw material was collected in the spring vegetation stage, budding stage, flowering stage, and fruitage. Biochemical analyze of determination of pigments content was carried out with fresh mass of leaves (100 mg) of cultivars of *Galega officinalis* L. and *Galega orientalis* Lam. It was conducted the extraction of pigments in acetone. Obtained acetone extracts of leaves were prepared according to Musienko et al. (2001) and measured at wavelengths 662 nm (chlorophyll *a*), 644 nm (chlorophyll *b*) and 440 nm (carotenoids). To calculate concentration (mg% of fresh mass) of pigments was applied the equation of Holm-Wettstein. It was found the maximal sign of chlorophyll *a* in the acetone extracts of *Galega orientalis* cv. NBS-75 (2.38 mg%) at the flowering stage and minimal – in the leaves of *Galega officinalis* cv. Harant (1.20 mg%) at the fruitage. Highest level of chlorophyll *b* concentration was identified for *Galega orientalis* cv. NBS-75 (0.58 m%) at the flowering stage and lowest – for *Galega orientalis* cv. Kavkazskiy branets (0.19 mg%) at the spring vegetation period. As result, maximal accumulation of carotenoid concentration observed in the leaves of the plants of *Galega orientalis* cv. NBS-75 (1.05 mg%) at the flowering stage and minimal – in the leaves of the plants of *Galega orientalis* cv. Kavkazskiy branets (0.31 mg%) at the spring vegetation period. The results showed the ratio of chlorophylls content (*a/b*) was in range from 3.12 (*Galega orientalis* cv. Kavkazskiy branets at the fruitage) to 10.10 (*Galega orientalis* cv. Saliut at the spring vegetation). Maximal and minimal ratio between chlorophylls and carotenoids content identified for *Galega orientalis* cv. NBS-75 and was in range from 2.40 (budding stage) to 6.79 (spring vegetation stage).

Keywords: *Galega*; chlorophyll *a*; chlorophyll *b*; carotenoids; pigment ratio

Introduction

Physiological indexes quite often use for the characteristic of plant resistance to different factors of environment. Amount of chlorophyll in leaf tissue is influenced by nutrient availability and environmental stresses such as drought, salinity, cold and heat etc. (Palta, 1990).

Galega officinalis L. is widely used in folk medicine as an antidiabetic or for increasing lactation (Shojaee, 2015). This plant has been used for treatment of the plague, malignant fevers, and parasitic infection and was also widely cultivated as cattle feed in ancient times. The ethanolic extracts of *Galega officinalis* were tested against both gram-positive and gram-negative bacteria as the plant was suggested to hasten skin healing after surgery, and the antibacterial effect was shown (Karakas, 2012). Antimicrobial activity of extracts of *Galega officinalis* against bacteria was more

*Corresponding author: Olena Vergun, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ en_vergun@ukr.net

effective than against fungus (Ozbucak et al., 2005). Plant raw material of these plants is rich source or biologically active compounds such as ascorbic acid, lipids, protein, carotene, amino acids etc. (Champavier, 1999; Balezentiene and Mikulioniene, 2006; Vergun, 2012). As reported Peiretti and Gai (2006) dry matter, organic matter, neutral detergent fibre, acid detergent fibre, lignin and gross energy increased during maturation, while the crude protein, ash of *Galega orientalis* decreased with increasing stage.

Moreover, as resulted Balezentiene and Spruogis (2011), biomass of *Galega orientalis* Lam. has better chemical content and metabolizable energy (9.6 MJ/kg) than traditional feed grasses and improved feed value and selective consumption of animal feeds.

Materials and methodology

Investigation was conducted in the laboratory of Cultural flora department of M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine. Plant raw material of two cultivars of *Galega officinalis* and four cultivars of *Galega orientalis* collected during the vegetation period: at spring vegetation, budding stage, flowering stage, and fruitage. It was determined the content of leaf pigments (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids) by spectrophotometric method according to Musienko et al. (2001) in solution of acetone extracts. Work stages: extraction with acetone (100 mg of fresh mass per 20 mL), spectrophotometric measuring at 662 nm (chlorophyll *a*), at 644 nm (chlorophyll *b*) and at 440 nm (carotenoids). Powder of MgCO_3 was added to avoid destruction of pigments. To determine the density of pigment solvent was used a spectrophotometer UNICO 2800. The concentrations of pigments were calculated according to the equation proposed by Holm-Wettstein (Musienko et al., 2001). The results are given in mg per 100 g of fresh mass. Mean values and standard deviations are given in Tables 1–3, Figure 1, 2.

Results and discussion

Chlorophyll content is one of the indices of photosynthetic activity (Larcher, 1995). The chlorophyll is also plays important role in plant physiology and it can be act as nutrition in decline blood sugar conditions, detoxification, digestion and decreasing allergens. Leaf chlorophyll concentration is an important parameter that is regularly measured as an indicator of chloroplast content, photosynthetic mechanism and of plant metabolism. Chlorophylls are an oxidant compounds which are present and stored in the chloroplast of green leaf, stems, and flowers (Kamble et al., 2015)

Leaves of investigated plants accumulated chlorophyll *a* in range from 1.20 to 2.38 mg% during vegetation (Table 1). The experimental results showed in the spring vegetation period, when shoots of plants have started to grow, the concentration of this pigment was in range 1.43–2.04 mg%, in budding period – in range 1.27–2.09 mg%, in flowering stage – in range 1.51–2.38 mg%, in fruitage – in range 1.20–1.88 mg%.

In Table 2 showed values of concentration of chlorophyll *b* in the leaves of investigated cultivars of *Galega officinalis* and *Galega orientalis*. In the start of spring vegetation its sign was in range 0.19–0.50 mg%, in the period of budding – in range 0.31–0.52 mg%, in the flowering stage – in range 0.38–0.58 mg%, in fruitage period – in range 0.24–0.54 mg%. Variation in leaf chlorophyll content can provide information about the physiological condition of a leaf or plant (Larcher, 1995).

Carotenoids play a very important role in the process of photosynthesis. Biosynthesis of carotenoids in plants is a genetic characteristic, but environmental conditions also have an essential role (Bojovic

and Stojanovic, 2005). Also, carotenoid pigments are important for animal organisms and decrease a risk of illness such as cancer, prostate, illness of the cardiovascular system.

Table 1 The content of chlorophyll *a* in the leaves of plants of genus of *Galega* L., mg% per fresh mass

Sample	Spring vegetation	Budding	Flowering stage	Fruitage
<i>G. officinalis</i> cv. Harant	2.04 ±0.07	2.09 ±0.06	1.51 ±0.04	1.20 ±0.02
<i>G. officinalis</i> cv. Flamingo	1.82 ±0.06	2.05 ±0.01	1.87 ±0.08	1.88 ±0.01
<i>G. orientalis</i> cv. Kavkazskiy branets	1.56 ±0.01	1.61 ±0.06	2.00 ±0.19	1.25 ±0.03
<i>G. orientalis</i> cv. Saliut	2.02 ±0.03	1.49 ±0.06	1.88 ±0.06	1.87 ±0.04
<i>G. orientalis</i> cv. NBS-75	1.43 ±0.01	1.52 ±0.07	2.38 ±0.19	1.27 ±0.10
<i>G. orientalis</i> cv. Riabchik	1.92 ±0.04	1.27 ±0.01	1.86 ±0.07	1.66 ±0.07

Table 2 The content of chlorophyll *b* in the leaves of plants of genus of *Galega* L., mg% per fresh mass

Sample	Spring vegetation	Budding	Flowering stage	Fruitage
<i>G. officinalis</i> cv. Harant	0.50 ±0.02	0.50 ±0.09	0.38 ±0.09	0.24 ±0.04
<i>G. officinalis</i> cv. Flamingo	0.42 ±0.02	0.52 ±0.01	0.53 ±0.10	0.44 ±0.07
<i>G. orientalis</i> cv. Kavkazskiy branets	0.19 ±0.01	0.31 ±0.02	0.55 ±0.01	0.40 ±0.03
<i>G. orientalis</i> cv. Saliut	0.20 ±0.02	0.37 ±0.04	0.56 ±0.01	0.53 ±0.08
<i>G. orientalis</i> cv. NBS-75	0.28 ±0.03	0.36 ±0.01	0.58 ±0.12	0.35 ±0.01
<i>G. orientalis</i> cv. Riabchik	0.25 ±0.03	0.31 ±0.02	0.52 ±0.02	0.43 ±0.02

The possible justification could be that chlorophyll *a* is the primary pigment while other pigments including chlorophyll *b* are accessory pigments (Srichaikul et al., 2011; Kamble et al., 2015).

In Table 3 represented data of carotenoid concentration in the leaves of species of genus of *Galega*. Investigated plants accumulated carotenoids in the spring vegetation from 0.31 to 0.88 mg%, in the budding period – from 0.66 to 0.87 mg%, in the flowering stage – from 0.51 to 1.05 mg%, in fruitage period – from 0.57 to 0.85 mg%. The greatest values of carotenoid content were recorded in the flowering stage for plants of *G. orientalis* cv. NBS-75.

Table 3 The content of carotenoids in the leaves of plants of genus of *Galega* L., mg% per fresh mass

Sample	Spring vegetation	Budding	Flowering stage	Fruitage
<i>G. officinalis</i> cv. Harant	0.88 ±0.02	0.85 ±0.02	0.51 ±0.01	0.57 ±0.04
<i>G. officinalis</i> cv. Flamingo	0.80 ±0.02	0.87 ±0.02	0.76 ±0.01	0.81 ±0.01
<i>G. orientalis</i> cv. Kavkazskiy branets	0.31 ±0.03	0.76 ±0.07	0.88 ±0.06	0.60 ±0.03
<i>G. orientalis</i> cv. Saliut	0.34 ±0.07	0.73 ±0.01	0.85 ±0.02	0.85 ±0.03
<i>G. orientalis</i> cv. NBS-75	0.39 ±0.05	0.76 ±0.01	1.05 ±0.04	0.57 ±0.03
<i>G. orientalis</i> cv. Riabchik	0.32 ±0.03	0.66 ±0.01	0.83 ±0.02	0.78 ±0.02

According to Paliy et al. (2011) the content of carotenoids in *Galega officinalis* plants was 6.6 mg% that is 7.5 times more comparing with our maximal sign.

Analyzing data from Figure 1 it should be noted the ratio of chlorophylls concentration was in spring vegetation in range from 4.08 to 10.10, in the budding period – from 3.94 to 5.19, in flowering stage – from 3.36 to 4.11, in fruitage period – from 3.12 to 5.00. According to the majority of investigators, the ratio between chlorophylls *a* and *b* is 3 : 1. The weight ratio of chlorophyll *a* and chlorophyll *b* is an indicator of the functional pigment equipment and light adaptation of the photosynthetic apparatus (Bojovic and Stojanovic, 2005).

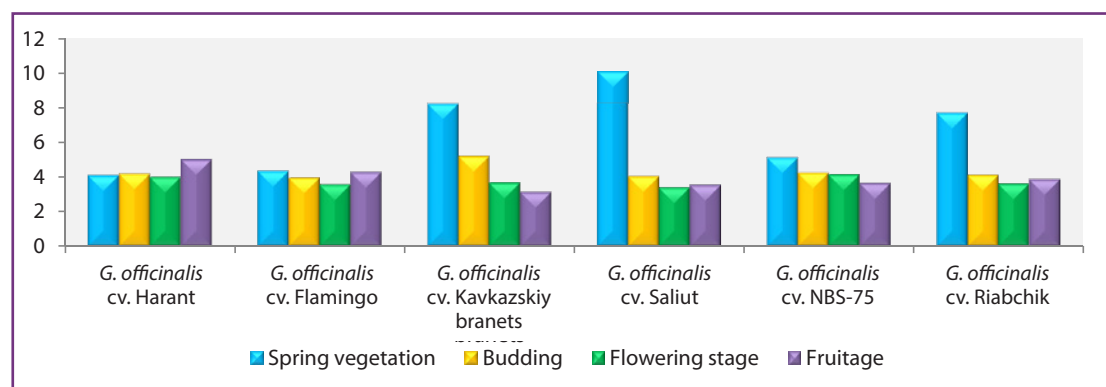


Figure 1 The chlorophyll content ratio *a/b* in the leaves of plants of genus of *Galega* L.

In Figure 2 demonstrated ratio of sum of chlorophylls to carotenoid content during vegetation. At spring vegetation ratio of chlorophylls content to carotenoid content was from 2.80 to 6.79, in budding stage – from 2.40 to 3.05, in flowering stage – from 2.82 to 3.71, in fruitage – from 2.53 to 2.86.

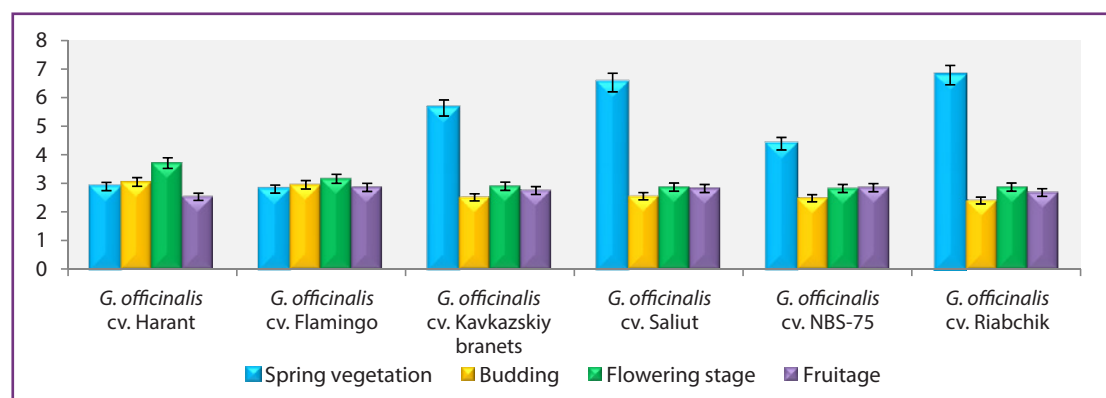


Figure 2 The ratio of the content of the sum of chlorophylls to carotenoids in the leaves of plants of genus of *Galega* L.

According to Penuelas et al. (1995) increasing in the relative concentration of carotenoids are often observed when plants are subjected to stress. The weight ratio of chlorophylls to carotenoids is an indicator of the greenness of plants. It is normally from 4.2 to 5.0 in sun leaves and sun-exposed

plants, and between 5.5 and 7.0 in shade leaves and shade-exposed plants. Lower values of this ratio are an indicator of senescence, stress, and damage to the plant and the photosynthetic apparatus (Brix, 1962).

Conclusions

Thus, in conditions of M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine the plants of cultivars of *Galega officinalis* and *Galega orientalis* accumulated chlorophyll a in the leaves more than chlorophyll b. Obtained data have resulted that for all cultivars of *Galega officinalis* and *Galega orientalis* the chlorophyll a concentration was higher than that of chlorophyll b. In addition, different ratio between a sum of chlorophylls and carotenoid content says about various functional pigment equipment and light adaptation (3.12–10.10 for a/b and 2.40–6.79 for $(a + b)/car$). The most accumulation of chlorophyll a, b and carotenoid concentration was fixed for *G. orientalis* cv. NBS-75 (2.38, 0.58 and 1.05 mg% respectively).

References

- Balazentiene, L., Mikulioniene, S. 2006. Chemical composition of galega mixtures silages. *Agronomy Research*, vol. 4, no. 2, p. 483–492.
- Balazentiene, L., Spruogis, V. 2011. Experience of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.) and traditional fodder grasses use for forage production in organic farm. *Veterinary Medicine and Zootechnic*, vol. 56, no. 78, p. 19–26.
- Bojovic, B., Stojanovic, J. 2005. Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition. *Archives of Biological Sciences*, vol. 57, no. 4, p. 283–290.
- Brix, H. 1962. The effect of water stress on the rates of photosynthesis and respiration in tomato plants and loblolly pine seedlings. *Physiology of Plants*, vol. 15, p. 10–20.
- Champavier, Y., Comte, G., Vercauteren, J., Allais, D.P., Chulia, A.J. 1999. Nortriterpenoid and sesquiterpenoid glucosides from *Juniperus phoenicea* and *Galega officinalis*. *Phytochemistry*, vol. 50, p. 1219–1223.
- Kamble, P.N., Giri, S.P., Mane, R.S., Tiwana, A. 2015. Estimation of chlorophyll content in young and adult leaves of some selected plants. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, vol. 5, no. 6, p. 306–310.
- Karakas, F.P., Yildirim, A., Turker, A. 2012. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turkey Journal of Biology*, vol. 36, p. 641–652. DOI: [10.3906/biy-1203-16](https://doi.org/10.3906/biy-1203-16)
- Larcher, W. 1995. *Ecophysiology and stress physiology of functional groups*. New York: Springer-Verlag, 528 p. ISBN 0-387-58116-2.
- Musienko, M.M., Parshykova, T.V., Slavnyi, P.S. 2001. *Spectrophotometric methods in plant physiology, biochemistry and ecology practice*. Kyiv: Phytosociocentr, 200 p. ISBN 966-7938-09-3.
- Ozbucak, T.B., Erturk, O., Akcin, O.E. 2005. An ecological, anatomical and microbiological investigation on species *Galega officinalis* L. (Leguminosae) in some localities of Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 8, no. 9, p. 1215–1220. DOI: [10.3923/pjbs.2005.1215.1220](https://doi.org/10.3923/pjbs.2005.1215.1220)
- Paliy, A.E., Logvinenko, I.E., Logvinenko L.A., Grebennikova, O.A., Vinogradov, B.A. 2011. Biologically active compounds of *Galega officinalis* L. *Proceedings of the Nikitsky Botanical Garden*, vol. 133, p. 152–159.
- Palta, J.P. 1990. Leaf chlorophyll content. *Remote Sensing Reviews*, vol. 5, no. 1, p. 207–213.
- Peiretti, P.G., Gai, F. 2006. Chemical composition, nutritive value, fatty acid and amino acid content of *Galega officinalis* L. during its growth stage and in regrowth. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 130, issues 3–4, p. 257–267. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.01.007>

- Shojaee, S.S., Vahdati, A., Assaei, R., Sapehrimanesh, M. 2015. Effect of *Galega officinalis* leaf powder and *Trigonella foenum-graecum* seed powder on blood glucose levels and weight gain in a diabetes mellitus rat model. *Comparative Clinical Pathology*, vol. 24, p. 145–148. DOI: [10.1007/s00580-013-1873-7](https://doi.org/10.1007/s00580-013-1873-7)
- Srichaikul, B., Bunsang, R., Samappio, S., Butkhup, S., Bakker, G. 2011. Comparative study of chlorophyll content in leaves of Thai *Morus alba* L. species. *Plant Science Research*, vol. 3, p. 17–20. DOI: [10.3923/psres.2011.17.20](https://doi.org/10.3923/psres.2011.17.20)
- Vergun, O.M., Shymanska, O.V., Rakhmetov, D.B. 2012. Biochemical characteristic of *Galega* L. species in Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine. *Odesa National University Gerald. Biology*, vol. 17, no. 3 (28), p. 43–50.
- Vorobei, V.S., Kovalevska, T.M., Rakhmetov, D.B. 2007. The influence of Rhizobium galegae strains on the development of plants of *Galega officinalis* at first and second year of cultivation. *Agricultural microbiology*, vol. 6, p. 113–122. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/23795>



PATHOGENETIC FEATURES OF VASCULAR-ENDOTHELIAL DISFUNCTION OF PATIENTS WITH A PEPTIC GASTRIC AND DUODENUM ULCER COMPARING WITH A HYPERPIESIS AND DIABETES MELLITUS 2, WAYS OF CORRECTION

Sithinska Inna

HESEU «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СУДИННО-ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ХВОРИХ НА ПЕПТИЧНУ ВИРАЗКУ ШЛУНКА ТА ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ У ПОЄДНАННІ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ І ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ТИПУ 2, ШЛЯХИ КОРЕКЦІЇ

Сіцінська Інна

Received 26. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The influence of *Helicobacter pylori* strains leads to changes in lipid profile and content of the adhesion molecules in patients with gastric ulcer and duodenal ulcer in combination with diabetes and hypertension type 2. Correction which is carried out antihacker drugs and a diet that includes flax seed, which has not only the function of healing, but also improve lipid metabolism and antioxidant effect. The purpose of this study was to evaluate the vascular endothelial function in patients with peptic ulcer of stomach and duodenal ulcers combined with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2 with subsequent correction. Considering the change of the disturbances of lipid profile and content of the adhesion molecules in addition to offered diet in this disease it is necessary to take flax seeds in the form of tinctures, fruit drinks etc. The main properties of which is to improve peristalsis, the saturation of the organism with various amino acids, manganese, potassium, magnesium and essential fatty acids omega-3, omega-6 and omega-9. Lignans present in the shell and play the role of antioxidant system and reduce cholesterol with long-term administration. The increasing of insulin secretion and the development of atherosclerotic process due to increased LDL synthesis, which is regulating by the enzyme lipoprotein lipase (LPL), reduces the concentration of HDL. Minimally oxidized LDL increased expression of adhesion molecules (ICAM, VCAM). Therefore, the pathogenetic relationship of *Helicobacter pylori* with the development of hypertension and type 2 diabetes patients PWS and DPK will reveal the initial changes of the vessels and the endothelium that will help you effectively choose treatment.

Keywords: gastric; ulcer; hypertensis; diabetes; *Helicobacter pylori*

Вступ

За останні роки значно змінилося розуміння механізмів регуляції метаболічних процесів на молекулярно-генетичному рівні, що призвело до перегляду традиційних уявлень

*Corresponding author: Inna Sithinska, HESEU «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine,
✉ sithinska@ukr.net

про клітинну фізіологію. Глибше розуміння патогенезу артеріальної гіпертензії (АГ) та інших супутніх їй захворювань – інсулінорезистентності (ІР), гіперінсулінемії (ГІ), дисліпідемії (ДЛ) (Бабак та ін. 2011), а також невід'ємної ролі інфекції *Helicobacter pylori* у розвитку не лише кардіологічної, але і ендокринологічної патології (Колеснікова та Козирева, 2014).

Підвищення секреції інсуліну ПЗ та розвиток атеросклеротичного процесу обумовлений зростанням синтезу ЛПНЩ, що регулюється ферментом ліпопротеїдліпазою (ЛПЛ), знижує вміст ЛПВЩ. Мінімально окислені ЛПНЩ посилюють експресію молекул адгезії (ICAM, VCAM) (Леонтьева та Колеснікова, 2008). Тому патогенетичний взаємозв'язок *Helicobacter pylori* із розвитком АГ та ЦД 2 у хворих на ПВШ та ДПК дозволить виявити початкові зміни судин та ендотелій, що допоможе ефективно підібрати лікування.

Мета роботи – оцінити стан судинно-ендотеліальної функції у хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2 з подальшою корекцією.

Матеріали та методи

Обстежено 60 хворих на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 серед 20 практично здорових осіб (ПЗО) (група І), 16 хворих – на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 (група ІІ) та з них 24 хворих на ПВШ та ДПК (група ІІІ). Оцінка судинно-ендотеліальної дисфункції проводилась шляхом визначення sVCAM-1 – Bender MedSystems GmbH, (Австрія), оцінкою ліпідного профілю (Росія).

Результати та їх обговорення

Оцінюючи вміст молекули адгезії (sVCAM-1) (рис. 1) у хворих без супутньої патології встановлено, що у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ показник у 3,83 рази, а у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ -у 3,05 рази ($p < 0,05$) перевищував вміст у групі ПЗО ($p < 0,001$). Проте, вміст даного показника у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ у 1,27 рази ($p < 0,05$) вищий у порівнянні з групою хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+.

При наявності супутньої патології вміст sVCAM-1 у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ у 6,87 раз ($p < 0,05$) підвищений у порівнянні з групою ПЗО, а у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ – у 3,37 рази ($p < 0,05$) відповідно. Однак, оцінюючи вплив токсигенних штамів та АГ і ЦД2 на ПВШ та ДПК встановлено, що даний показник у 2,04 рази ($p < 0,05$) підвищений у групі хворих на CagA+VacA+ ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД 2 у порівнянні з групою хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA у поєднанні з АГ і ЦД2.

За результатами дослідження (табл. 1) виявлено, що у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ ТГ у 1,28 рази ($p < 0,05$) перевищував вміст у групі ПЗО, а у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ – у 1,13 рази ($p < 0,05$). Однак, при наявності супутньої патології вміст ТГ у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ у 1,77 рази ($p < 0,05$) перевищував показник ПЗО, а у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ – у 1,3 рази ($p < 0,05$) відповідно. Одночасно із підвищенням ТГ спостерігалось підвищення і ЗХ, що проявлялось збільшенням даного показника у хворих на ПВШ та ДПК при наявності супутньої патології вміст ТГ у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ у 1,47 рази ($p < 0,05$) підвищений порівняно з групою ПЗО та у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ – у 1,34 рази ($p < 0,05$) відповідно. Напротивагу, при підвищенні ТГ, ЗХ спостерігається достовірне зниження вмісту ЛПВЩ. У хворих на ПВШ та ДПК із АГ і ЦД2 CagA+VacA+ вміст ЛПВЩ знижується у 1,56 рази ($p < 0,05$) зменшений у порівнянні з групою ПЗО, а у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ із АГ і ЦД2 – у 1,55 рази ($p < 0,05$) відповідно.

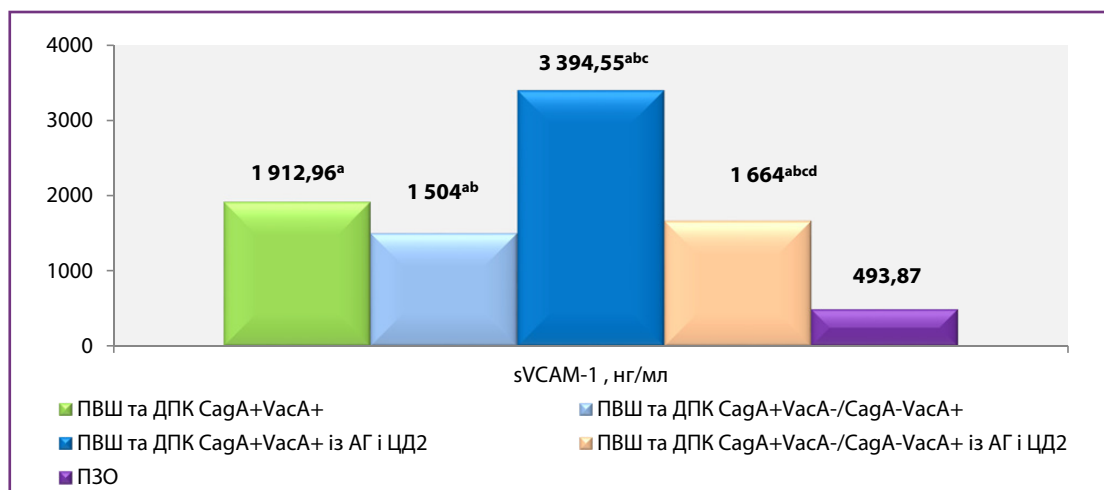


Рисунок 1 Вміст sVCAM-1 в крові при пептичній виразці шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2

a – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї, 2-ї, 3-ї, 4-ї груп з 5-ю групою; b – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї та 4-ї груп; c – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками 2-ї та 4-ї груп; d – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками 3-ї та 4-ї груп

Figure 1 Contents of sVCAM-1 in blood in peptic ulcer and duodenal ulcer in combination with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2

a – authenticity differences ($p < 0,05$) between the indices in the 1st, 2nd, 3rd, 4th group a 5th group; b – reliability differences ($p < 0,05$) between the indices in the 1st and 4th groups; c – reliability of differences ($p < 0,05$) figures between 2nd and 4th groups; d – reliability of differences ($p < 0,05$) between the indicators of the 3rd and 4th groups

Таблиця 1 Показники ліпідного профілю у хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2, $M \pm m$

Table 1 The lipid profile in patients with peptic ulcer of stomach and duodenal ulcers combined with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2, $M \pm m$

Показник	Групи обстежених				
	хворі на ПВШ та ДПК		хворі на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2		ПЗО (5-а група) n =30
	CagA+VacA+ (1-а група) n =28	CagA+VacA-/CagA-VacA+(2-а група) n =20	CagA+VacA+ (3-я група) n =22	CagA+VacA-/CagA-VacA+(4-а група) n =38	
Загальний холестерин, ммоль/л	4,99 ±0,28 ^a	4,66 ±0,27 ^{ab}	6,11 ±0,24 ^{abc}	5,6 ±0,2 ^{abcd}	4,17 ±0,29
Тригліцериди, ммоль/л	170,54 ±8,08 ^a	151,44 ±3,15 ^{ab}	236,90 ±13,14 ^{abc}	173,68 ±5,48 ^{acc}	133,62 ±4,39
ЛПВЩ, ммоль/л	0,93 ±0,09 ^a	1,03 ±0,09 ^{ab}	0,83 ±0,07 ^{abc}	0,86 ±0,04 ^{abcd}	1,33 ±0,13
ЛПНЩ, ммоль/л	2,88 ±0,27 ^a	2,85 ±0,12 ^{ab}	3,51 ±0,14 ^{abc}	3,49 ±0,16 ^{abcc}	2,28 ±0,42
ІА	4,91 ±0,48 ^a	3,81 ±0,55 ^{ab}	6,49 ±0,71 ^{abc}	5,27 ±0,25 ^{abcd}	2,68 ±0,53

a – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї, 2-ї, 3-ї, 4-ї груп з 5-ю групою; b – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї та 4-ї груп; c – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками 2-ї та 4-ї груп; d – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками 3-ї та 4-ї груп

При зниженні вмісту ЛПВЩ спостерігається підвищення ЛПНЩ, який у 1,26 рази у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+ перевищував вміст у групі ПЗО ($p < 0,05$), а у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA-/CagA-VacA+ – у 1,25 рази ($p < 0,05$). Проте, порівнюючи групи хворих на ПВШ та ДПК при різних комбінаціях штамів, достовірного підвищення не відмічалось. При поєднанні із супутньою патологією даний показник підвищувався у 2,62 рази ($p < 0,05$) та у 2,64 рази ($p < 0,05$).

Оцінивши дані показники ліпідного обміну встановлено, що найвищий ІА сягав у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+, що у 1,56 рази перевищував вміст у групі ПЗО ($p < 0,05$) та при наявності супутньої патології у хворих на ПВШ та ДПК CagA+VacA+, що у 1,97 рази ($p < 0,05$) відповідно. Враховуючи зміну порушення ліпідного профілю та вмісту молекули адгезії крім запропонованої дієти при даному захворюванні необхідно приймати насіння льону у вигляді настоек, узварів тощо. Основними властивостями його є покращення перистальтики, насичення організму різними амінокислотами, марганцем, калієм, магнієм і незамінними жирними кислотами Омега-3, Омега-6 і Омега-9. Лігнано, що присутній в оболонці, виконує роль антиоксидантної системи та знижує рівень холестерину при тривалому прийомі.

Висновки

Перебіг ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 обумовлений порушенням ліпідного обміну та молекули адгезії, найбільші зміни виявлені при наявності комбінації штамів CagA+VacA+ (підвищення вмісту sVCAM-1 у 1,27 рази, три гліцерину – у 1,28 рази, ЛПНЩ – у 2,64 рази на фоні зниження ЛПВЩ – у 1,58 рази). Оскільки, основними лікувальними властивостями льону є покращення антиоксидантної системи та ліпідного обміну, а саме нормалізація рівня холестерину при тривалому прийомі. Тому, разом із хелікобактерною терапією, рекомендовано приймати до раціону кожного хворого насіння льону для нормалізації ліпідного обміну, запобігання розвитку ускладнень з боку судинно-ендотеліальної функції.

Література

- Бабак, О., Фадєєнко, Г., Ярмиш, Н., Молодан, В. 2011. Залежність змін показників вуглеводного обміну та антропометричних показників від генотипу гена рецептора AT1R у хворих на артеріальну гіпертензію в поєднанні з інсулінорезистентністю. *Український терапевтичний журнал*, № 2, с. 20–25.
- Колеснікова, О, Козирєва, Т. 2014. Інфекція *Helicobacter pylori* – лише гастроентерологічна проблема? *Сучасна гастроентерологія*, № 6 (80), с. 137–141.
- Леонтьєва, В, Колеснікова, И. 2008. Болевой синдром у больных язвенной болезнью в сопоставлении с интрагастральным рН. *Клиническая медицина*, № 8, с. 50–53.



METHOD OF CORRECTION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION OF BLOOD VESSELS OF PATIENTS WITH PEPTIC ULCER OF STOMACH AND DUODENAL ULCERS COMBINED WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND DIABETES MELLITUS TYPE 2

Sithinska Inna

HESEU «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ СУДИН У ХВОРИХ НА ПЕПТИЧНУ ВИРАЗКУ ШЛУНКА ТА ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ У ПОЄДНАННІ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ І ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ТИПУ 2

Сіцінська Інна

Received 26. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Violation of the functional state of the vascular endothelium to this day not lost its relevance, given the wide range of pathophysiological mechanisms that underlie the violations of the functional state of the vascular endothelium. The aim of our study is to identify vascular endothelial dysfunction in patients with peptic ulcer of stomach and duodenal ulcers combined with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2, by investigation of disorders of the quantitative indicator of desquamating endothelial cells (DEC), changes in the content of ET-1, levels of nitrate/nitrite, and adhesion molecules (sVCAM-1) and to assess their condition after treatment. The direct influence of *Helicobacter pylori*, and especially strains it violates the condition of the vascular endothelium, metabolic exchange and stimulates the development of markers of inflammation, which are factors in the development of diclophenac, hypertension and atherosclerosis. In turn, the violation of the synthesis of ET-1 as a potent vasoconstrictor that regulates angiogenesis, sudio, leads to an increase of its release. At the same time, changes in the vascular endothelium is accompanied by the increasing in the number of desquamating endothelial cells and vascular adhesion molecules sVCAM 1, which indicate the early development of atherosclerosis in hypertension, coronary heart disease, diabetes type 2, atherosclerosis of cerebral and peripheral vessels, and the like. A lot of research attention is paid to risk factors of endothelial dysfunction (DE): arterial hypertension (AH), hypercholesterolemia, diabetes, lead to damage of the endothelium of blood vessels, (changes in the content of nitrates/nitrites, ET-1, sVCAM-1 in the blood). The use of combined probiotic "Latium" leads to the improvement of the endothelium by providing the acidic pH of the medium, suppression of growth of pathogenic and conditionally pathogenic bacteria, contributes to the action of digestive enzymes.

Keywords: gastric; ulcer; hypertensis; diabetes; *Helicobacter pylori*

*Corresponding author: Inna Sithinska, HESEU «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine,
✉ sithinska@ukr.net

Вступ

Порушення функціонального стану судинного ендотелію по сьогоднішній день не втратило своєї актуальності, враховуючи широкий спектр патофізіологічних механізмів, які лежать в основі порушень функціонального стану судинного ендотелію.

Відомо, що ендотелій бере участь у регуляції судинного тону, гемостазу, імунної відповіді, міграції клітин крові в судинну стінку, синтез факторів запалення та їх інгібіторів (Schulz et al., 2011). Безпосередній вплив *Helicobacter pylori*, а особливо його штамів, порушує стан судинного ендотелію, метаболічний обмін та стимулює розвиток маркерів запалення, які є чинниками розвитку дисліпидопроменеї, артеріальної гіпертензії (АГ) та атеросклерозу (АС). Під впливом *H. pylori* знижується рівень антиоксидантного потенціалу, збільшується ризик пошкодження ДНК вільними радикалами, підвищується утворення нітритів з подальшою продукцією мутагенних і канцерогенних N-нітрозосполук (Sewald et al., 2008). В свою чергу, порушення синтезу ET-1, як потужного вазоконстриктора, який регулює ангіогенез судин (Silva et al., 2012), призводить до збільшення його вивільнення (Shakya-Shrestha et al., 2016). Одночасно зміни судинного ендотелію супроводжуються підвищенням кількості десквамованих ендотеліальних клітин (ДЕК) та судинної молекули адгезії sVCAM1, що свідчать про ранній розвиток атеросклерозу судин при АГ, ішемічній хворобі серця (ІХС), цукровому діабеті типу 2 (ЦД2), атеросклерозі церебральних та периферійних судин, тощо.

Тому, метою нашого дослідження є виявлення судинно-ендотеліальної дисфункції у хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2 шляхом дослідження порушень кількісного показника десквамованих ендотеліальних клітин (ДЕК), змін вмісту ET-1, рівня нітратів/нітритів та молекули адгезії (sVCAM-1) та оцінити їх стан після лікування.

Матеріали та методи

Обстежено 60 хворих на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 серед 20 практично здорових осіб (ПЗО) (група I), 24 хворих – на ПВШ та ДПК (група II) та з них 16 хворих на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 (група III). Оцінка судинно-ендотеліальної дисфункції проводилась шляхом визначення ET-1 набором реактивів фірми Bender MedSystems GmbH, (Австрія), sVCAM-1 – Bender MedSystems GmbH, (Австрія). Вміст NO визначали за допомогою методу визначення кінцевих стабільних метаболітів за допомогою реактива Гріса. Ендотеліальні клітини визначали за допомогою методики Н.Н. Петрищева, О.А Берковича, оцінюючи кількість десквамованих ендотеліальних клітин в крові, як показник дисфункції ендотелію у хворих із різними захворюваннями.

Група хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2 після проведення попередньої лікувальної тактики раніше отримувала послідовну терапію:

- підгрупа Ia – 8 осіб – езомепразол 20 мг 2 р/д, амоксицилін 1,0 г 2 р/д 5 днів, езомепразол 20 мг 2 р/д., кларитроміцин 500 2 р/д, тінідазол 500 мг 2 р/д протягом наступних 5 днів;
- підгрупа Ib – 8 осіб – езомепразол 20 мг 2 р/д, амоксицилін 1,0 г 2 р/д 5 днів, езомепразол 20 мг 2 р/д., кларитроміцин 500 2 р/д, тінідазол 500 мг 2 р/д протягом наступних 5 днів та «Лаціум» по 1 саше 2 р/д 1 міс.

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS Statistics 17 Multilanguage. Обчислення результатів проводили шляхом параметричних та непараметричних методів дослідження (коефіцієнта Стюдента (p), коефіцієнт кореляції Пірсона (r)). Вірогідності різниці між отриманими даними оцінювали за коефіцієнтом Стюдента (t). За вірогідну приймали різницю при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Велика увага дослідників приділяється факторам ризику дисфункції ендотелію (ДЕ): артеріальній гіпертензії (АГ), гіперхолестеринемії, цукровому діабету, що ведуть до ушкодження ендотелію судин, (зміни вмісту нітратів/нітритів, ET-1, sVCAM-1 в крові) (Schulz, Gori, Munzel, 2011). Використання комбінованого пробіотика «Лаціум» призводить до покращення стану ендотелію.

Він містить, живі бактерії, які є нормальною складовою природної мікрофлори кишечника і виявляють такі ефекти: забезпечують кислу рН середовища шляхом зброджування лактози, пригнічують ріст патогенних і умовно-патогенних бактерій і сприяє дії травних ферментів; беруть участь в синтезі вітамінів групи В, вітаміну К, аскорбінової кислоти, підвищують резистентність організму до дії несприятливих чинників навколишнього середовища; беруть участь в метаболізмі жовчних пігментів і жовчних кислот; синтезують речовини з антибактеріальною активністю; підвищують імунну реактивність організму. Лактобактерії та біфідобактерії препарату підтримують і регулюють фізіологічну рівновагу мікрофлори кишечника, сприяють швидкій колонізації коменсальними бактеріями і одночасно перешкоджають колонізації і зростанню патогенних і умовно-патогенних бактерій, сприяють процесам репарації слизової оболонки кишечника, стимулюють регуляцію муцинів генів і секрецію дефензину. Одночасно знижує реактивність Т-хелперів 2-го типу при одночасному підвищенні реактивності Т-хелперів 1-го типу і Т-супресорів.

При дослідженні виявлено кореляційний зв'язок між вмістом ET-1 та ДЕК ($r = 0,274$, $p < 0,034$), між рівнем ET-1 та нітратів/нітритів ($r = 0,276$, $p < 0,032$). Поєднання ПВШ та ДПК із АГ і ЦД2 призводить до значного порушення функції ендотелію, що проявляється підвищенням рівнів sVCAM-1, ET-1, нітратів/нітритів та кількості ДЕК. Однак, після проведеного лікування антихелікобактерними препаратами (табл. 1) стан ендотеліальної функції покращився. Виявлено, що вміст sVCAM-1 у групах 1а, зменшився на 14,57 % ($p < 0,05$). Використання в ерадикаційній терапії пробіотика «Лаціум» сприяло достовірному зниженню даного показника у 1,69 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з групами хворих без використання пробіотика.

У хворих на ПВШ та ДПК у поєднанні із АГ і ЦД2 вміст ET-1 підвищується. Однак, при запропонованих антихелікобактерних схемах суттєве зниження даного показника відмічається у групах із використанням пробіотика «Лаціум» (зниження у 2 рази ($p < 0,05$) відповідно до груп 1б).

При використанні запропонованих схем лікування порушення функції ендотелію у хворих на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 супроводжувалось зниженням рівня нітратів/нітритів у групах: групі 1а на 10,05 % ($p < 0,05$). У комплексному лікуванні з комбінованим пробіотиком «Лаціум» рівень нітратів/нітритів достовірно зменшився на 11,18 % ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні із запропонованим лікуванням без пробіотика.

Ендотеліальна дисфункція у хворих на ПВШ та ДПК у поєднанні з АГ і ЦД2 характеризується наявністю в плазмі крові ДЕК. Після запропонованих схем лікування без пробіотика даний показник зменшився у 1,53 рази ($p < 0,05$). У запропонованих схемах лікування із використанням комбінованого пробіотика «Лаціум» спостерігається суттєве зниження рівня нітратів/нітритів на 19,35 % ($p < 0,05$) і порівнянні з попередньою групою.

Таблиця 1 Стан судинно-ендотеліальної дисфункції після диференційованого лікування у хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2 з урахуванням токсигенних штамів, $M \pm m$

Table 1 Status of vascular endothelial dysfunction after differentiated treatment of patients with peptic ulcer of stomach and duodenal ulcers combined with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2 including toxigenic strains, $M \pm m$

Показники		Групи обстежених			
		група хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом типу 2, $n = 67$			
		sVCAM-1, нг/л	ET-1, пмоль/л	рівень нітратів/нітритів	ДЕК, к-ть
Практично здорові особи, $n = 30$		493,87 $\pm$ 119,72 ^a	0,04 $\pm$ 0,01 ^a	18,92 $\pm$ 0,83 ^a	2,4 $\pm$ 0,23 ^a
До лікування		2 618,41 $\pm$ 131,56 ^b	0,27 $\pm$ 0,04 ^b	25,96 $\pm$ 0,97 ^b	14,54 $\pm$ 0,28 ^b
Антигелікобактерна терапія	послідовна терапія, $n = 9$	2 236,86 $\pm$ 74,76 ^b	0,12 $\pm$ 0,04 ^{ab}	23,35 $\pm$ 0,36 ^{ab}	9,51 $\pm$ 0,16 ^{ab}
	послідовна терапія + «Лаціум», $n = 8$	1 324,64 $\pm$ 175,80 ^{abc}	0,06 $\pm$ 0,01 ^{abc}	20,74 $\pm$ 0,97 ^{abc}	7,67 $\pm$ 0,22 ^{abc}

a – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї, 2-ї, 3-ї, 4-ї груп із ПЗО; b – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї, 2-ї, 3-ї, 4-ї групах після лікування; c – достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між показниками в 1-ї, 2-ї, 3-ї, та 4-ї групах з пробіотиком «Лаціум»

Висновки

Використання різних схем антигелікобактерної терапії у хворих на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки у поєднанні з артеріальною гіпертензією та цукровим діабетом типу 2 знижує рівні sVCAM-1, ET-1, нітратів/нітритів та кількості десквамованих ендотеліальних клітин та покращує стан ендотеліальної функції. Однак комбінація пробіотика із запропонованими антигелікобактерними схемами терапії значно покращує стан ендотеліальної функції.

Література

- Sewald, X., Fischer, W., Haas, R. 2008. Sticky socks: *Helicobacter pylori* VacA takes shape. *Trends Microbiol.*, vol. 16, no 3, p. 89–92. DOI: 10.1016/j.tim.2008.01.001
- Shakya-Shrestha, S., Bhandari, M., Thapa, S., Shrestha, R. 2016. Medication Adherence Pattern and Factors affecting Adherence in *Helicobacter pylori* Eradication Therapy. *Kathmandu Univ Med J.*, vol. 14, no. 53, p. 58–64.
- Schulz, E., Gori, T., Munzel, T. 2011. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens. Res.*, vol. 34, p. 665–673. DOI: 10.1038/hr.2011.39
- Silva, B., Pernomian, L., Bendhack, L. 2012. Contribution of oxidative stress to endothelial dysfunction in hypertension. *Front Physiol.*, vol. 3, p. 441. DOI: 10.3389/fphys.2012.00441



ECOLOGICAL POLICY IN AGRICULTURAL LAND RESOURCES USING OF UKRAINE

Sokol Lesia

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ЕКОЛОГІЧНА ПОЛІТИКА СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОГО ЗЕМЛЕКОРИСТУВАННЯ В УКРАЇНІ

Сокол Леся

Received 15. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

The paper considers theoretical and practical aspects of environmental management in agriculture, especially of land resources using and sustainable development. The ecological policy of agricultural land using in Ukraine includes a lot of instruments of state regulation, legislative and normative support. However, environmental management requires further research and improvement of tools for sustainable agricultural development. The land fund structure, general protection measures of environment and financial expenses for the protection, rational using and restoration of land resources in Ukraine were analyzed. The indicators of sustainable agricultural development were considered. Information base of researches were the scientific heritage of Ukrainian and foreign scientists, materials of statistical reporting of the State Statistics Service of Ukraine, materials of personal observations of the author. In the outcome, the authors' researches reject the proposals in creation and operation of coordinated ecological management system in the agriculture based on organizational, financial and economic supports. Sustainable land resources using in the agricultural sector requires: creation of the market for environmental pollution, licenses trade, financial and credit mechanism of natural resources using, environmental insurance, risk management, formation of target ecological funds, filling local budgets.

Keywords: ecological policy; agriculture; land resources using sustainable development; agricultural; economic

Вступ

Сільськогосподарське виробництво є найбільш природоємною галуззю виробництва, що в значній мірі використовує земельні ресурси як засіб виробництва. Розвиток агропродовольчого виробництва неможливий без принципів сталого розвитку, що передбачає гармонізацію економічної, екологічної та соціальної складових, забезпечення раціонального використання природних ресурсів та їх охорони та відновлення.

Екологічна політика сільськогосподарського землекористування в Україні представлена рядом заходів державного регулювання, законодавчо-нормативним забезпеченням, та

***Corresponding author:** Lesia Sokol, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ lesia_sokol@ukr.net

все ж потребує подальших досліджень і удосконалення інструментів досягнення сталого розвитку сільськогосподарського виробництва.

Метою роботи було вивчення теоретичних підходів та практичних засад сталого сільськогосподарського землекористування.

Матеріали та методи

Методологічною основою проведення дослідження слугували діалектичні й абстрактно-логічні, статистичні, економічні та розрахунково-математичні методи дослідження теоретико методичних та практичних аспектів екологічного управління сільськогосподарським землекористуванням. Інформаційну базу досліджень становлять розробки вітчизняних та зарубіжних вчених, матеріали статистичної звітності Державної служби статистики України, матеріали особистих спостережень автора.

Результати та їх обговорення

Структура земельного фонду України та частка земель сільськогосподарського призначення протягом 2011 – 2015 років мала незначні зміни (табл. 1).

Таблиця 1 Земельний фонд України (станом на 01 січня 2015 року)
Table 1 Land Fund of Ukraine (on the 01 January 2015)

Показник	2011 р.	2012 р.	2013 р.	2014 р.	2015 р.	2015 до 2011р., %
Загальна земельна площа, тис. га	60 354,8	60 354,9	60 354,9	60 354,9	60 354,9	0
Землі сільськогосподарського призначення, тис. га	42 792,8	42 776,9	42 756,0	42 744,5	42 731,5	-0,14
у тому числі сільськогосподарські угіддя*, тис. га	41 576,0	41 557,6	41 536,3	41 525,8	41 511,7	-0,15

дані Державної служби України з питань геодезії, картографії та кадастру
* пілля, сади, виноградники, сіножаті та пасовища, перелоги

Частка земель сільськогосподарського призначення у 2015 році складала майже 69 % загального земельного фонду України (Довкілля України, 2015).

Серед заходів з охорони земель протягом 2010 – 2014 рр. було здійснено:

- ▶ залуження сильнодеградованої і забрудненої шкідливими речовинами ріллі (2010 р. – 1 015,2 га; 2011 р. – 1 383,0 га; 2012 р. – 1 195,1 га; 2013 р. – 351,5 га; 2014 р. – 40,2 га);
- ▶ у 2014 році площа меліорованих земель склала 5 476,4 тис. га, що на 0,2 % менше у порівнянні з 2010 роком;
- ▶ загальна площа вапнування ґрунтів зросла на 32,8 %, а гіпсування – на 52,3 %;
- ▶ зросла частка площ земель, на якій застосовувались засоби захисту рослин – на 14,4 %;
- ▶ внесення мінеральних добрив сільськогосподарськими підприємствами зросло на 38,5 %, органічних – зменшилося на 0,2 %.

Сукупні витрати на охорону навколишнього природного середовища є сумою обсягів поточних витрат на охорону навколишнього природного середовища та інвестицій в основний капітал, направлених на охорону навколишнього природного середовища та раціональне використання природних ресурсів (табл. 2) (Довкілля України, 2015; Соціально-економічний розвиток України, 2015).

Таблиця 2 Капітальні інвестиції та поточні витрати на охорону та раціональне використання природних ресурсів у 2014 році, тис. грн
Table 2 Capital investments and operating costs for the protection and rational using of natural resources in 2014, thousand hryvnas

Показник	Фактично витрачено	У тому числі				
		всього	капітальні інвестиції, з них		з загального обсягу капітальних інвестицій – інвестицій в капітальний ремонт	поточні витрати
			в очищення	в інтегровані технології		
Україна, всього	21 925 579,9	7 959 853,9	3 143 359,0	4 691 648,4	640 783,0	13 965 726,0
Захист і реабілітація ґрунту, підземних і поверхневих вод	1 324 662,6 (6,0 %)	359 925,6	5 861,6	274 830,2	90 505,9	964 737,0
Науково-дослідні роботи природоохоронного спрямування	59 108,7 (0,3 %)	6 208,0	–	–	–	52 900,7
Сільське господарство, мисливство та надання пов'язаних із ними послуг	172 115,6 (0,8 %)	23 019,4	–	–	5 997,8	149 096,2
Лісове господарство та лісозаготівлі	122 162,1 (0,6 %)	3 170,7	–	–	–	118 991,4
Рибне господарство	330,0 (0,002 %)	–	–	–	–	330,0
Переробна промисловість (виробництво харчових продуктів)	134 532,8 (0,6 %)	35 367,6	–	–	5 698,5	99 165,2

дані Державної служби статистики України

Таблиця 3 демонструє динаміку показників екологічної політики України, що враховують платежі за забруднення та витрати на охорону навколишнього природного середовища (НПС), протягом 2007 – 2012 років.

Таблиця 3 Динаміка еколого-економічних показників сільського господарства України (2007 – 2012 рр.)

Table 3 Dynamics of Ecological and Economic Indicators of Agriculture of Ukraine (2007–2012)

Показники	Роки						
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2012 до 2007р., %
ВВП, млн. грн.	720 731	948 056	913 345	1 082 569	1 302 079	1 408 889	195,5
Екологічні податки (земельні та водні ресурси), млн. грн	575,1	1071,4	1209,7	1508,7	2106,6	2047,9	356,1
Витрати на охорону НПС, млн .грн.:	9 691,0	12 176,0	11 073,4	13 128,1	18 490,4	20 514,0	211,7
-поточні витрати	6 610,3	8 444,6	8 032,7	10 366,6	12 039,4	13 924,7	210,7
-капітальні інвестиції	3 080,7	3 731,4	3 040,7	2 761,5	6 451,0	6 589,3	213,9
Економічні збитки від забруднення НПС, млн. грн.	102 66,1	13 247,4	12 283,1	14 636,8	20 597,0	22 561,9	219,8

розраховано за даними Державної служби статистики України

Одержані дані свідчать про збільшення об'єму валового внутрішнього продукту за досліджувані 6 років майже вдвічі. Поряд з тим, показник екологічних зборів від забруднення навколишнього природного середовища зріс більше, ніж в 3,5 рази, а витрати на відновлення земельних та водних ресурсів збільшилися лише вдвічі. Це вказує на недофінансування відтворення та реабілітації природних ресурсів з фондів охорони навколишнього природного середовища.

У 2007 році Кабінет Міністрів України ухвалив Концепцію національної екологічної політики України на період до 2020 року (Концепція національної екологічної політики України, 2007). Метою документа є стабілізація і поліпшення екологічного стану території України за допомогою утвердження національної екологічної політики, як інтегрованого чинника соціально-економічного розвитку держави, для забезпечення переходу до сталого розвитку та впровадження екологічно збалансованої системи природокористування. Та документ має недосконало описані інструменти реалізації цілей і завдань раціоналізації землекористування та не зазнав жодної редакції з часів набуття чинності.

Реалізація Стратегії розвитку аграрного сектору економіки на період до 2020 року (2013 р.) (Стратегії розвитку аграрного сектору економіки, 2013) та Концепції Державної цільової програми розвитку аграрного сектору економіки на період до 2020 року (Концепції Державної цільової програми розвитку аграрного сектору економіки, 2015) не враховує пріоритетів соціально-еколого-економічного розвитку сільського господарства.

Висновки

Збалансоване землекористування в аграрному секторі потребує:

- утворення ринку прав на забруднення природи, торгівлю ліцензіями;
- фінансово-кредитного механізму природокористування;

- ▶ екологічного страхування, управління ризиками;
- ▶ формування цільових екологічних фондів, наповнення місцевих бюджетів.

Формування такого інструментарію екологічної політики сталого землекористування в сфері сільськогосподарського виробництва є основою для подальших наукових досліджень.

Література

Довкілля України за 2015 рік: стат. зб. За заг. редакцією ПРОКОПЕНКО О.П. Київ, Державна служба статистики України, 223 с.

Соціально-економічний розвиток України за 2015 рік: стат. зб.: Державна служба статистики України. Режим доступу: http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2015/so_ek_r_u/soekru_u/arh_soekru_15.htm

Про схвалення Концепції національної екологічної політики України на період до 2020 року. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 17 жовтня 2007 року №880-р. Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/880-2007-%D1%80>

Про схвалення Стратегії розвитку аграрного сектору економіки на період до 2020 року. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 17 жовтня 2013 року №806-р. Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/806-2013-%D1%80>

Про схвалення Концепції Державної цільової програми розвитку аграрного сектору економіки на період до 2020 року. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 30 грудня 2015 року №1437-р. Режим доступу: <http://www.kmu.gov.ua/control/uk/cardnpd?docid=248907971>



COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF SEA KALE (BRASSIACEAE: *CRAMBE ABYSSINICA* HOCHST.) WITH OTHERS OIL-PRODUCING CABBAGE CROPS OF THE EASTERN FOREST-STEPPE OF UKRAINE

Stankevych Sergij

V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА КРАМБЕ (BRASSIACEAE: *CRAMBE ABYSSINICA* HOCHST.) З ІНШИМИ ОЛІЙНИЙНИМИ КАПУСТЯНИМИ КУЛЬТУРАМИ У СХІДНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Станкевич Сергій

Received 3. 4. 2017

Revised 10. 5. 2017

Published 29. 11. 2017

High yield and oil content of seeds and comparatively short vegetation period give the opportunity to grow the sea kale (*Crambe* (L.) almost everywhere, its resistance to abiotic and biotic factors of environment allows to consider the sea kale to be one of the perspective oil-producing crops. Introducing of *Crambe abyssinica* (L.) into crops rotation will promote the increasing of biological varieties in crop growing and the stability in producing vegetable oils for different purposes. In comparison with traditional oil-producing crops from cabbage family, sea kale is weakly populated by dominating pests of cabbage crops and doesn't require chemical protection as the pests' density doesn't exceed the economic threshold of harmfulness. Undulating flea beetles (*Phyllotreta undulata* (L.)), while choosing the forage crop, prefer spring rape, common winter cress and different species of mustard, these beetles prefer oil-producing radish and sea kale to a less extent and don't nourish at all on spring false flax. Cruciferous bugs prefer spring rape, colza and leaf mustard. More poorly the bugs populate the white and black mustards, oil-producing radish and sea kale and don't nourish at all on spring false flax. Rape blossom beetle (*Meligethes aeneus* (L.)) prefers spring rape, colza and different species of mustard and doesn't nourish at all on oil-producing radish, sea kale and spring false flax. Cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* (L.)) prefers spring rape, colza and leaf mustard – the crops that have a smooth stem without fine hairs. To a considerable less extent the aphid populates white and black mustards and oil-producing radish, which stems have fine hairs and thorns and it also populates the sea kale. The aphid doesn't nourish at all on the spring false flax. Diamond black moth (*Plutella maculipennis* (L.)) populates the spring rape and colza to a great extent and to a less extent; it populates all species of mustard, sea kale and oil-producing radish. The nourishment of caterpillars was not observed on spring false flax. Rose chafer (*Epicometis hirta* Poda (L.)) is an omnivorous pest and it populates the flowers of spring rape and all species of mustard to a great extent, but to a considerable less extent (like the rape blossom beetle) it populates the oil-producing radish and the sea kale. Like the previous species the rose chafer doesn't populate the spring false flax.

Keywords: sea kale (*Crambe* L.); origin and meaning of the crop yield capacity; oil content; fat and acid composition Elements of growing technology; pests

*Corresponding author: Sergij Stankevych, V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine, ✉ yostek@mail.ru

Вступ

На сьогоднішній день основними олійними культурами з родини Капустяних (Brassicaceae Burnett) у світі є ріпак озимий (*Brassica napus oleifera bienis* D. C.) та ріпак ярий (*Brassica napus oleifera annua* Metzg.). Менш поширеними культурами є гірчиця біла (*Sinapis alba* L.) та гірчиця сиза (*Brassica juncea* Gzem.).

Інші олійні культури з родини капустяних: суріпиця яра (*Brassica campestris* L.), суріпиця озима (*Brassica rapa oleifera* D. C.), ріжій озимий (*Camelina sativa* subsp. *pilosa* N. Zinge), ріжій ярий (*Camelina sativa* var. *glabrata* (DC.)), редька олійна (*Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers) та гірчиця чорна (*Brassica nigra* (L.) Koch) займають незначні площі, а гірчиця абіссінська (*Crambe abyssinica* Hosts. ex. R. E. Fr.) взагалі не вирощується у нашій країні (Бабич, 1996; Гаврилюк, 2008; Супіханов, 2008).

Крамбе абіссінська (*Crambe abyssinica* Hochst.) – олійна культура з родини Капустяних. У природних умовах ця рослина трапляється в країнах Середземномор'я, Північної Африки і в горах Ефіопії (Кучеров, 1951). Вперше в колишньому СРСР крамбе абіссінська була випробувана в 1932 р. професором В.Ф. Васильєвим на полях Ботанічної станції ім. академіка Б.А. Келлера у Воронежській області. Насіння було отримано з Алжирського ботанічного саду. Пізніше насіння крамбе стали розсилатися для випробування в різні області і республіки СРСР. У 1940 р загальна площа дослідних ділянок, зайнятих новою культурою, складала 310 га. У всіх районах крамбе показала себе як високоврожайна і високоолійна культура, однак через те, що почалася Велика Вітчизняна війна, призупинили її подальше впровадження. Дослідницька робота з крамбе протягом воєнних років велася тільки в Башкирії під керівництвом Є.В. Кучерова, який зробив величезний внесок у вивчення цієї культури. Невеликі башкирські партії насіння і послужили початком відновлення культури крамбе після війни. У 1950 – 1960 рр. крамбе вирощувалась на кількох сотнях гектарів, після чого надовго зникла з посівів. Досліди по інтродукції крамбе в СРСР були першими в світі, вони послужили підставою для випробування крамбе в цілому ряді країн (Шарапов, 1956). В даний час крамбе вивчається і вирощується в багатьох країнах світу: Швеції, Польщі, Німеччині, Болгарії, Ірландії, Канаді, США, Данії, Японії, Китаї та ін. Крамбе – культура багатопланового використання. Наявність в насінні великої кількості слабовисихаючого масла з низьким йодним числом (93 – 97) і високим вмістом ерукової кислоти (до 60 %) дозволяє використовувати масло крамбе на технічні цілі (Шарапов, 1956; Зотеева, 1992; Царева, 2007). Воно світле, легко рафінується, за смаком нагадує олію гірчиці білої. Гіркота в маслі не відчувається (Кучеров и др., 2000). Як технічне масло крамбе використовується в хімічній і лакофарбовій промисловості, наприклад, для підвищення клейкості каучуку і для приготування пластичних плівок, а також для отримання пластмас, смол, синтетичних волокон і мастил. Однак олія з насіння крамбе представляє інтерес, в першу чергу, як джерело біодизеля (Низова и др., 2015). Надземна маса крамбе є гарним кормом для тварин. Крім цього може використовуватися як сидеральна культура поряд з ріпаком, гірчицею білою і редькою олійною (Кучеров, 1998; Прахова, 2013). Цінність цієї рослини ще визначається і високою врожайністю насіння (до 3,0 т/га), високим вмістом олії в насінні (до 46 %) і якісним складом масла, який є найбільш актуальним показником для сучасних сортів олійних культур, що визначає якість масла і напрямки його використання: пальмітинова кислота (1,4 – 1,6 %), стеаринова (0,5 – 0,8 %), олеїнова (15,3 – 16,1 %), лінолева (7,8 – 9,9 %), α -ліноленова (7,1 – 8,5 %), ейкозенова (2,5 – 2,9 %), ерукова (57,6 – 60,1 %). Багаторічне вивчення дозволило виявити, що вона представляє інтерес як однорічна, високоврожайна, невибаглива до ґрунту, посухостійка культура з коротким вегетаційним періодом. Середня врожайність становить 2,65 т/га, висота рослин – 1,08 м, період вегетації – 91 доба, олійність насіння – 45,1 %, вихід олії – 1,05 т/га, маса 1000 насінин – 10,1 г, вміст ерукової кислоти – 59,0 %. Культура слабо пошкоджується хрестоцвітими блішками і не уражується хворобами, відрізняється стабільним урожаєм (Прахова, 2013; Прахова и др., 2013).

Домінуючими видами шкідників на посівах олійних капустяних культур є комплекс хрестоцвітих блішок (*Phyllotreta* spp.): чорна (*Phyllotreta atra* F.), синя (*Ph. nigripes* F.), світлонога (*Ph. nemorum* L.), хвиляста (*Ph. undulata* Kutsch.), виімчаста (*Ph. vitata* Redt.) и широкозмугаста (*Ph. armoraciae* Koch.), комплекс хрестоцвітих клопів (*Eurydema* spp.): капустяний або розмальований (*Eurydema ventralis* Kol.), ріпаковий (*E. oleracea* L.), гірчицьний (*E. ornata* L.); капустяна попелиця (*Brevicoryne brassicae* L.); капустяна міль (*Plutella maculipennis* Curt.); ріпаковий квіткоїд (*Meligethes aeneus* F.); оленка волохата (*Tropinota (Epicometis) hirta* L) (Федоренко, 2004; Станкевич, 2015).

Матеріали та методи

На дослідних ділянках ННВЦ «Дослідне поле» ХНАУ ім. В. В. Докучаєва у 2015 – 2016 рр. висівали 8 ярих олійних культур, котрі належать до родини капустяних: ріпак ярий, гірчицю білу, гірчицю сизу, гірчицю чорну, редьку олійну, рижій ярий, а також суріпицю яру і крамбе.

Дві останні культури у 2015 р. перебували на розмноженні, адже були отримані у невеликій кількості зі сховища генетичних ресурсів Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва і в Україні належать до малопоширених. Видовий склад шкідників визначали протягом всього періоду вегетації методом косіння ентомологічними сачком, за допомогою ґрунтових пасток та ящика Петлюка і ручним збором. Обліки шкідників проводили за загальноприйнятими методиками (Станкевич та ін., 2016).

Результати та їх обговорення

Основну увагу було приділено культурі крамбе та особливостям її вирощування в умовах Східного Лісостепу України. Агрономічно важливим є те, що, на відміну від ріпаку й гірчиці, крамбе значно більш посухостійка культура. Наші дослідження показали, що у 2016 р. серед олійних культур з родини капустяних найвища врожайність зерна відмічена у редьки олійної – 1,52 т/га. Урожайність крамбе становила 1,32 т/га, але не зважаючи на це крамбе є більш перспективною через те, що редька олійна дуже погано вимолочується зі стручків і тому потребує більших затрат ніж крамбе на післязбиральну обробку врожаю. Рижій ярий сформував дещо менший врожай насіння, ніж дві попередні культури – 1,22 т/га. Урожайність суріпиці ярої була на рівні 1,12 т/га. Традиційні олійні культури характеризувалися нижчою врожайністю, ніж нетрадиційні культури, описані вище. Так, урожайність гірчиці білої та сизої була майже на одному рівні – 0,84 та 0,82 т/га відповідно. Ріпак ярий та гірчиця чорна виявилися найменш врожайними культурами. Їхня урожайність була на рівні 0,64 т/га. У ході досліджень за домінуючими видами шкідників було встановлено, що різні олійні капустяні культури не в однаковому ступені пошкоджувались комахами.

Згідно даних наведених у таблиці 1 видно, що хрестоцвіті блішки віддають перевагу при виборі кормової рослини ріпаку ярому та суріпиці і різним видам гірчиці, в меншому ступені – редьці олійній та крамбе, і взагалі не жилились на рижію ярому. Проте через погодні умови щільність популяції блішок була низькою і ЕПШ не перевищувала. Хрестоцвіті клопи віддають перевагу ріпаку ярому, суріпиці ярій та гірчиці сизій, значно слабкіше клопи заселяють білу та чорну гірчиці, редьку олійну і крамбе, і взагалі не живляться на рижію ярому. Ріпаковий квіткоїд віддає перевагу ріпаку ярому, суріпиці ярій та різним видам гірчиці і взагалі не живиться на редьці олійній, крамбе та рижію ярому. Що, можливо, пояснюється білим кольором квіток у редьки та дрібним розміром квіток у рижію.

Таблиця 1 Пошкодженість різних видів олійних капустианих культур шкідниками
Table 1 Damage of various species of oil cabbage crops by pests

Культура	Ступінь заселення рослин різними видами шкідників					
	хрестоцвіті блішки	хрестоцвіті клопи	ріпаковий квіткоїд	капустяна попелиця	капустяна міль	оленка волохата
Ріпак ярий	+	+++	+	+++	+++	+++
Суріпиця яра	+	+++	+	+++	+++	+++
Гірчиця біла	+	+	+	+	++	+++
Гірчиця сиза	+	+++	+	+++	++	+++
Гірчиця чорна	+	+	+	+	++	+++
Редька олійна	+	+	0	+	++	+
Крамбе	+	+	0	+	++	+
Рижій ярий	0	0	0	0	0	0

+++ рослини пошкоджуються в сильному ступені; ++ рослини пошкоджуються в середньому ступені;
+ рослини слабо пошкоджуються; 0 пошкодження відсутні

Проте в цьому році через погодні умови щільність популяції блішок була низькою і ЕПШ не перевищувала. Капустяна попелиця віддає перевагу ріпаку ярому, суріпиці ярій та гірчиці сизій – культурам, що мають гладеньке не опушене стебло. Значно слабкіше попелиця заселяє білу та чорну гірчиці і редьку олійну, стебло яких є опушеним і колючим, і крамбе. Попелиця взагалі не живилася на рижію ярому. Капустяна міль у сильному ступені заселяє ріпак ярий та суріпицю яру, і менше – всі види гірчиці, крамбе та редьку олійну. Живлення гусениць не відмічено на рижію ярому. Оленка волохата є багатоїдним шкідником і у сильному ступені заселяє квітки ріпаку ярого і всіх видів гірчиці, проте значно менше (як і ріпаковий квіткоїд) заселяє редьку олійну та крамбе. Як і попередні види, оленка волохата, не заселяє рижій ярий. Із даних наведених в табл. 1 можна побачити, що ріпак ярий, суріпиця яра та гірчиця сиза найбільше заселяються всіма домінуючими видами шкідників олійних капустианих культур. Гірчиця біла та гірчиця чорна заселяються цими видами комах у меншому ступені. Редька олійна та крамбе слабо заселяються шкідниками. Рижій ярий взагалі не заселяється спеціалізованими видами шкідників олійних капустианих культур, що можливо пояснюється біохімічними особливостями культури і буде досліджено в майбутньому.

Висновки

Висока врожайність і олійність насіння, порівняно короткий вегетаційний період, що дозволяє вирощувати крамбе майже повсюдно, стійкість її до абіотичних і біотичних факторів зовнішнього середовища дозволяють віднести крамбе до числа перспективних олійних культур. За урожайністю насіння у Східному Лісостепу України крамбе поступається лише редьці олійній. У порівнянні з традиційними олійними культурами у Східному Лісостепу України з родини капустианих крамбе слабо заселяється домінуючими шкідниками капустианих культур і не потребує проведення хімічного захисту, так як їх щільність не перевищує економічного порогу шкідливості. Збільшення посівних площ під цією культурою сприятиме ботанічному збагаченню агроценозів та покращить їх фітосанітарний стан. Разом з тим зменшення об'ємів витрачених пестицидів при вирощуванні крамбе знизить токсичний вплив на довкілля.

Література

- Jkob, K. 1998. Ertrgsbildungder Krambe (*Crambe abyssinica* L.)in Abhängigkeit von der Wasser – und Stickstoffversorgung. Mitt. Gesell. Pflanzenbauwiss, no 11, p. 133–134.
- Бабиц, А.О. 1996. Світові земельні продовольчі і кормові ресурси. Київ: Аграрна наука. 572 с.
- Гаврилюк, М.М. 2008. Олійні культури в Україні. Київ: Основа. 420 с.
- Зотеева, Н.М., 1992. Перспективная масличная культура крамбе. Научно-технический бюллетень ВИР, вып. 224, с. 44–46.
- Кучеров, Е.В. 1951. Крамбе новая масличная культура в Башкирии. Уфа: Башкиргиздат. 59 с.
- Кучеров, Е.В. 1998. Крамбе абиссинская – новая нетрадиционная культура комплексного использования. Сборник материалов «Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений», т. 2, с. 43–45.
- Кучеров, Е.В., Маслова, Н.В., Мангажева, А.М. Ахметова, З.А. 2000. Биология и продуктивность *Crambe abyssinica* Hochst. в лесостепи Башкортостана. Бюллетень Главного ботанического сада, вып. 179, с. 24–28.
- Лихочвор, В.В. 2002. Рослинництво. Львів: НВФ «Українські технології» 800 с.
- Низова, Г.К., Конькова, Н.К., 2005. Экологогеографическая изменчивость содержания масла и жирных кислот в масле крамбе. Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: сб. матер. Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур., т. 2, с. 348–350.
- Прахова, Т.Я., 2013. Новая нетрадиционная масличная культура – крамбе абиссинская. Вестник Алтайского государственного аграрного университета, № 8 (106), с. 8–10.
- Прахова, Т.Я., Прахов, В.А., 2013. Биология, возделывание и качество маслосемян крамбе абиссинской. Молодой ученый, № 1, с. 436–437.
- Станкевич С.В. 2015. Управління чисельністю комах-фітофагів. Харків: ФОП Бровін О.В. 178 с.
- Станкевич, С.В., Забродіна, І.В. 2016. Моніторинг шкідників сільськогосподарських культур. Харків: ФОП Бровін О.В. 216 с.
- Супіханов, Б.К. 2008. Олійні культури. Київ: ННЦ ІАЕ УААН. 126 с.
- Федоренко, В.П. 2004. Шкідники сільськогосподарських рослин. Київ: Колобіг. 355 с.
- Царева, Л.Е. 2007. Технология производства продукции растениеводства в условиях Алтайского края. Барнаул: Издательство АГАУ, с. 61–77.
- Шарапов, Н.И. 1956. Новые жирномасличные растения. Москва, Ленинград: Издательство академии наук СССР. 112 с.



NECROTIC AND COMMON STRAINS OF POTATO VIRUS Y AND RESISTANCE OF PLANTS *NICOTIANA TABACUM* L. AND *NICOTIANA RUSTICA* L.

Taran Oksana^{1*}, Lisovyy Mykola¹, Savina Olena², Mishchenko Lidiya³

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Uzhhorod National University, Uzhhorod, Ukraine

³Taras Shevchenko Kyiv National University, Kyiv, Ukraine

Received 26. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Research on the resistance of cultivars of tobacco plants *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. under conditions of artificial infection with necrotic and common isolates Potato virus Y (PVY). Molecular biological characteristics of Potato virus Y isolates were established by means of transmission electron microscopy, multiplex reverse polymerase chain reaction and ELISA. Biological characteristics of isolates were investigated by indicator plant's method. The plant resistance of cultivars of tobacco to PVY isolates was investigated by artificial inoculation followed by visual detection of symptoms of infection and virus detection by transmission electron microscopy and ELISA. Studies of extracted from potato plants isolates showed that they belong to different strain groups in response to their infection, which developed in the indicator plant *Nicotiana benthamiana* Domin and *Nicotiana tabacum* var. Samsun. Multiplex RT-PCR confirmed availability of isolate Potato virus Y and the absence of other viruses that infect potatoes. Discovered different reactions tobacco plants var. Samsun 155 and Sobalchskyy 34/40 on inoculation of common and necrotic isolates of Potato virus Y. Plants of these cultivars respond at inoculation of necrotic isolate formation of systemic necrosis that were similar to the symptoms that caused this isolate to indicator plants. At inoculation of common isolate visible symptoms in plants of these cultivars were not observed, but the methods of transmission electron microscopy and ELISA confirmed the accumulation of the inoculated plants virions of Potato virus Y. However, there were no visible symptoms on inoculation with both isolates of plants *Nicotiana rustica* cultivars Matsui Field and Actec, and plant *Nicotiana tabacum*, variety Sobalchskyy 193. The plants cultivars Samsun 155 and Sobalchskyy 34/40 showed reaction tolerance relatively common isolate because the virus accumulates in them in large quantities in the absence of visual symptoms. However, these cultivars are susceptible to infection of the necrotic isolate of PVY. The absence of symptoms in plants *Nicotiana rustica* and tobacco cultivar Sobalchskyy 193 may indicate as tolerant reaction, and the presence of resistance to both isolates. Given the high harmfulness Potato virus Y and its wide spread in Ukraine, further studies are needed to identify the type of tobacco plant resistance that will make it possible to identify new sources of resistance to this pathogen.

Keywords: tobacco; resistance; Potato virus Y; necrotic isolate; common isolate

Introduction

Potato virus Y (PVY) – the member of the genus Potyvirus family Potyviridae, that can infect potato, tomato, tobacco, pepper and other plants of the Solanaceae family. The strains can be determined by the symptoms that occur in host plants, potatoes and tobacco, as well as by serological reactions of

*Corresponding author: Oksana Taran, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ okstar@ukr.net

selected isolates. Currently, there are about nine groups of detected strains, but the most basic and common until recently considered are three groups of strains, namely: PVY^N, PVY^O and PVY^C (Tribodet et al., 2005).

Isolates belong to group of PVY^N cause severe symptoms of necrosis of veins in the tobacco plant (*Nicotiana tabacum* L.), and in the field can lead to a significant deterioration in the quality of products of this culture. At the global level, Potato virus Y is certainly the most damaging virus of tobacco. The latest survey of CORESTA (Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco) on tobacco viruses confirms this situation. Losses due to necrotic strains of the virus are increasing in many countries. The influence of this virus on Burley and Virginia tobacco are reduction of size and weight of leaves, plant height, and yield. The earlier the infections occur, the greater the impact on the tobacco crop. In Chile and New Zealand, heavily infected crops have experienced yield reductions exceeding 70%. The chemical quality of harvested tobacco is reduced also in the presence of PVY. An increase of nicotine, nornicotine, total nitrogen, nitrogen-insoluble acid and nitrate content can be observed (Marchoux et al., 2008; Иваницкий и др., 2012).

To meet the certain needs of breeding, the works on to identifying the variety groups with stable resistance under fierce natural and artificial infectious background should be done in respect to get the expected effect of the source resistance. Great importance is raising new varieties of group stability. For successful breeding in this area required starting material with resistance group to defeat pathogens that would fully meet the increasing demands on breeding performance and high level of adaptability to adverse environmental factors. Therefore, the study of varieties with a view to providing new sources of resistance to major pathogens remains relevant and necessary (Савина, 2013).

Moreover, the research of PVY strain has important issues regarding the interaction of virus and host plant. A plant's reaction on the stress, caused by infection, leads not only to ensure its survival, but causes changes in virus populations that have long-term consequences. The emergence of new variants of the pathogen influenced by intracellular factors of host often occurs in the presence extensive quantity of ordinary members of the population. This does not enable initially find these new variants. But in the future the situation may change. In view that the rate of mutation of RNA viruses evaluated in order one mutation per genome replication, can assume that most of the viral particles in the infected host may represent a unique genotypes (Tian et al., 2013). Thus, these studies help to estimate the dynamics of populations and identify new isolates of PVY that have new characteristics and genomic structures (Chikh et al., 2008; Zhimin et al., 2012).

Materials and methodology

In our studies we were evaluated the resistance of plants *Nicotiana tabacum* cultivars: Samsun 155, Sobalchsky 34/40, Sobalchsky 193 and *N. rustica* varieties: Matsui Field and Actec to necrotic and common isolates of PVY. Isolates were selected in the field of potato plants that cultivated in the Kyiv region, Ukraine. Belonging of the isolates to a group of PVY strains were determined by biological tests on plants *Nicotiana bentamiana* Domin and *Nicotiana tabacum*, var. Samsun.

Indicator plants and experimental plants *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana rustica* L. were grown in a greenhouse at a temperature of 25 °C and 16-hour light period. We used tobacco plants to test at the age of 4–6 leaves. Were inoculated five plants per variety with sap of infected plants in the solution 1 : 2 in the phosphate buffer saline (PBS, pH 7,4). Mock-infected plants were treated with PBS (pH 7,4). The plants investigated by means DAS-ELISA, RT-PCR and transmission electron microscopy.

The isolates were tested serologically using polyclonal antibodies for PVY, Potato virus M (PVM) and Potato leaf roll virus (PLRV) (LOEWE® Biochemica GmbH, Germany). Total RNA was isolated from 5 g of whole leaf tissue using the procedure as described by Boom et al. (1990). Multiplex RT-PCR, which included the definition of PVY, PVM, PVS, PVX, PLRV and Potato spindle tuber viroid, carried out as described (Мельничук et al., 2005). We used commercial kits for RT-PCR of production AmpliSens, (Russian Federation).

For determine the viruses by DAS-ELISA using polyclonal serum to the complex strains of PVY, which includes antibodies PVY^O and PVY^N, as well as diagnostic tools for determining Potato virus M (PVM) and Potato leaf roll virus (PLRV) (LOEWE Biochemica GmbH, Germany). Results were recorded at wavelengths of 405/630 nm using a reader Termo Labsystems Opsis MR (USA) and software Dynex Revelation Quicklink (Mishchenko et al., 2011). Data processing optical density of the samples was performed using descriptive statistics, to determine the average value and standard deviation.

Optical density threshold that distinguishes the positive results of the enzymatic reaction on the value of the background, was determined for each board individually, as recommended (Gugerli, 1986). Morphology of viral particles in plants potatoes and tobacco were investigated by transmission electron microscopy using a microscope JEM 1230 (JEOL, Japan). We used negative contrasting of preparations potato plants and tobacco 2% solution of phosphotungstic acid or 2% solution of uracil acetate for 2 minutes (Салига, Снітинський, 1999).

Results and discussion

PVY^N isolate caused systemic necrosis symptoms on plants indicators. Necrosis developed on leaf tissue between the veins as a light brown spots, which eventually increased to small light brown

spots. At stems also appeared necrotic light brown stripes. The leaves with necrosis after 11–12 days of inoculation wilted, wilting begins with the basal part of the leaves and the edge of the leaf blade. The leaves are withered, in some cases the plants died. These symptoms are characteristic to infection of necrotic strains of PVY (Tribodet et al., 2005). In indicator plants that inoculated isolate PVY^O have not found out noticeable symptoms of infection. In general, the infection caused only mild mosaic and some deformation of the tissue between the veins. Finally, symptoms of mosaic disappeared. This reaction of plants to PVY infection are typical for common isolates of virus (Tian and Valkonen, 2013).

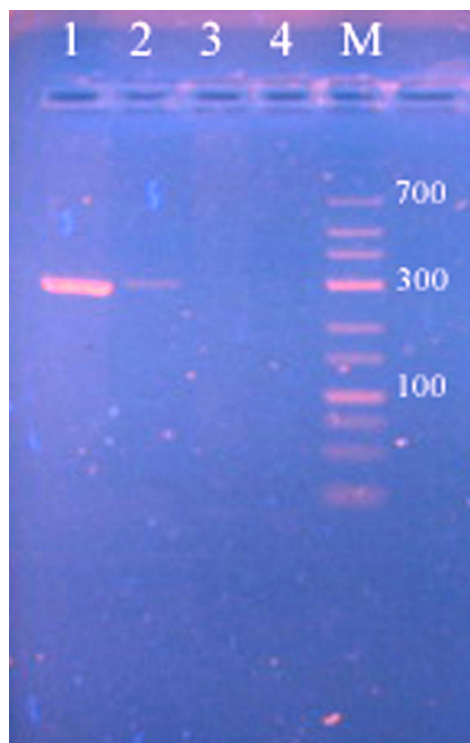


Figure 1

The results determine of the cDNA to RNA segments of PVY, PVM, PVS, PVX, PLRV and Potato spindle tuber viroid in samples *Nicotiana benthamiana*, infected PVY^O and PVY^N

Tracks 1–2: amplification products PVY (365 bp), PVS (213 bp), PVX (411 bp). Tracks 3–4: amplification products PVM (276 bp), PLRV (300 bp), PSTV (150 bp); M – marker. The samples of isolate PVY^O are on tracks 1 and 3. The samples of isolate PVY^N are on tracks 2 and 4

DAS-ELISA found antigens of PVY in the samples of indicator plants, other viruses are not detected. Products amplification of cDNA of PVY capsid gene were found by multiplexed RT-PCR in samples of indicator plants *Nicotiana benthamiana*, which were inoculated PVY^N and PVY^O isolates from potato plants (Figure 1).

Thus, used isolates of PVY, belonging to different groups of strains and didn't contain other viruses. Research of response of plants *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana rustica* to inoculation of selected isolates revealed the following. When inoculated tobacco plants varieties Samsun 155 and Sobalchskyy 34/40 with the isolate of PVY^N appeared symptoms of vein necrosis in the basal part of the leaf blade. Further necrosis spread to the petioles, sometimes on stalks of plants. The first indication of virus infection on plants of var. Samsun 155 found in 9 day after inoculation as a clarification of the veins of young leaves. Systemic necrosis quickly spread by leaf veins, causing wilting and drying of leaf blade. Part of plants of this cultivar died 30 days after inoculation. Inoculation of tobacco *Nicotiana tabacum* var. Sobalchskyy 34/40 plants with isolate PVY^N also led to the emergence of necrosis of veins, but infection didn't lead to death of the plant. Plants infected with necrotic virus's isolate, were developing for a long time, appeared symptoms of necrosis on the young leaves was the evidence of systemic infection.

Thus, the inoculation of tobacco plants discovered different reactions to inoculation common and necrotic isolates of PVY.

Inoculation of plants *Nicotiana rustica*, cultivars Matsui Field and Actec and plants tobacco variety Sobalchskyy 193 didn't cause any visible symptoms of infection (Table 1).

Table 1 Results of varieties tobacco plants inoculation by necrotic and common isolates of PVY

Species/variety	PVY isolates	
	PVY ^N	PVY ^O
<i>Nicotiana tabacum</i> , var. Samsun 155	NV, M	MM
<i>Nicotiana tabacum</i> , var. Sobalchsky 34/40	NV, M	no symptoms
<i>Nicotiana tabacum</i> , var. Sobalchsky 193	no symptoms	no symptoms
<i>Nicotiana rustica</i> , var. Matsui Field	no symptoms	no symptoms
<i>Nicotiana rustica</i> , var. Actec	no symptoms	no symptoms

NV – necrosis veins; M – mosaic; MM – mild mosaic

Thus, the results of laboratory tests showed that the cultivars of tobacco *Nicotiana tabacum* (Sobalchsky 193) and *Nicotiana rustica* (Matsui Field and Actec) may have resistance to necrotic isolate of PVY.

Significant spread of PVY cultivated plants today attracts the attention of researchers, as the virus is one of the ten most damaging plant viruses. Especially dangerous is the virus strains that cause severe symptoms in host plants. According to studies conducted in Chernihiv region of Ukraine, potato plantations necrotic PVY strains are common in recent years, even discovered samples of infected PVY^{NTN} strain, which is the most dangerous to the potato culture (Шевченко, 2006). The emergence of new strains of the virus was recorded over the last decade in many countries (Nie and Molen, 2015). Obviously, changes in the populations of the virus in our country meet the global trend of changes in the structure of strains of PVY. This leads to in-depth study of both the pathogen

and its infection reactions in plants – hosts. The use of genetically resistant plants is one of the most efficient, durable and commonly used strategies to combat viral infections in the field. For centuries, this method helped create plants with high economic qualities, combined with the absence of symptoms (Nicaise, 2014).

Conclusions

However, today the program of improvement of plants can benefit from the study of interactions between plants and viruses for the creation of resistant cultivars, suitable for use in agriculture. Detection of our varieties of tobacco that are tolerant to infection severe necrotic PVY virus isolate, makes it possible to use them to create new forms of tobacco and conduct directed selection for resistance to the culture of this dangerous pathogen. Also, our studies provide an opportunity to further study and establish mechanisms of resistance identified tobacco plants that expand knowledge in this area.

References

- Boom, R., Sol, C., Salimans, M., Jansen, C. 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin Microbiol.*, vol. 28, p. 495–503. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC269651/>.
- Chikh, A., Maoka, T., Natsuaki K. 2008. Whole genome sequence and characterization of a novel isolate of PVY inducing tuber necrotic ringspot in potato and leaf mosaic in tobacco. *J. Phytopathology*, vol. 156, p. 413–418. DOI: [10.1111/j.1439-0434.2007.01377.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01377.x)
- Gugerli, P. Potato viruses. 1986. Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*, Antigens and antibodies 2. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Germany, p. 430–446. ISBN 978-0895732330.
- Marchoux, G., Gognalons, P., Sélassié K. 2008. *Virus des solanacées: du génome viral à la protection des cultures*. Versailles: Quae, 896 p. ISBN 978-2-7592-0076-4.
- Mischenko, L., Polischuk, V., Taran, O., Gordeychik, O. 2011. *Viral infection of potato and infectivity course in simulated microgravity*. Ukrainian, Kyiv: Fitosotsiotsentr, 137 p. ISBN 978-966-306-020-4.
- Nicaise, V. 2014. Crop immunity against viruses: outcomes and future challenges. *Front Plant Sci*, vol. 5, p. 661–678. doi: [10.3389/fpls.2014.00660](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00660)
- Nie, X., Molen, T. 2015. Host recovery and reduced virus level in the upper leaves after Potato virus Y infection occur in tobacco and tomato but not in potato plants. *Viruses*, vol. 7, no. 2, p. 680–698. DOI: [10.3390/v7020680](https://doi.org/10.3390/v7020680).
- Singh, R., Valkonen, J., Gray, S., Boonham, N. 2008. The naming of Potato virus Y strains infecting potato. *Arch. Virol.*, vol. 153, p. 1–13. DOI: [10.1007/s00705-007-1059-1](https://doi.org/10.1007/s00705-007-1059-1)
- Tian, Y., Valkonen, J. 2013. Genetic determinants of Potato virus Y required to overcome or trigger hypersensitive resistance to PVY strain group O controlled by the gene Ny in potato. *Mol Plant Microbe Interact.*, vol. 26, no. 3, p. 297–305. DOI: [10.1094/MPMI-09-12-0219-R](https://doi.org/10.1094/MPMI-09-12-0219-R)
- Tribodet, M., Glais, L., Kerlan, C., Jacquot, E. 2005. Characterization of potato virus Y (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVY^N isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi. *J Gen Virol.*, vol. 86, p. 2101–2105. DOI: [10.1099/vir.0.80926-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.80926-0)
- Zhimin, Y., Chrzanowska, M., Michalak, K., Zagórska H., Zimnoch-Guzowski, E. 2012. Recombinants of PVY strains predominate among isolates from potato crop in Poland. *Journal of Plant Protection Research*, vol. 52, no. 2, p. 214–219. DOI: [10.2478/v10045-012-0033-4](https://doi.org/10.2478/v10045-012-0033-4).
- Иванитский, К., Виноградов В., Борисова И. 2012. Реакция сортов табака мировой коллекции на поражение болезнями в полевых условия. *AGROXXI*, № 4, p. 11–13. <https://www.agroxxi.ru/journal/20130709/20130709.pdf>

- Мельничук, М., Антіпов, І., Спірідонов, В., Мельничук С.Д. 2005. Розробка діагностичних тест-систем на виявлення вірусів картопляної групи методом полімеразної ланцюгової реакції. *Аграрна наука і освіта*, вип. 6, № 1–2, р. 5–8. http://nd.nubip.edu.ua/2011_6/11aio.pdf
- Салига Ю., Снітинський В. 1999. *Електронна мікроскопія біологічних об'єктів*. Львів : Світ. 152 р. ISBN 966-603-036-5.
- Савіна О. 2013. Оцінка основної колекції на стійкість проти хвороб тютюну. *Агробіологія*, № 10, р. 53–57. http://nbuv.gov.ua/UJRN/agr_2013_10_15
- Шевченко О. 2006. Розповсюдження та діагностика некротичних штамів Y-вірусу картоплі на Поліссі України. *Вісн. ХНАУ. Сер. "Рослинництво, селекція, насінництво, овочівництво"*, № 5, р. 110–115. http://www.sg-microb.ho.ua/arh/pdf15-16/SM15-16_13.pdf



VIRAL DISEASE AND LIPID PEROXIDATION IN CONDITIONS OF BIOTIC AND ABIOTIC STRESS OF *SAMBUCUS NIGRA* L. PLANTS

Taran Oksana¹, Mishchenko Lidya², Nesterova Nataliia¹, Dunich Alina²

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²ESC «Institute of Biology and Medicine», Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Received 26. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

For the first time in Ukraine, a virus disease of elderberry (*Sambucus nigra* L.) was found. Plants with symptoms of a viral infection were found in 2015–2016 in the Poltava region, in 2016 the same symptoms on elder plants were disfigured in the Kiev region. The symptoms of the disease and the morphological properties of the virus were studied. We found plants with chlorotic symptoms, mosaic and chain mail, plants rolling on the tops of leaves, and twisting the edges. In the leaves of infected plants, filamentous virions with a particle length of 650 ± 50 nm were detected by the method of electron microscopy. Based on the scientific literature data, viruses that can infect elder plants in Ukraine are screened. The levels of lipid peroxidation in older plants under conditions of viral infection and heat stress were studied. It is shown that a viral infection significantly reduces the content of TBA-active products in elder plants. The content of malonic dialdehyde significantly increased under conditions of heat stress in plants with symptoms of viral infection. At the same time, the content of TBA-active products in the leaves of healthy plants was insignificant. This indicates a negative effect of viral infection on the antioxidant system of elder plants. Further studies are needed to establish the systematic position of the detected viral particles and to create diagnosticums for the detection of these viruses. It is also necessary to study the ecological links of viruses identified in elderberry.

Keywords: elderberry; *Sambucus* spp.; viral diseases; viruses; lipid peroxidation; malondialdehyde

Introduction

Plants of genus *Sambucus* L. have a number of potentially useful medicinal attributes including diuretic, diaphoretic, purgative and hemostatic properties. These effects must be due to the presence of chemical compounds with pharmacological activity. For instance, polyphenolic substances have been associated with antioxidant action (Kiselova et al., 2006; Ebrahimzadeh et al., 2014). The cyan colour of the ripe elder fruit is due to several anthocyanidins such as cyanidin-3-O-glucoside. This anthocyanidin is especially important since it has been found to inhibit the growth of cancer cells and tumor xenografts in immune-deficient mice (Ding et al., 2006). In addition, studies have shown the possibility of using elderberry to control and prevent hyperglycemia in dietary supplements that restore the normal metabolic environment, which reduces the long-term complications associated with diabetes. It has been found that the aqueous extract of elder has significantly increased the transport of 2-deoxy-glucose, glucose oxidation and glycogenesis of mouse abdominal muscles in the absence of insulin (Gray Alison et al., 2000).

*Corresponding author: Oksana Taran, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ okstar@ukr.net

It is known that in addition to the general structural and enzymatic protein characteristics of plant species, *Sambucus* contains bioactive proteins like single- and two-chain lectins and ribosome-inactivating proteins (Girbes et al., 2004; Lapadula et al., 2013). The biological role of all these proteins is as yet unknown. The evidence suggests that they could be involved in the defense of the plant against predators and viruses or/and a nitrogen store, with an impact on the nutritional characteristics and food safety (Jiménez et al., 2015; Tejero et al., 2015).

Viral diseases of elderberry plants first described in 1925. A mosaic of *Sambucus canadensis* L. was identified in Pennsylvania, Florida and Wilkinson, the symptoms of disease were similar of disease to be caused by tobacco ringspot virus (Martin, 1925). Tomato ringspot virus and tobacco ring spot virus have been detected in native *Sambucus* in New York (Gilmer and Kelts, 1968; Hansen and Stace-Smith, 1971). Most reports of elderberry infecting are about Cherry leaf roll virus and carlaviruses. Blueberry scorch virus (BIScV), Elderberry symptomless virus (EIBSV) and several other putative members of the genus Carlavirus (family Betaflexiviridae) have also been reported in elderberry (Van Lent et al., 1980; Ellis et al., 1992; Cavileer et al., 1994; Kalinowska et al., 2013). There is report about infecting of *Sambucus canadensis* plants by filamentous virus which similar on morphological features to carlaviruses (Jones, 1972). Subsequently, the virus was detected in the Netherlands and was named Elderberry virus A (Van Lent et al., 1980). Recent studies of elderberry samples (*Sambucus* spp.) from Missouri (USA) showed infecting of these plants with two different viruses, which also belong to the genus Carlavirus (Keller et al., 2015). Five novel carlaviruses tentatively named as Elderberry virus A-E (EIVA-EIVE, respectively) were discovered (Ho and Tzanetakis, 2014; Ho et al., 2016). Several viruses are known to cause detrimental symptoms in both American and European elderberry including members of the family Bromoviridae (Way, 1981), such as cucumber mosaic virus (CMV).

However, only in a few instances symptoms observed on diseased *Sambucus* plants were reported to be correlated with the virus isolated from them. Grbelja (1972) and Schmelzer (1966) proved that the vein clearing, chlorotic spots, rings and line pattern in *Sambucus racemosa* L. were caused by CLRV. Similar symptoms in *Sambucus nigra* L. were shown to be evoked by either CLRV (Grbelja, 1972; Jones, 1973), or TBRV (Schmelzer, 1966), and those in *Sambucus nigra* L. 'Aurea' by GEV (Hansen and Stace-Smith, 1971). Tobacco ringspot virus was shown to be responsible for ringspotting, vein clearing and dark-green mottle in *S. canadensis* L., whereas TNV was proved to be the killing agent of apical buds and leaves of this *Sambucus* species (Van Lent et al., 1980).

In experiments with *Sambucus pubens* Michx. plants inoculated with the filamentous virus remained symptomless, whereas those inoculated with CLRV or with a mixture of CLRV and the filamentous virus exhibited concentric chlorotic rings, (ring) spots, line pattern and mosaic (Van Lent et al., 1980).

Thus, there is a lot of data on infecting *Sambucus* plants in the world. There are separate reports about the study of viruses, which infecting elderberry in Eastern Europe, particularly, in Poland (Pospieszny et al., 2004; Kalinowska et al., 2013), Croatia (Grbelja, 1972), Hungary (Horvath et al., 1974). Dissemination of viral diseases of elderberry in Ukraine has not been investigated until now.

There is also little information on the effect of viral infection on antioxidant status of elderberry plants, particularly on the activity of lipid peroxidation (LP). As viral infection is a stress factor comparatively to the plant, the activity of LP in the context of viral infection should change some way. Free radical oxidation disrupts the structure of many molecules such as proteins, amino acids, activates proteolytic enzymes in the cell, which hydrolyze damaged proteins. Active forms of oxygen easily break the structure of DNA. The main substrate of LP is polyunsaturated fatty acid chains, which are part of cell membranes, also lipoproteins. Particularly, the activity of the LP increases with the combined

action of stress factors, for example, the influence of the pathogen and increased temperatures. Such stress conditions can cause a displacement in the balance between LP and antioxidant activity in cell, which in turn leads to accumulation of substances that degrade the quality of plant material and reduce its therapeutic properties. Therefore, the purpose of our study was to detect viruses, that infect elderberry on the territory of Ukraine and to determine the influence of viral infection on activity of LP.

Materials and methodology

For diagnostics of viruses in the plants applied the methods of visual diagnostics and transmission electronic microscopy (EM). Contrasting has been made with 2% solution of phosphorus-tungstic acid. Virions are investigated using electron microscope JEM 1230 (JEOL, Japan). The level of lipid peroxidation in the leaf tissue was measured in terms of malondialdehyde (MDA, a product of lipid peroxidation) content determined by the thiobarbituric acid (TBA) reaction (Jambunathan, 2010). A 0.25 g leaf sample was homogenized in 5 ml 0.1% TCA. The homogenate was centrifuged at 10 000 g for 5 min. To 1 ml aliquot of the supernatant 4 ml 20% TCA containing 0.5% TBA were added. The mixture was heated at 95 °C for 30 min and then quickly cooled in an ice-bath. After centrifuging at 10 000 g for 10 min the absorbance of the supernatant at 532 nm was read and the value for the non-specific absorption at 600 nm was subtracted. The concentration of MDA was calculated using its extinction coefficient of 155 mM/cm. To create the heat stress effect, the leaves were placed for 1 h in a thermostat at a temperature of 35 °C. The control plants had no symptoms of viral infection and were exposed at room temperature. The extinction values (the optical density) of the samples were processed by statistical analysis of Student's criterion, quoted by Atramentova and Utevskeya (2008). The confidential intervals were at a significance rate of $P \leq 0.05$ of Student's.

Results and discussion

Under observations of wild elderberry plants in Poltava (2015–2016) and Kyiv (2016) regions we detected plants with chlorotic symptoms, mosaic and ringspotting (Figure 1). As well, plants rolling of leaf tops and twisting up the edges of the leaves were identified (Mishchenko et al., 2016).

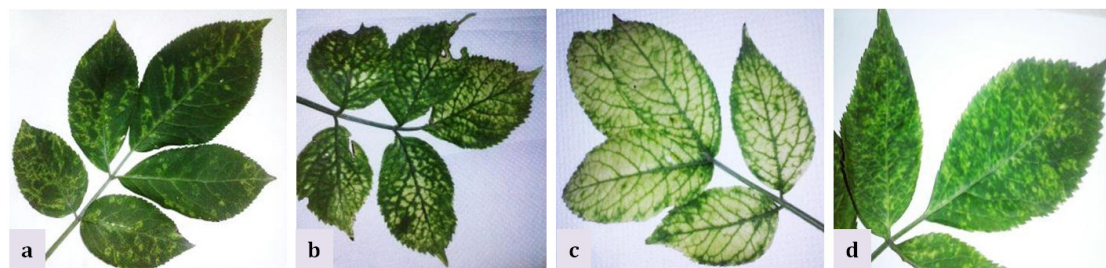


Figure 1 Symptoms of viral infection on *Sambucus nigra* L. plants
a – ringspotting, b, c – chlorotic foliage symptoms; d – mosaic

Number of affected plants accounted for over 20% of surveyed wild elderberry. It should be noted that analysis of world scientific literature on elderberry viruses showed that the most common symptom is chlorotic mottling ('blotching') and induced by many viruses. Filamentous virions $650 \pm 50 \times 12$ nm were found in the elderberry leaves conducting the transmission electron microscopy method (Figure 2). Viral particles are morphologically similar to viruses of the genus Carlavirus (family

Betaflexiviridae). It is known that the viruses that infect elder plants belong to this genus (Ho and Tzanetakis, 2014; Ho et al., 2016), but for final clarification it is necessary to carry out immunological and other molecular studies.

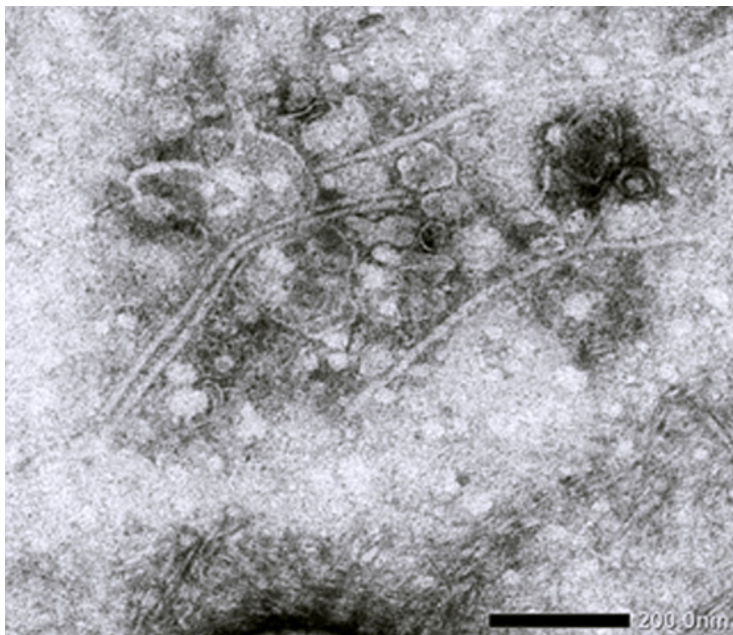


Figure 2 Electronogram of sap preparations from plants *Sambucus nigra* L. (bar = 200 nm)

Studies have shown that in plants without symptoms of viral infection with increasing temperature, changes in MDA content occur slightly (Figure 3).

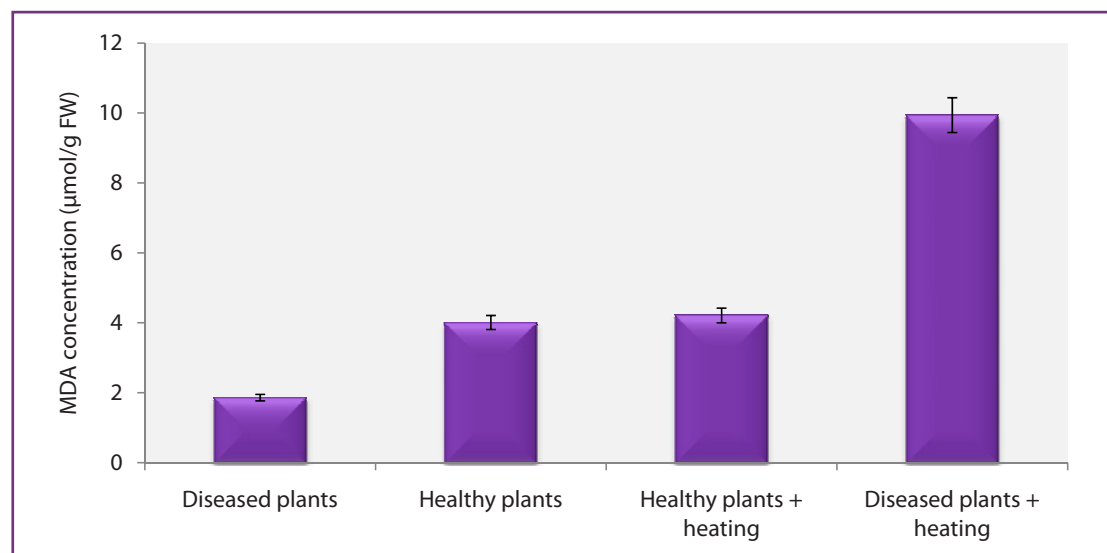


Figure 3 MDA content in *Sambucus nigra* L. plants when infected with viruses and under conditions of heat stress

However, in infected leaves of elderberry, the content of malondialdehyde was significantly lower in optimal temperatures and was only 46% to healthy control. Under conditions of thermal stress, the content of MDA in diseased plants was increased by almost 5 times, compared to plants that were not exposed to thermal stress, and 2.3 times higher than in healthy plants exposed to increased temperatures. Thus, changes in the content of TBC-active products in the juice of infected elderberry plants indicate the activation of LP under conditions of temperature stress.

The results of our studies indicate the negative impact of viral infection on the antioxidant status of elderberry plants. Evidently, that the viral infection acts as an abiotic stress, in effects of which the protective reserves of the antioxidant system of the plant are exhausted. Future times, this state of elderberry plants will reduce the viability of plantings and early death of plants. In addition, under the conditions of double biotic and abiotic stress in plants, toxic products can accumulate which will reduce the nutritional quality of elderberry and will lead to deterioration of medicinal properties of substance from this plant. Further research on the ecology of viruses is needed, which infects the elderberry plants in Ukraine, to establish their transmission pathways in ecosystems and molecular biological studies to clarify the species' belonging to this group of viruses.

Conclusions

This is the first report about viral disease of elderberry plants of *Sambucus nigra* L. in Ukraine. The filamentous viral particles were detected in plants with symptoms of mosaic, chloraticity and ring spots. It was shown that under the conditions of viral infection, the activity of LP in the elderberry leaves is changing.

References

- Atramentova, L., Utevskaia, O. 2008. *Statistical methods in biology*. Gorlovka : Lichtar. 248 p. ISBN 978-966-2129-26-7.
- Cavileer, T., Halpern, B., Lawrence, D., Podleckis, E., Martin, R., Hillman, B. 1994. Nucleotide sequence of the carlavirus associated with blueberry scorch and similar diseases. *Journal of General Virology*, vol. 75, p. 711–720. Doi: [10.1099/0022-1317-75-4-711](https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-4-711)
- Ding, M., Feng, R., Wang, S., Bowman, L., Lu, Y., Qian, Y., Castranova, V., Jiang, B., Shi, X. 2006. Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 281, p. 17359–17368. DOI: [10.1074/jbc.M600861200](https://doi.org/10.1074/jbc.M600861200)
- Ebrahimzadeh, M., Enayatifard, R., Khalili, M., Ghaffarloo, M., Saeedi, M., Yazdani, C. 2014. Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 13, no. 3, p. 1041–1047. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4177626/>
- Ellis, P., Stace-Smith, R., Converse, R. 1992. Isolation and some properties of a North American carlavirus in *Sambucus racemosa*. *Acta Horti*, vol. 308, p. 113–120. DOI: [10.17660/ActaHortic.1992.308.14](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1992.308.14)
- Gilmer, R., Kelts, L. 1968. Grape viruses and New York vineyards. *N.Y. Food Life Sci*, vol. 1, p. 3–5. http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1970Articles/Phyto60n04_619.pdf
- Girbes, T., Ferreras, J., Arias, F., Stirpe, F. 2004. Description, distribution, activity and phylogenetic relationship of ribosome-inactivating proteins in plants, fungi and bacteria. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 4, p. 461–476. DOI: [10.2174/1389557043403891](https://doi.org/10.2174/1389557043403891)
- Gray, A., Abdel-Wahab, Y., Flatt, P. 2000. The traditional plant treatment, *Sambucus nigra* (elder), exhibits insulin-like and insulin-releasing actions *in vitro*. *Journal of Nutrition*, vol. 130, no. 1, p. 15–20. <http://jn.nutrition.org/content/130/1/15.full>
- Grbelja, J. 1972. Distribution of elders (*Sambucus nigra* L. and *S. racemosa* L.) infected with cherry leaf roll virus in Yugoslavia. *Acta Bot. Croat*, vol. 31, no. 1, p. 29–36. hrcak.srce.hr/file/234904

- Hansen, A., Stace-Smith, R. 1971. Properties of a virus isolated from golden elderberry, *Sambucus nigra* aurea. *Phytopathology*, vol. 61, p. 1222–1229. DOI: [10.1094/Phyto-61-1222](https://doi.org/10.1094/Phyto-61-1222)
- Ho, T., Quito-Avila, D., Keller, K., Postmanc, J., Martinb, R., Tzanetakis, E. 2016. Evidence of sympatric speciation of elderberry carlaviruses. *Virus Research*, vol. 215, p. 72–75. DOI: [10.1016/j.virusres.2016.01.017](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.01.017).
- Ho, T., Tzanetakis, I. 2014. Development of a virus detection and discovery pipeline using next generation sequencing. *Virology*, vol. 471, p. 54–60. DOI: [10.1016/j.virol.2014.09.019](https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.09.019).
- Horvath, J., Schmelzer, K., Kuretic, N. 1974. Isolation of cherry leaf roll virus from *Sambucus nigra* L. in Hungary. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, vol. 9, no. 3/4, p. 209–218. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19751318597>
- Jiménez, P., Tejero, J., Cordoba-Diaz, D., Quinto, E., Garrosa, M., Gayoso, M., Girbés, T. 2015. Ebulin from dwarf elder (*Sambucus ebulus* L.): a mini-review. *Toxins*, vol. 7, no. 3, p. 648–658; DOI: [10.3390/toxins7030648](https://doi.org/10.3390/toxins7030648)
- Jones, A. 1973. A comparison of some properties of four strains of cherry leaf-roll virus. *Annals of Applied Biology*, vol. 74, p. 211–217. DOI: [10.1111/j.1744-7348.1973.tb07740.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1973.tb07740.x)
- Jones, A. 1972. Purification and properties of elderberry latent virus one of four obtained from American elder (*Sambucus canadensis*). *Annals of Applied Biology*, vol. 70, p. 49–58. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1744-7348.1972.tb04687.x/abstract>
- Jambunathan, N. 2010. Determination and Detection of Reactive Oxygen Species (ROS), Lipid Peroxidation, and Electrolyte Leakage in Plants. Sunkar, R. *Plant Stress Tolerance: Methods and Protocols. Humana Press, Springer Science+Business Media, LLC*, vol. 639, p. 291–301. DOI: [10.1007/978-1-60761-702-0_18](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0_18)
- Kalinowska, E., Paduch-Cichal, E., Chodorska, M. 2013. First report of Blueberry scorch virus in elderberry in Poland. *Plant Disease*, vol. 97, p. 1515. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-03-13-0277-PDN>
- Keller, K., Mosier, N., Thomas, A. 2015. Identification of two new Carlaviruses in Elderberry. *Acta Horti*, vol. 1061, p. 161–164. http://www.actahort.org/books/1061/1061_16.htm
- Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B., Yankova, T. 2006. Correlation between the *in vitro* antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from bulgarian herbs. *Phytother Res*, vol. 20, p. 961–965. DOI: [10.1002/ptr.1985](https://doi.org/10.1002/ptr.1985)
- Lapadula, W., Sánchez, P., Ayub, J. 2013. Revising the taxonomic distribution, origin and evolution of ribosome inactivating protein genes. *PLoS One*, vol. 8, e72825. DOI: [10.1371/journal.pone.0072825](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072825)
- Martin, G. 1925. Diseases of forest and shade tree, ornamental and miscellaneous plants in the united states in 1924. *Plant Disease Reports*, vol. 42, p. 313–380. <https://archive.org/details/diseasesofforest50mart>.
- Mishchenko, L., Taran, O., Glushchenko, L., Dunich, A. 2016. Detection of the pathogen of viral disease in *Sambucus nigra* plants. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, vol. 72, no. 1, p. 78–80. <http://biovestnik.com/index.php/biology>
- Pospieszny, H., Borodynyo, N., Jończyk, M. 2004. First report of tomato black ring virus (TBRV) in the natural infection of *Sambucus nigra* in Poland. *Journal of Plant Protection Research*, vol. 44, p. 373–376. <https://www.yumpu.com/en/document/view/25380754/jppr-444vp-journal-of-plant-protection-research>
- Schmelzer, K. 1966. Untersuchungen an Viren der Zier und Wildgehölze. 5 Mitteilung: Virose an *Populus* und *Sambucus* (Studies on viruses of ornamental and wild shrubs. 5. Viruses of *Populus* and *Sambucus*). *Phytopathology*, vol. 55, p. 317–351 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0434.1966.tb02236.x/abstract>
- Tejero, J., Jiménez, P., Quinto, E., Cordoba-Diaz, D., Garrosa, M., Cordoba-Diaz, M., Gayoso, M., Girbés, T. 2015. Elderberries: A Source of Ribosome-Inactivating Proteins with Lectin Activity. *Molecules*, vol. 20, no. 2, p. 2364–2387. DOI: [10.3390/molecules20022364](https://doi.org/10.3390/molecules20022364)
- Van Lent, J., Wit, A., Dijkstra J. 1980. Characterization of a Carlavirus in Elderberry (*Sambucus* spp.). *Neth. J. Pl. Path.*, vol. 86, no 2, p. 117–134. DOI: [10.1007/BF01974340](https://doi.org/10.1007/BF01974340).
- Way, R. 1981. Elderberry culture in New York state. *New Yorks Food Life Sci. Bull.* <http://hdl.handle.net/1813/5098>



PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF DIFFERENT CULTIVARS OF APRICOT

Titova Nina

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗНЫХ СОРТОВ АБРИКОСА

Титова Нина

Received 25. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

For the Republic of Moldova is particularly important selection of apricot cultivars with high adaptability to varying local conditions. Comprehensive experimental studies are needed to evaluate promising cultivars introduced from the international assortment. This report presents the results of studying during 2015–2016 the features of growth and photosynthetic ability of perspective for Moldova apricot cultivars: the four-year-old fruiting apricot plants late Sirena cultivar, two-year-old plants of the Salah cultivar with early-middle ripening period and Vasile Cochui early cultivar were studied. Plants were grown in the IGPP ASM lyzimeters. The dynamics of growth processes (specific leaf mass, leaf area), the rate of photosynthesis and transpiration using LCI device, net photosynthetic productivity, pigment fund by spectrophotometric method were studied. The obtained data show the strategy of the deployment of the leaf surface in the test cultivars: the fruiting plants of the Sirena cultivar were distinguished by the enhanced accumulation of the biomass of the leaves during the periods after flowering, growth and especially ripening of the fruit. The weight of such leaves exceeds the average values for young plants of Salah and Vasile Cochui cultivars by 17.65 and 22.10%, respectively. This corresponds to the same differences between cultivars in the specific mass leaves. The net productivity of photosynthesis, which characterizes the potential productivity of the studied cultivars, constitutes on average for unfruitful plants of Salah and Vasile Cochui cultivars respectively 59 and 51% of the values of the Sirena cultivar fruiting. The carried out researches have revealed features of growth processes, intensity of photosynthesis, transpiration and net productivity of photosynthesis different perspective cultivars of apricot. This testifies to the existence of a number of closely interconnected processes that serve as a mechanism for realizing the action of the genetic plan for the manifestation of different maturation periods for fruits and plant productivity.

Keywords: apricot; cultivars; growth; photosynthesis; transpiration

Введение

Усиленному поиску новых сортов плодовых культур, в том числе и абрикоса, уделяется в Молдове значительное внимание (Babus, 2012). Для Республики Молдова особенно важен подбор сортов абрикоса с высокой адаптируемостью к переменным местным условиям, генетической устойчивостью к морозу и высоким физиологическим потенциалом

***Corresponding author:** Nina Titova, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova, ✉ nvtmd@mail.ru

уравновешивания роста и плодоношения. Необходимы всесторонние экспериментальные исследования для оценки перспективных сортов, введенных из международного ассортимента (Babuc, 2012; Păntea, 2016).

В течение ряда лет в лаборатории фотосинтеза Института генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы совместно с отделом питомниководства НПО Кодру нами изучались физиолого-биохимические особенности ряда сортов абрикоса, произрастающих в промышленном питомнике, саду, и в условиях вегетационного опыта в лизиметрах (Şişcanu et. al., 2008; Титова и Шишкану, 2016). Особое внимание при этом уделялось формированию и функционированию фотосинтетического аппарата растений разного возраста и с разными сроками созревания плодов, характеризующих физиологическое состояние и продуктивность растений (Титова и др., 2013; Титова, 2015).

Цель работы – изучение особенностей формирования и функционирования фотосинтетического потенциала растений абрикоса, определяющих продуктивность новых перспективных сортов.

Материалы и методы

В течение 2015 – 2016 г.г. в лизиметрах вегетационного комплекса Института генетики, физиологии и защиты растений АНМ изучали 4 – 5 летние плодоносящие растения абрикоса позднеспелого сорта Сирена, двухлетние растения сортов Шалах с ранне – средним сроком созревания плодов и раннего сорта Василе Кочу. Определяли сезонную динамику важнейших параметров фотосинтетической продуктивности: формирование и развитие листовой поверхности (площадь, удельная поверхностная плотность листьев), чистую продуктивность фотосинтеза растений абрикоса (Ничипорович и др., 1961). Газометрическое определение интенсивности фотосинтеза и транспирации листьев абрикоса проводили с помощью прибора LCI (Англия), содержание хлорофиллов а и б и каротиноидов определяли в ацетоновой вытяжке спектрофотометрически. Достоверность различий между вариантами оценивали с использованием критерия Стьюдента при 0,05 % уровне значимости.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные показывают стратегию разворачивания листовой поверхности у изучаемых сортов: плодоносящие растения сорта Сирена отличаются усиленным накоплением биомассы листьев в периоды после цветения, роста и особенно созревания плодов (табл. 1). Масса листьев у них превышает в среднем величины у молодых растений сортов Шалах и Василе Кочу соответственно на 17,65 и 22.10 %. Такое преимущество сорта Сирена по массе листьев позволяет более высокое накопление ассимилятов направить на рост и урожай.

Таблица 1 Накопление биомассы листьев разных сортов абрикоса, мг сухой массы/дм²
Table 1 Biomass accumulation of leaves of different cultivars of apricot, mg dry weight/dm²

Сорт / Дата	6 – 25 мая	31 мая – 7 июня	7 – 16 июня	16 – 30 июня
Сирена	238 ±11,5	149 ±7,4	168 ±8,4	271 ±13,0
Шалах	213 ±10,5	129 ±6,2	103 ±5,2	159 ±7,9
Василе Кочу	186 ±9,3	130 ±6,3	126 ±6,1	122 ±6,0

Это соответствует таким же различиям между сортами в удельной поверхностной плотности листьев (табл. 2).

Таблица 2 Динамика удельной поверхностной плотности листьев абрикоса в течение вегетации, мг сухой массы/см²

Table 2 Dynamics of a specific mass of apricot leaves during the growing season, mg dry weight/cm²

Сорт / Дата	6 мая	25 мая	7 июня	16 июня	30 июня	7 июля
Сирена	8,2	9,57	9,4	10,04	11,74	11,22
Шалах	6,63	8,45	8,36	8,44	10,22	10,09
Василе Кочу	5,97	7,77	7,77	8,46	9,68	10,76

Сезонная динамика хлорофиллов и каротиноидов у исследуемых растений однотипна, что подтверждает наличие единого типа стратегии накопления пигментов у разных сортов абрикоса. Пигментный фонд сильнорослого сорта Шалах, как правило, превосходит другие сорта. Однако в июне во время созревания плодов у плодоносящих растений сорта Сирена сумма хлорофиллов и особенно соотношение хлорофиллов а и б было самым высоким (Титова и др., 2017).

В то же время интенсивность фотосинтеза и транспирации у разных сортов находится на близком уровне, отличаясь только в июле при созревании плодов у с. Сирена и закладке почек у с. Василе Кочу.

Для плодоносящих растений сорта Сирена и молодых растений сорта Василе Кочу в середине июля характерно повышение соотношения фотосинтеза и транспирации, что свидетельствует о повышении накопления сухого вещества на единицу поглощенной воды (табл. 3). Это создает дополнительный резерв мощности в случае запроса на ассимиляты.

Таблица 3 Отношение интенсивности фотосинтеза к интенсивности транспирации в листьях абрикоса

Table 3 Ratio of photosynthesis intensity to the transpiration intensity in the apricot leaves

Сорт / Дата	12 мая	24 мая	23 июня	19 июля
Сирена	2,41	2,12	2,28	2,9
Шалах	1,31	2,13	1,22	5,4
Василе Кочу	2,66	2,04	1,05	5,21

Как и по накоплению биомассы и удельной поверхностной плотности листьев, чистая продуктивность фотосинтеза листьев абрикоса с. Сирена превосходит её у сортов Шалах и Василе Кочу во время роста и созревания плодов (табл. 4).

Таблица 4 Чистая продуктивность фотосинтеза листьев разных сортов абрикоса (мг/дм²/час)

Table 4 Net productivity of photosynthesis of apricot different cultivars leaves (mg/dm²/h)

Сорт / Дата	6 – 25 мая	31 мая – 7 июня	7 – 16 июня	16 – 30 июня
Сирена	0,55	0,89	0,62	0,81
Шалах	0,49	0,23	0,37	0,47
Василе Кочу	0,43	0,77	0,32	0,36

Чистая продуктивность фотосинтеза, характеризующая потенциальную продуктивность исследуемых сортов, составляла, к примеру, за период 7 – 16 июня у неплодоносящих

растений сортов Шалах и Василе Кочу соответственно 59 и 51 % от значений у плодоносящего сорта Сирена. Во время созревания урожая (16 – 30 июня) нетто-фотосинтез у сорта Сирена увеличился с 0,62 до 0,81 мг/дм²/час и превышал величины чистой продуктивности фотосинтеза у сортов Шалах и Василе Кочу соответственно в 1,72 и 2,25 раза. Урожайность плодоносящих 5-летних растений абрикоса сорта Сирена в лизиметрах составляла в среднем 4675 г плодов с одного растения.

Выводы

Таким образом, выявлены особенности формирования и функционирования фотосинтетического аппарата, содержания пигментов в листьях, интенсивности фотосинтеза, транспирации и чистой продуктивности фотосинтеза, характеризующие перспективные сорта абрикоса. Это свидетельствует о наличии ряда тесно взаимосвязанных процессов, служащих механизмом в реализации генетического плана разного срока созревания плодов и продуктивности растений абрикоса.

Литература

- Babuc, V. 2012. *Pomicultura*. Chishinau: Tipografia Centrală, 663 p. ISBN 978-9975-53-067-5.
- Pintea, M. 2016. Manifestation of apricot self-compatibility and self-(in) compatibility in the conditions of the Republic of Moldova. *J.Botany*, vol. 8, no.1 (12), p. 17–20.
- Șișcanu, Gh. et. al. 2008. Estimarea fiziologo-biochimică și bioenergetică a acțiunii bioregulatorilor naturali din clasa glicozidelor steroidice asupra plantelor de cais. *Diminuarea impactului factorilor redicționării extreme asupra plantelor de cultură*. Chișinău, p. 138–145.
- Ничипорович, А.А. и др. 1961. *Фотосинтетическая деятельность растений в посевах*. М. АН СССР, 134 с.
- Титова, Н.В., Шишкану, Г.В. 2016. Взаимосвязь процессов роста и фотосинтеза в растениях абрикоса. *Mediul ambiant*, no. 1, p. 9–12. ISBN 1810-9551.
- Титова, Н.В. 2015. Характеристика пигментного фонда листьев разных сортов абрикоса. *Матер. конфер. «Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений»*. ИФР РАН, М. с. 658–662.
- Титова, Н.В., Пынтя, М., Шишкану, Г.В. 2017. Изучение пигментного фонда и фотосинтетической активности листьев разных сортов абрикоса. *Матер. VI Межд. н. конфер. «Селекційно-генетична наука і освіта»*. Умань, с. 250–253.
- Титова, Н.В., Шишкану, Г.В., Малина, Р.Б., Мащенко, Н.Е. 2013. Действие натурального препарата линарозид на фотосинтез и пигменты плодоносящих растений абрикоса. *Матер. Всерос. н. конфер. «Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде»*. Иркутск, с. 257–259. ISBN 978-5-918344-512-4.



THE ANTIMICROBIAL EFFICACY OF ETHANOLIC EXTRACT OBTAINED FROM *FICUS BENGHALENSIS* L. (MORACEAE) LEAVES

Tkachenko Halyna^{1*}, Buyun Lyudmyla², Osadowski Zbigniew¹,
Honcharenko Vitaliy⁴, Prokopiv Andriy^{3,4}

¹Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland

²M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

³Botanical Garden of Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

⁴Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

Medicinal plants have a great potential for providing novel drug leads with proven mechanism of action. The aim of our study was to investigate *in vitro* antimicrobial activity of ethanolic extract prepared from *Ficus benghalensis* L. leaves against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* locally isolated and *Streptococcus pneumoniae*) and Gram-negative bacterial strains (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*), as well as against fungus *Candida albicans* to determine the possible use of this plant in preventing infections. Antimicrobial activity of crude extract of the plant sample was evaluated by the paper disc diffusion method. Ethanolic extract obtained from leaves of *Ficus benghalensis* showed moderate antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*, while no significant antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Streptococcus pneumoniae*, methicillin-resistant *S. aureus* and *Candida albicans* was demonstrated. Among the tested microbial strains, bacteria were found to be more sensitive to many of the test agents than fungi. The antibacterial activity was more pronounced on the Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) than the Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*). The broad antibacterial activities of this extract could be as a result of the plant secondary metabolites (carbohydrates, reducing sugars, sterols, glycosides, phenolic compounds, tannins, saponins and flavonoids). Therefore, *Ficus benghalensis* has a great medicinal potential for the therapy of infections induced by Gram-positive and Gram-negative bacteria and may be used as a natural antiseptic and antimicrobial agent in medicine. Further investigation is necessary to identify those bioactive compounds, which will be a platform for clinical applications.

Keywords: *Ficus benghalensis* L.; ethanolic extract; leaves; Gram-positive and Gram-negative bacterial strains; antimicrobial activity; disc diffusion technique

Introduction

Ficus benghalensis L. is a monoecious evergreen tree reaching 20 (or more) m in height, usually hemi-epiphytic, rarely terrestrial, with puberulous leafy twigs. The species is native to India and Pakistan. It is a classic example of the banyan-type tree having aerial adventitious roots that grow down from the branches into the soil forming additional woody trunks, hence enabling an ageing tree to spread out laterally and cover a wide area. Leaves are coriaceous, 7–30 cm long and 4–20 cm wide, ovate to

*Corresponding author: Halyna Tkachenko, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland, ✉ tkachenko@apsl.edu.pl

elliptic with rounded or cordate base, puberulous on the veins. Its small sessile puberulous figs, up to 2 cm in diameter, contain all the three flower types, i.e., the seed, gall, and staminate flowers, and turn red at maturity (Berg and Corner, 2014).

The plant is well known due to its medicinal potential in ayurvedic medicine and commonly known as “banyan tree” in ayurvedic literature. It is astringent to bowels; useful in treatment of biliousness, ulcers, erysipelas, vomiting, vaginal complaints, fever, inflammations, leprosy. According to Unani system of medicine, its latex is aphrodisiac, tonic, vulnerary, and useful in piles, nose-diseases, gonorrhea, inflammations etc. treatment (Ahmad et al., 2011). The aerial root is styptic, useful in treatment of syphilis, biliousness, dysentery, inflammation of liver, etc (Varanasi, 2007).

Various scientific studies have been carried out on *Ficus benghalensis* and various pharmacological activities have been reported. It has been reported to possess immune-modulatory, hypoglycemic, antioxidant, anti-stress and anti-allergic, and anthelmintic activities (Garg and Paliwal, 2011). In Ayurveda, *Ficus benghalensis* is used for the treatment of skin disorder, rheumatism, diabetes, of diarrhea, dysentery and piles, teeth disorders, nerve disorder, and menorrhagia, to boost immune system, as antiseptic, aphrodisiac, hemostatic agent. This plant is used throughout India for the purpose of complication related to blood, bone, endocrine system, toothache, gastric disorder, reproductive, and urinary disorders, and fever. The extracts of *Ficus benghalensis* were also reported to inhibit insulinase activity from liver and kidney, fruit extracts exhibited anti-tumor activity, and flavonoid compounds obtained from the bark of *Ficus benghalensis* possess antioxidant activity in hyperlipidemic rats. Various extracts of *Ficus benghalensis* were screened for its anti-allergic and anti-stress potential in asthma by milk induced leukocytosis and milk induced eosinophilia (Panday and Rauniar, 2016). Traditionally, it is used for wounds, fever, swollen joints, inflammations, and ulcers (Patel et al., 2010).

The phytochemical screening of *Ficus benghalensis* revealed the presence of saponins, tannins and flavonoids in aqueous and methanolic extract (Aswar et al., 2008). Levels of total phenolic, total flavonol and total flavonoid compounds in aerial roots in 70 mg/g of extract, 3 mg/g quercetin equivalent and 5 mg quercetin equivalent/g extract have also been reported (Sharma et al., 2009). Some natural compounds have been isolated from the bark (Subramanian and Misra, 1978).

It is important to investigate scientifically this plant which has been used in traditional medicines as potential sources of novel antimicrobial compounds. So, the present study was conducted to investigate *in vitro* antimicrobial activity of ethanolic extracts prepared from *Ficus benghalensis* leaves against Gram-positive and Gram-negative bacteria to determine the possible use of this plant in preventing infections.

Materials and methodology

The leaves of *Ficus benghalensis* were collected in M.M. Gryshko National Botanical Garden (Kyiv, Ukraine) and Botanical Garden of Ivan Franko Lviv National University (Lviv, Ukraine) (Figure 1). The whole collection of tropical and subtropical plants at both Gardens (including *Ficus* spp. plants) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. The sampled leaves were brought into the laboratory for antimicrobial studies. Freshly crushed leaves were washed, weighted, and homogenized in 96% ethanol (in ratio 1 : 10) at room temperature.

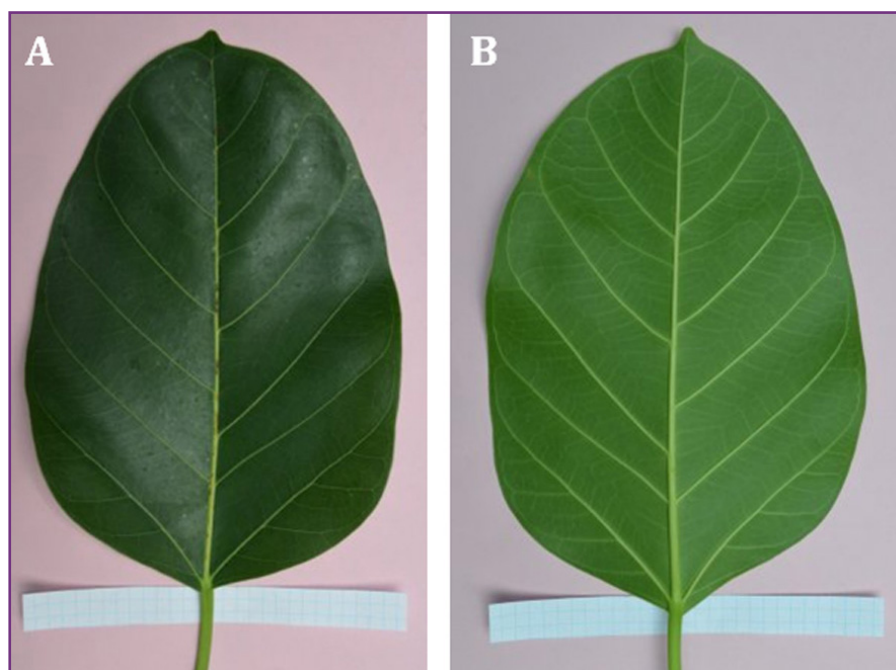


Figure 1 Leaf morphology of *Ficus benghalensis* L.
A – adaxial leaf surface; B – abaxial leaf surface

Antimicrobial activity assessment was performed according to the agar diffusion method described by Bauer and co-workers (1966). Gram-negative bacteria *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), and *Escherichia coli* (ATCC 25922), as well as Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), locally isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), as well as fungal strain *Candida albicans* were used as test organisms.

Cultures of Gram-positive and Gram-negative bacteria were suspended in sterile solution of 0.9% normal saline and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard.

All the cultures were inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extract were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37 °C for 24 h. The fungal organism used for the present study was *Candida albicans*. The plates were incubated at 27 °C. A negative control disc was impregnated with sterile ethanol used in each experiment. The antimicrobial activities of the extract tested were evaluated at the end of the inoculated period by measuring the inhibition zone diameter around each paper disc in millimeters. For each extract eight replicate trials were conducted against each organism. Zone diameters were determined and averaged. Results for the antimicrobial activities are presented as mean $\pm$ standard error of the mean. All statistical calculation was performed on separate data from each bacterial strain.

Results and discussion

The results of antimicrobial activity screening of ethanolic extract obtained from leaves of *F. benghalensis* are presented in Figure 2–4.

Ethanollic extract obtained from leaves of *Ficus benghalensis* showed mild antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (mean diameter of inhibition zones was 16.06 ± 2.11 mm), *Escherichia coli* (13.75 ± 0.54 mm), and *Pseudomonas aeruginosa* (10.69 ± 1.22 mm), while no significant antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Streptococcus pneumonia*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* was demonstrated (Figure 2–4).

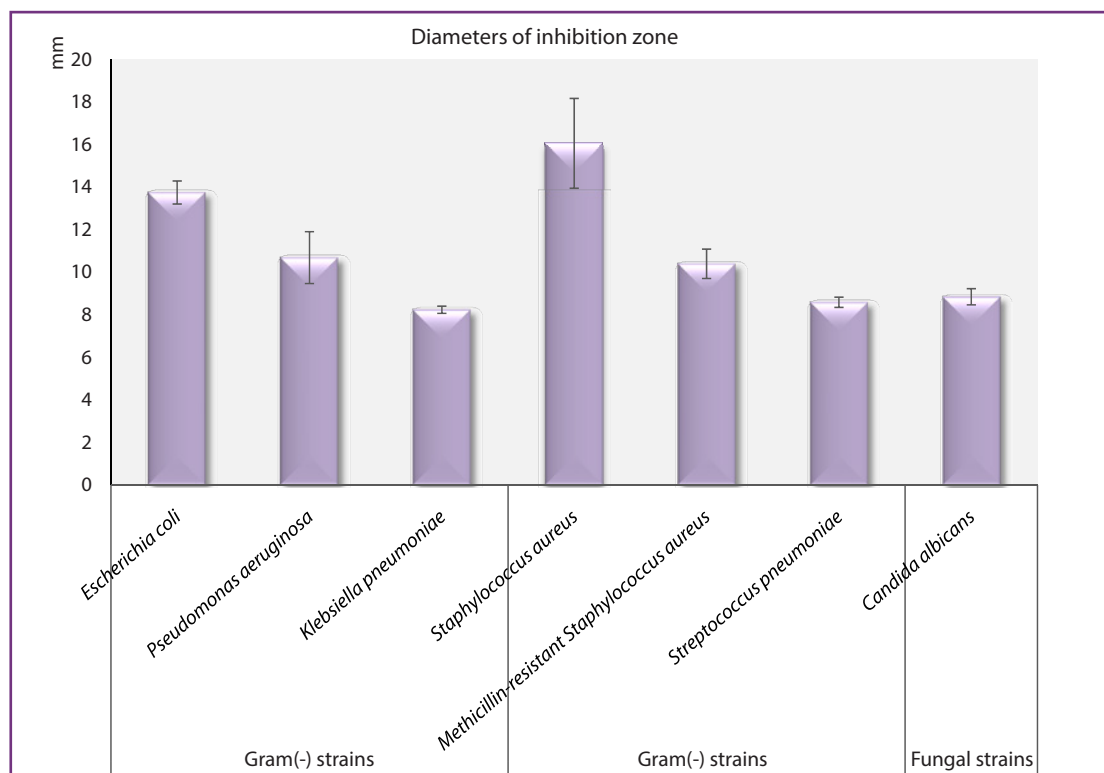


Figure 2 Antimicrobial activity of ethanolic extract obtained from *Ficus benghalensis* L. leaves against bacterial and fungal strains measured as diameters of inhibition zone ($M \pm m$, $n = 8$)

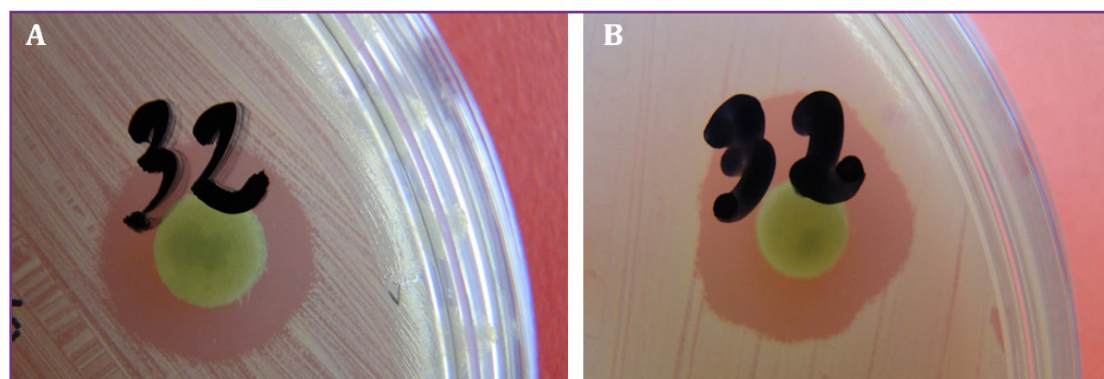


Figure 3 Antimicrobial activity of ethanolic extract obtained from *Ficus benghalensis* L. leaves against Gram-positive bacterial strains (A – *Staphylococcus aureus*; B – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) measured as diameters of inhibition zone

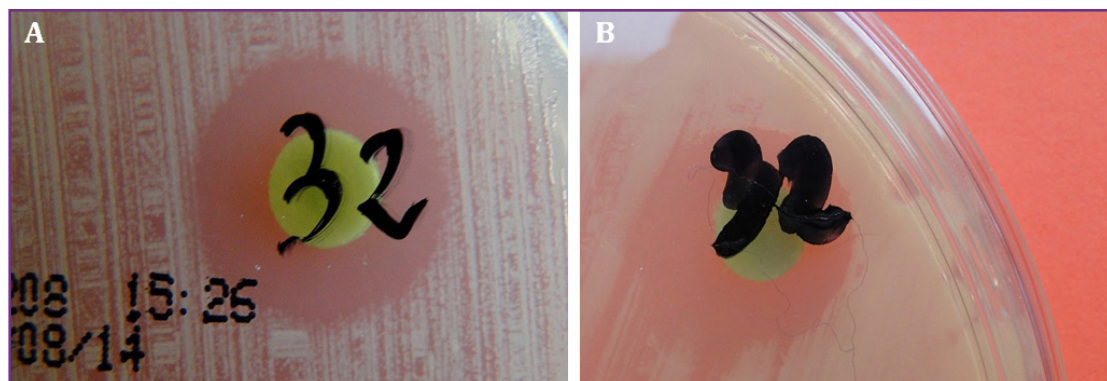


Figure 4 Antimicrobial activity of ethanolic extract obtained from *Ficus benghalensis* L. leaves against Gram-negative bacterial strains (A – *Escherichia coli*; B – *Pseudomonas aeruginosa*) measured as diameters of inhibition zone

Among the tested microbial strains, bacteria were found to be more sensitive to many of the test agents than fungi. The antibacterial activity was more pronounced on the Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) than the Gram-negative bacteria (*Escherichia* and *Pseudomonas aeruginosa*).

The reason for the difference in sensitivity between Gram-positive and Gram-negative bacteria might be ascribed to the differences in morphological constitutions between these microorganisms, Gram-negative bacteria having an outer phospholipidic membrane carrying the structural lipopolysaccharide components (Bland et al., 2001). However, in spite of this permeability differences, some of the extracts have still exhibited some degree of inhibition against Gram-negative organisms as well (Figure 2).

Previous reports have demonstrated that the *Ficus benghalensis* plant possesses quite high antibacterial activity. Gayathri and Kannabiran (2009) reported high antibacterial activity of *Ficus benghalensis* bark aqueous extract against *Staphylococcus aureus* and two other bacteria species (*Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*), with the minimal inhibitory concentration for *Staphylococcus aureus* being 0,1 mg/ml.

Phytochemical screening of the extracts showed that tannins and saponins significantly prevail over other chemical classes, suggesting their substantial contribution to the antimicrobial properties of the species. Singh and Watal (2010) screened aqueous and hexane extracts of different concentrations (25, 50, and 75 mg/ml) from *Ficus benghalensis* aerial roots against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, and *Staphylococcus aureus*.

Aqueous extract showed significantly greater inhibitory activity than hexane extract. *Staphylococcus aureus* demonstrated the highest susceptibility among the microorganisms tested. Aqueous extract affected *Staphylococcus aureus* with inhibition zone diameter values of 18 mm (at concentration 25 mg/ml), 22 mm (at 50 mg/ml), and 24 mm (at 75 mg/ml), while hexane extract showed zone diameter of 18 and 22 mm at concentrations 50 and 75 mg/ml, respectively.

On the other hand, Valsaraj and co-workers (1997) evaluated activity of ethanolic extracts from *Ficus benghalensis* aerial roots and *Ficus religiosa* leaves, among a large number of plants, against four bacterial strains (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) and two fungi (*Aspergillus niger* IMI 076837

and *Candida albicans* IMI 349010), using the agar dilution method for the former and agar-well diffusion method for the latter. *Ficus benghalensis* extracts showed weak inhibition (at concentration of 25 mg/ml) of only *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*, while *Ficus religiosa* extracts were moderately active (at concentrations 6.25 mg/ml) against *Bacillus subtilis* and weakly active against other bacteria.

The broad antibacterial activities of these extracts could be considered as a result of the plant secondary metabolites content. In general, *Ficus* species are rich sources of polyphenolic compounds. In particular, flavonoids and isoflavonoids are responsible for the extract's strong antioxidant activity that may be useful in preventing diseases involving oxidative stress (Sirisha et al., 2010; Dai et al., 2012). *Ficus benghalensis* has been reported to have versatile phytochemical constituents including ketones, flavonoids and flavonols, terpenoids, coumarins, esters, carbohydrates, serine protease (Ahmad et al., 2011). Leaves of *Ficus benghalensis* contain flavonols that are responsible for its antioxidant effects (Ahmad et al., 2011). These flavonols include quercetin-3-galactoside and rutin (Vikas and Vijay, 2010). Stem bark of *Ficus benghalensis* also contains bengalenosides that are glycosides or flavonoids (Vikas and Vijay, 2010). All these flavonoids consist of various sugars attached with OH groups of leucoperalgonidin, leucodelphinidin and leucocyanidin (Ahmad et al., 2011).

It is currently known that phenolic acids and flavonoids are antioxidants with high anti-inflammatory and anti-carcinogenic activities (Heijnen et al., 2001). All the detected phenolic acids are known to have antimicrobial and antioxidant properties (Jaafar et al., 2012). Some evidence suggests that the biological actions of these phenolic acids may be responsible for antimicrobial and antioxidant activities of another member of *Ficus* genus – *Ficus benjamina* (Imran et al., 2014).

Moreover, the number of studies has suggested protective effects of flavonoids against many infectious (bacterial and viral diseases) and degenerative diseases such as cardiovascular diseases, cancers, and other age-related diseases (Cook and Samman, 1996; Cushnie and Lamb, 2005; Kumar and Pandey, 2013). Flavonoids have an ability to induce human protective enzyme systems. The mechanisms involved in protection provided by flavonoids were described circumstantially in review of Kumar and Pandey (2013). Flavonoids also act as a secondary antioxidant defense system in plant tissues exposed to different abiotic and biotic stresses. Thus, their mode of antimicrobial action may be related to their ability to inactivate microbial adhesins, enzymes, cell envelope transport proteins, and so forth. Lipophilic flavonoids may also disrupt microbial membranes (Cowan, 2009; Kumar and Pandey, 2013). The aqueous or alcoholic extracts of various parts of *Ficus benghalensis* were found to have various pharmacological activities for example, anti-diabetic, hypocholesterolemic, hypolipidemic, anti-inflammatory, anthelmintic, antibacterial, anti-allergic and anti-tumor activity (Ahmad et al., 2011).

Conclusions

The ethanolic extract obtained from *Ficus benghalensis* leaves showed varying inhibitory activities against all the test organisms. Among the tested microbial strains, bacteria were found to be more sensitive to many of the test agents than fungi. The antibacterial activity was more pronounced on the Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) than the Gram-negative bacteria (*Escherichia* and *Pseudomonas aeruginosa*). *Ficus benghalensis* has a great medicinal potential for the therapy of infections caused by Gram-positive and Gram-negative bacteria and may be used as a natural antiseptic and antimicrobial agent in medicine. Further investigation is necessary to identify those bioactive compounds, which will be a platform for clinical applications.

References

- Ahmad, S., Rao, H., Akhtar, M., Ahmad, I., Hayat, M.M., Iqbal, Z., Nisar-ur-Rahman. 2011. Phytochemical composition and pharmacological prospectus of *Ficus benghalensis* Linn. (Moraceae) – A review. *J. Med. Plants Res.*, vol. 5, p. 6393–6400. DOI: [10.5897/JMPR11.455](https://doi.org/10.5897/JMPR11.455)
- Aswar, M., Aswar, U., Wagh, A., Watkar, B., Vyas, M., Gujar, K.M. 2008. Antimicrobial activity of *Ficus benghalensis*. *Pharmacology on line*, vol. 2, p. 715–725.
- Bauer, A.W., Kirbi, W.M., Sherris, J.C., Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 45, no. 4, p. 493–496.
- Berg, C.C., Corner, E.J.H. 2005. Moraceae (*Ficus*). Noteboom H.P. (ed.) *Flora Malesiana*, Ser. 1, vol. 17, Part 2. p. 1–730.
- Bland, M., Vermillion, S., Soper, D., Austin, M. 2001. Antibiotic resistance patterns of group B streptococci in late third-trimester rectovaginal cultures. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 184, no. 6, p. 1125–1126. DOI: [10.1067/mob.2001.115478](https://doi.org/10.1067/mob.2001.115478)
- Cook, N.C., Samman, S. 1996. Review: flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 7, no. 2, p. 66–76. DOI: [10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9)
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 12, no. 4, p. 564–582.
- Cushnie, T.P., Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 26, no. 5, p. 343–356.
- Dai, J., Shen, D., Yishida, W.Y., Parrish, S.M., Williams, P.G. 2012. Isoflavonoids from *Ficus benjamina* and their inhibitory activity on BACE1. *Planta Med.*, vol. 78, no. 12, p. 1357–1362. DOI: [10.1055/s-0032-1315001](https://doi.org/10.1055/s-0032-1315001)
- Garg, V.K., Paliwal, S.K. 2011. Wound-healing activity of ethanolic and aqueous extracts of *Ficus benghalensis*. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, vol. 2, no. 2, p. 110–114. DOI: [10.4103/2231-4040.82957](https://doi.org/10.4103/2231-4040.82957)
- Gayathri, M., Kannabiran, K. 2009. Antimicrobial activity of *Hemidesmus indicus*, *Ficus benghalensis* and *Pterocarpus marsupium* Roxb. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 71, no. 5, p. 578–581. DOI: [10.4103/0250-474X.58182](https://doi.org/10.4103/0250-474X.58182)
- Heijnen, C.G., Haenen, G.R., Vanacker, F.A., Vijgh, W.J., Bast, A. 2001. Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. *Toxicol. In Vitro*, vol. 15, p. 3–6. DOI: [10.1016/S0887-2333\(00\)00053-9](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(00)00053-9)
- Imran, M., Rasool, N., Rizwan, K., Zubair, M., Riaz, M., Zia-ul-haq, M., Rana, U.A., Nafady, A., Jaafar, H.Z. 2014. Chemical composition and biological studies of *Ficus benjamina*. *Chem. Cent. J.*, vol. 8, no. 1, p. 12. DOI: [10.1186/1752-153X-8-12](https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-12)
- Jaafar, H.Z., Ibrahim, M.H., Karimi, E. 2012. Phenolics and flavonoids compounds, phenylalanine ammonia lyase and antioxidant activity responses to elevated CO₂ in *Labisia pumila* (Myrsinaceae). *Molecules*, vol. 17, no. 6, p. 6331–6347. DOI: [10.3390/molecules17066331](https://doi.org/10.3390/molecules17066331)
- Kumar, S., Pandey, A.K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *ScientificWorldJournal*, vol. 2013, p. 16. DOI: [10.1155/2013/162750](https://doi.org/10.1155/2013/162750)
- Panday, D.R., Rauniar, G.P. 2016. Effect of root-extracts of *Ficus benghalensis* (Banyan) in memory, anxiety, muscle co-ordination and seizure in animal models. *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 16, no. 1, p. 429. DOI: [10.1186/s12906-016-1413-5](https://doi.org/10.1186/s12906-016-1413-5)
- Patel, M.A., Patel, P.K., Patel, M.B. 2010. Effects of ethanol extract of *Ficus benghalensis* (bark) on inflammatory bowel disease. *Indian J. Pharmacol.*, vol. 42, no. 4, p. 214–218. DOI: [10.4103/0253-7613.68420](https://doi.org/10.4103/0253-7613.68420)
- Sharma, R.K., Chatterji, S., Rai, D.K., Menha, S., Rai, P.K., Singh, R.K., Watal, G., Sharma, B. 2009. Antioxidant activities and phenolic contents of the aqueous extracts of some Indian medicinal plants. *J. Med. Plants Res.*, vol. 3, p. 944–948.
- Singh, R.K., Watal, G. 2010. Antimicrobial potential of *Ficus benghalensis* aerial roots. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, vol. 1, no. 3, p. 1–9. <http://www.ijpbs.net/issue-3/12.pdf>
- Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., Chetty, C.M. 2010. Antioxidant properties of *Ficus* species, a review. *Int. J. Pharma Techn. Res.*, vol. 4, p. 2174–2182.

- Subramanian, P.M., Misra, G.S. 1978. Chemical constituents of *Ficus benghalensis*. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, vol. 30, p. 559–562.
- Valdaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U.W., Adersen, A., Nyman, U. 1997. Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 58, p. 75–83.
- Varanasi, S.N. 2007. A medico-historical review of Nyagrödha (*Ficus benghalensis*). *Bull. Ind. Inst. Hist. Med.*, vol. 37, no. 2, p. 167–178.
- Vikas, V.P., Vijay, R.P. 2010. *Ficus benghalensis*. An Overview. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, vol. 1, no. 2, p. 1–11.



THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CERTAIN *SANSEVIERIA* THUNB. SPECIES AGAINST *ESCHERICHIA COLI*

Tkachenko Halyna^{1*}, Buyun Lyudmyla²,
Osadowski Zbigniew¹, Maryniuk Myroslava²

¹Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk, Poland

²M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The present study was aimed to investigate *in vitro* antimicrobial activity of ethanolic extracts of seventeen species of *Sansevieria* Thunb. genus (*Sansevieria canaliculata* Carrière, *Sansevieria trifasciata* Prain, *Sansevieria cylindrica* Bojer ex Hook., *Sansevieria parva* N.E.Br., *Sansevieria fischeri* (Baker) Marais, *Sansevieria kirkii* Baker, *Sansevieria aethiopica* Thunb., *Sansevieria metallica* Gérôme & Labroy, *Sansevieria caulescens* N.E.Br., *Sansevieria francisii* Chahin., *Sansevieria arborescens* Cornu ex Gérôme & Labroy, *Sansevieria volkensii* Gürke, *Sansevieria forskaliana* (Schult. & Schult.f.) Hepper & J.R.I.Wood, *Sansevieria gracilis* N.E.Br., *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce, *Sansevieria roxburghiana* Schult. & Schult.f., *Sansevieria suffruticosa* N.E.Br.) against *Escherichia coli* (ATCC 25922). The crude extracts were screened for antimicrobial activity using agar disk diffusion method. All the extracts showed variable degree of inhibition against tested bacterium. Therefore, the results revealed the antimicrobial potential of these extracts. In fact, the test organism was susceptible to extracts of *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria arborescens*, *Sansevieria roxburghiana*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria forskaliana*, *Sansevieria cylindrica*, *Sansevieria trifasciata*, *Sansevieria canaliculata*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica*, *Sansevieria aethiopica* with diameters of inhibition zone from 12 to 24 mm. *Escherichia coli* isolate was resistant only to *S. hyacinthoides* extract and the diameter of zone inhibition around the rest ranged from 8 to 10 mm. Thus, the ethanolic extracts obtained from leaves of *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria arborescens*, *Sansevieria roxburghiana*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria forskaliana*, *Sansevieria cylindrica*, *Sansevieria trifasciata*, *Sansevieria canaliculata*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica*, *Sansevieria aethiopica* possess antibacterial potency against *Escherichia coli* isolates and may be used as natural antiseptics and antimicrobial agents in medicine.

Keywords: *Sansevieria*; leaves extract; antimicrobial activity; paper disc diffusion method

Introduction

It was estimated that 70–80% of people worldwide rely chiefly on traditional, largely herbal; medicine to meet their primary healthcare needs (Farnsworth and Soejarto, 1991; Hamilton, 2004). The literature search on this issue has shown that *Sansevieria* Thunb., a genus with diverse ethnobotanical uses in its geographical distribution range, has occupy an important place among plant genera applied for treatment of a broad spectrum of diseases and disorders (Khalumba et al., 2005; Staples and Herbst, 2005; Takawira-Nyanya et al., 2014). During the last years, many *Sansevieria*

*Corresponding author: Halyna Tkachenko, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk, Poland, ✉ tkachenko@apsl.edu.pl

species were screened and plants with high bioactive compounds were identified (Eze et al., 2011; Sheela et al., 2012; Adelanwa and Habibu, 2015).

Genus *Sansevieria*, belonging to Asparagaceae family (Lu and Morden, 2014), comprises ca. 70 species worldwide, distributed mainly in dry or arid areas of the Old World tropics and subtropics (Staples and Herbst, 2005), with a distribution range from Africa to south east Asia and the islands of the Indian Ocean (Alfani et al., 1989). Representatives of this genus are usually xerophytic perennial rhizomatous plants that occur in dry tropical and subtropical parts of the world (Staples and Herbst, 2005).

Africa is the center of diversity for *Sansevieria* (Carlquist and Schneider, 2007). Common English names for *Sansevieria* species are snake plant or bowstring-hemp, zebra lily, cow tongue, leopard lily, devil's tongue, good luck plant along with "mother-in-law's tongue" for the widely cultivated horticultural plant *Sansevieria trifasciata* (Staples and Herbst, 2005; Takawira-Nyenya et al., 2014).

The medicinal use of rhizomes and leaves of *Sansevieria aethiopica* is widespread within its native distribution range. For example, in southern Africa rhizomes and leaves of *Sansevieria aethiopica* are used to treat numerous health complaints, including ear-infections, toothache, hemorrhoids, stomach-ache, ulcer, diarrhea and internal parasites (Hedberg and Staugard, 1989). In Namibia Bushmen apply the heated, pounded leaves to a stiff neck to give relief. Leaf sap is applied to wounds to accelerate healing and to maternal breast to stimulate milk production. Rhizomes and leaves contain ruscogenin and related sapogenins, which have anti-inflammatory and venotonic properties. Nevertheless, antibacterial tests have given negative results (Brink and Achigan-Dako, 2012).

Furthermore, *Sansevieria roxburghiana* Schult. & Schult.f. is taken as a remedy for coughs, rheumatism; as an expectorant, febrifuge, purgative, and tonic agents (Halder et al., 2010). The study of Halder and co-workers (2010) has demonstrated that the hydroalcoholic extract of *Sansevieria roxburghiana* rhizome exhibited remarkable antitumor activity against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss mice that is speciously attributable to its augmenting endogenous antioxidant mechanisms. In addition, diethyl ether, alcohol, and acetone extracts of *Sansevieria roxburghiana* rhizome showed antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Staphylococcus aureus* (Sheela et al., 2012).

The assessment of antimicrobial activity of the methanolic leaf extract of *Sansevieria liberica*, conducted by Adelanwa and Habibu (2015), has revealed that *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* were sensitive to the methanolic extract of *Sansevieria liberica* while *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* were resistant to the extract (Adelanwa and Habibu, 2015). In addition, these authors carried out the phytochemical screening of *Sansevieria liberica* leaf extract, which demonstrated the presence of carbohydrate, triterpenes, flavonoids and cardiac glycosides; and, on the other hand, absence of anthraquinones and alkaloids in the plant. However tannins, saponins and steroids were found to be absent in *Sansevieria liberica* (Adelanwa and Habibu, 2015). These results are consistent with those of Eze and co-workers (2011), which have screened the antimicrobial activity of the leaf extract of *Sansevieria liberica*. Preliminary phytochemical assessment of the crude leaf extract and the fractions showed the presence of various bioactive substances such as alkaloids, saponins, flavonoids, terpenoids, steroids, and glycosides, reducing sugars, tannins, resins, carbohydrates, proteins, acidic compounds, fats and oils (Eze et al., 2011).

Although *Escherichia coli* can be an innocuous resident of the gastrointestinal tract, it also has the pathogenic capacity to cause significant diarrheal and extraintestinal diseases (Croxen et al., 2013).

E. coli is a Gram-negative, oxidase-negative, rod-shaped bacterium from the family Enterobacteriaceae. It is able to grow both aerobically and anaerobically, preferably at 37 °C, and can either be nonmotile or motile, with peritrichous flagella. Pathogenic variants of *Escherichia coli* (pathovars or pathotypes) cause much morbidity and mortality worldwide (Croxen et al., 2013).

In addition, the development of bacterial resistance to presently available antibiotics has necessitated the search for new antimicrobial agents. Another challenging factor for the renewed interest in plant antimicrobial agents in the past 20 years has been the threatening rate of plant species extinction (Lewis and Elvin-Lewis, 1995).

Hence, an attempt has been made to evaluate antibacterial activity of seventeen species of *Sansevieria* genus against *Escherichia coli*. So the present study was conducted to investigate *in vitro* antimicrobial activity of ethanolic extracts of seventeen species of *Sansevieria* genus (*Sansevieria canaliculata* Carrière, *Sansevieria trifasciata* Prain, *Sansevieria cylindrica* Bojer ex Hook., *Sansevieria parva* N.E.Br. (syn. *S. dooneri* N.E.Br.), *Sansevieria fischeri* (Baker) Marais, *Sansevieria kirkii* Baker, *Sansevieria aethiopica* Thunb., *Sansevieria metallica* Gérôme & Labroy, *Sansevieria caulescens* N.E.Br., *Sansevieria francisii* Chahin, *Sansevieria arborescens* Cornu ex Gérôme & Labroy, *Sansevieria volkensii* Gürke (syn. *S. intermedia* N.E.Br.), *Sansevieria forskaliana* (Schult. & Schult.f.) Hepper & J.R.I.Wood, *Sansevieria gracilis* N.E.Br., *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce (syn. *S. grandis* Hook.f.), *Sansevieria roxburghiana* Schult. & Schult.f., *Sansevieria suffruticosa* N.E.Br.) against *Escherichia coli* strain.

Materials and methodology

Collection of Plant Materials

The leaves of *Sansevieria* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled for antimicrobial potency assessment at M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine.

Preparation of Plant Extracts

Freshly collected leaves were washed, weighted, crushed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1 : 19) at room temperature. Then the extracts were filtered and investigated for their antimicrobial activity. All extracts were stored at 4 °C until use.

Bacterial test strain and growth conditions

For this study, a strain of *E. coli* (ATCC 25922) was used. The cultivation medium was trypticase soy agar (Oxoid, UK), supplemented with 10% defibrinated sheep blood. Cultures were grown aerobically for 24 h at 37 °C. The cultures were later diluted with sterile solution of 0.9% normal saline to approximate the density of 0.5 McFarland standard. The McFarland standard was prepared by inoculating colonies of the bacterial test strain in sterile saline and adjusting the cell density to the specified concentration.

Determination of antibacterial activity of plant extracts by the disk diffusion method

Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion assay (Bauer et al., 1966). Culture of *Escherichia coli* was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extracts were applied over each of the culture plates. Isolates of bacterium were then incubated at 37 °C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of ethanolic extracts obtained from leaves of various *Sansevieria* species. As negative control disc impregnated with sterile ethanol was used in each experiment. At the end

of the period, the inhibition zones formed were measured in millimeters using the Vernier calliper. For each extract, six replicates were assayed. The plates were observed and photographs were taken. Zone diameters were determined and averaged.

Statistical analysis

All statistical calculations were performed on separate data from each species (Statistica 8.0, StatSoft, Poland). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (*S*) ≥ 15 mm, Intermediate (*I*) = 11–14 mm, and Resistant (*R*) ≤ 10 mm (Okoth et al., 2013).

Results and discussion

The results of antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from leaves of *Sansevieria* species are presented in Figure 1 and 2.

Extracts from the leaves of *Sansevieria kirkii* and *Sansevieria arborescens* were particularly active against tested organism (diameters of inhibition zones were 24 and 22.5 mm, respectively). It was followed by the activities of extracts derived from the leaves of *Sansevieria roxburghiana*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria forskaliana*, *Sansevieria cylindrica*, *Sansevieria trifasciata*, *Sansevieria canaliculata*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica*, *Sansevieria aethiopica* (diameters of inhibition zones were ranged within 12.0–13.5 mm). Finally, the ethanolic extracts of *Sansevieria gracilis*, *Sansevieria suffruticosa*, *Sansevieria fischeri*, and *Sansevieria hyacinthoides* showed less expressed antimicrobial activities (diameters of inhibition zones ranged from 8 to 11.5 mm) (Figure 1 and 2).

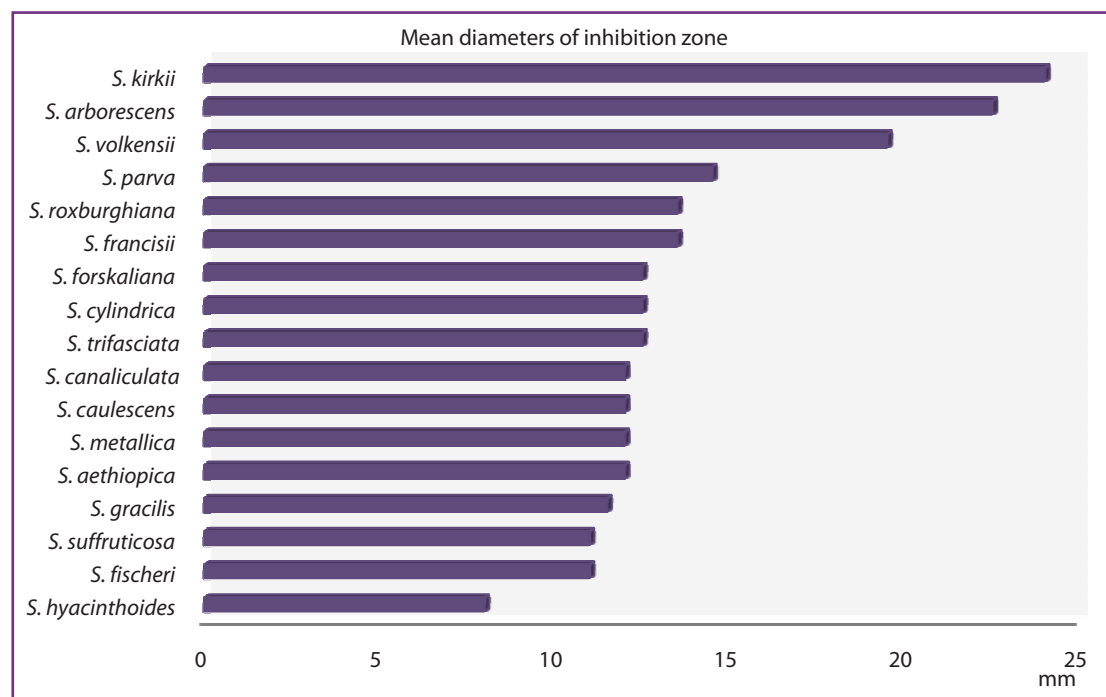


Figure 1 The diameters of inhibition zone produced by the ethanolic extracts obtained from leaves of *Sansevieria* species against *Escherichia coli* strain ($n = 6$)

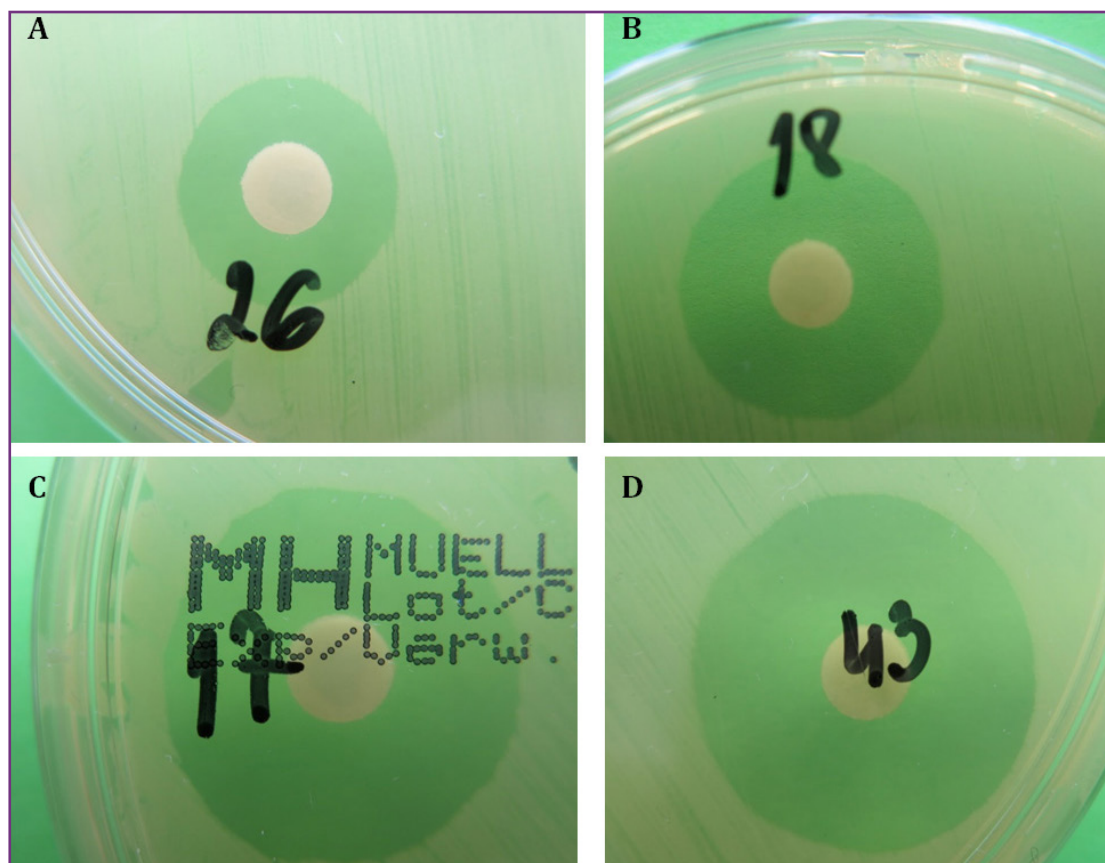


Figure 2 Antibacterial activity of the ethanolic extract obtained from the leaves of *Sansevieria parva* N.E.Br. (A), *Sansevieria volkensii* Gürke (B), *Sansevieria arborescens* Cornu ex Gérôme & Labroy (C), and *Sansevieria kirkii* Baker (D) against *Escherichia coli* strain

The practice of traditional herbal medicine is widespread and plant-derived medicines are widely used for effective infectious disease treatment (Salehzadeh et al., 2014). The investigation of antimicrobial activity carried out in this study involved the determination of the sensitivity pattern of *Escherichia coli* to the leaf extracts of seventeen species of *Sansevieria* genus. The results revealed the antimicrobial potential of these extracts. The test organism was susceptible to extracts of *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria arborescens*, *Sansevieria roxburghiana*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria forskaliana*, *Sansevieria cylindrica*, *Sansevieria trifasciata*, *Sansevieria canaliculata*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica*, *Sansevieria aethiopica* with inhibition zone diameter within 12–24 mm. *Escherichia coli* isolate was resistant only to *Sansevieria hyacinthoides* extract and the diameter of inhibition zone around the rest ranged from 8 to 10 mm.

In agreement with the results obtained from the present study, previous research papers documented the noticeable antimicrobial potency of the ethanolic extracts from *Sansevieria fischeri*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria parva*, *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria aethiopica*, *Sansevieria caulescens*, and *Sansevieria metallica* against *Staphylococcus aureus* (Deepa et al., 2011). The microbial growth inhibition capacity was attributed to the presence of the rich variety of phytochemicals including carbohydrates, saponin, flavonoids, phenols, alkaloid, anthocyanin and cyanine, glycosides, proteins

and phytosterols (Deepa et al., 2011). According to Deepa and co-workers (2011), the methanolic and acetone extracts of leaves of *S. roxburghiana* showed antibacterial activity against Gram-positive bacteria such as *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, Gram-negative bacteria such as *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescense*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnie*, and *Escherichia coli*, fungal strains *Cryptococcus* spp. and *Candida albicans* (Deepa et al., 2011). Ethyl acetate extracts of rhizomes also exhibited appreciable antimicrobial activity against most of the pathogens tested. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of the various extracts by agar dilution method ranged from 1.0 to 8.0 mg per mL. The leaf extracts exhibited better antimicrobial activity than rhizomes (Deepa et al., 2011).

In our previous study (Buyun et al., 2016), we have evaluated the antibacterial capacity of ten species of *Sansevieria* genus against *Staphylococcus aureus* in order to validate scientifically the inhibitory activity for microbial growth attributed by their popular use and to propose new sources of antimicrobial agents. The selected bacterial strain *Staphylococcus aureus* is wide spread and causes serious problems due to its pathogenicity and high levels of drug resistance. The results proved that diameters of inhibition zones ranged from 16 to 34 mm. Extracts from the leaves of *Sansevieria fischeri* and *Sansevieria francisii* were particularly active against tested organism (diameters of inhibition zones were 34 mm). This was followed by the activities of extracts derived from the *Sansevieria parva*, *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria aethiopica*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica* leaves (diameters of inhibition zones were ranged between 25 to 31 mm). The ethanolic extracts of *Sansevieria canaliculata* and *Sansevieria trifasciata* showed less antimicrobial activities (diameters of inhibition zones were ranged between 16 to 16.5 mm). The results proved that the ethanolic extracts from *Sansevieria fischeri*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria parva*, *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria aethiopica*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica* exhibit a favorable antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (Buyun et al., 2016).

In the study conducted by Poonam Sethi (2013), the ethanolic extract of rhizome of *Sansevieria roxburghiana* plant displayed remarkable antibacterial activity against the four pathogenic bacteria, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. Maximum activity was seen in the case of *Pseudomonas fluorescens* where the zone inhibition diameter was 32 mm (300 µg/ml). The MIC study revealed that the value for the *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* as 80 and 60 µg/ml for *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa* (Poonam Sethi, 2013). Hanumanth Kumar and Pramoda Kumari (2015) reported about potential bioactive secondary metabolites and revealed the possible antimicrobial activities of leaf extracts of *Sansevieria roxburghiana*. Antimicrobial screening revealed significant antimicrobial activity against *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* (Hanumanth Kumar and Pramoda Kumari, 2015). Qualitative analysis, conducted by these authors, confirmed the presence of various primary and secondary plant metabolites such as alkaloids, terpenoids, flavonoids, saponins, steroids, phenols, tannins, and quinine in selected parts of *Sansevieria roxburghiana*.

S. roxburghiana also exhibited good inhibition effect against *Staphylococcus aureus* and *P. aeruginosa* whereas *S. trifasciata* manifested good antimicrobial effect against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. It is interesting to note that the combined effect of antibiotics and plant extract has enhanced the antimicrobial effect of the extracts obtained against pathogenic microorganisms. The percentage inhibition of combined effect was calculated

and it was observed that the leaves of *S. roxburghiana* possess antimicrobial effect (50%) against *Staphylococcus aureus* combined with norfloxacin whereas the leaf extract of *S. trifasciata* when combined with tetracycline it showed 36% of inhibition against *Staphylococcus aureus*. The methanolic extract from the leaves of *S. roxburghiana* and *S. trifasciata* was effective against Gram-positive and Gram-negative pathogenic microorganisms. The 50 mg per mL of the methanolic extracts manifested effective antimicrobial effect against pathogens (Kingsley et al., 2013).

Also, the results obtained from the present research showed antimicrobial potential of eleven extracts obtained from leaves of *Sansevieria* genus against *Escherichia coli*. So, these plants extracts can be used as antiseptics and antimicrobial agents in medicine. The antibacterial activity in *Sansevieria* genus may be due to presence of alkaloids, saponins, terpenoids, steroids, glycosides, tannins, acidic compounds, fats and oils in their composition. Also flavonoids have several therapeutic effects such as antioxidant and anti-inflammatory (Akindele et al., 2015).

Conclusions

To summarize, our findings demonstrate that the ethanolic extracts obtained from leaves of *Sansevieria kirkii*, *Sansevieria arborescens*, *Sansevieria roxburghiana*, *Sansevieria francisii*, *Sansevieria forskaliana*, *Sansevieria cylindrica*, *Sansevieria trifasciata*, *Sansevieria canaliculata*, *Sansevieria caulescens*, *Sansevieria metallica*, *Sansevieria aethiopica* possess antibacterial potency against *Escherichia coli* strain. Thus, the present study suggested that plant extracts which proved to be potentially effective can be used as a natural antiseptics and antimicrobial agents in medicine. Detailed research is required aimed at finding out mode of action of bioactive compounds of various *Sansevieria* species that are responsible for the documented antimicrobial efficacy.

In conclusion, we would like to emphasize that taking into account rapid losses and degradation of natural habitats in the tropics and associated with them catastrophic declines of many plant species populations, including *Sansevieria* spp., maintenance of living plants collection *ex situ* and assessment of their medicinal properties are very important.

References

- Adelanwa, E.B., Habibu, I. 2015. Phytochemical screening and antimicrobial activities of the methanolic leaf extract of *Jacaranda mimosifolia* D. Don and *Sansevieria liberica* Thunb. *Journal of Tropical Biosciences*, vol. 10, p. 1–6.
- Akindele, A.J., Wani, Z.A., Sharma, S., Mahajan, G., Satti, N.K., Adeyemi, O.O., Mondhe, D.M., Saxena, A.K. 2015. *In vitro* and *in vivo* Anticancer Activity of Root Extracts of *Sansevieria liberica* Gerome and Labroy (Agavaceae). *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, vol. 2015, p. 11. DOI: 10.1155/2015/560404
- Alfani, A., Ligrone, R., Fioretto, A., Virzo de Santo, A. 1989. Histochemistry, ultrastructure and possible significance of dead parenchyma cells with specialized walls in the leaf and rhizome of *Sansevieria*. *Plant Cell and Environment*, vol. 12, p. 249–259. DOI: 10.1111/j.1365-3040.1989.tb01939.x
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 45, no. 4, p. 493–496.
- Brink, M., Achigan-Dako, E.G. 2012. *Plant resources of tropical Africa*. 16. Fibres. Netherlands, Source Wageningen: PROTA Foundation/CTA.
- Buyun, L., Tkachenko, H., Osadowski, Z., Maryniuk, M. 2016. Antibacterial activity of certain *Sansevieria* species against *Staphylococcus aureus*. *Śląskie Prace Biologiczne*, vol. 13, p. 19–36.
- Carlquist, S., Schneider, E.L. 2007. Origins and nature of vessels in monocotyledons. 9. *Sansevieria*. *South African Journal of Botany*, vol. 73. p. 196–203. DOI: 10.1016/j.sajb.2006.11.002.

- Croxen, M.A., Law, R.J., Scholz, R., Keeney, K.M., Wlodarska, M., Brett, B. 2013. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 26, no. 4, p. 822–880. DOI: [10.1128/CMR.00022-13](https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13)
- Deepa, P., Kaleena, P.K., Valivittan, K., Girish Kumar, C.P. 2011. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Sansevieria roxburghiana* Schult. and Schult. f. *Middle-East Journal of Scientific Research*, vol. 10, no. 4, p. 512–518.
- Eze, C.C., Inya-Agha, S.I., Ezugwu, C.O., Ezea, S.E. 2011. Antimicrobial Activities of the Leaf Extract of *Sansevieria liberica* Ger. and Labr. (Fam: Dracaenaceae). *African Journal of Pharmaceutical Research & Development*, vol. 3, no. 1, p. 14. DOI: [10.1016/S1995-7645\(11\)60195-8](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60195-8)
- Farnsworth, N.R., Soejarto, D.D. 1991. Global importance of medicinal plants. Akerele O., Heywood V. and Syngae H. (eds.) *The Conservation of Medicinal Plants*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p. 25–51.
- Haldar, P.K., Kar, B., Bhattacharya, S., Bala, A., Kumar, S.R.B. 2010. Antidiabetic activity and modulation of antioxidant status by *Sansevieria roxburghiana* rhizome in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia Croatica*, vol. 39, no. 4, p. 115–123.
- Hamilton, A.C. 2004. Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodiversity and conservation*, vol. 13, p. 1477–1517.
- Hanumanth Kumar, G., Pramoda Kumari, J. 2015. Phytochemical analysis of secondary metabolites and antimicrobial activity of *Sansevieria roxburghiana*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 4, no. 2, p. 1072–1077.
- Hedberg, I., Staugard, F. 1989. *Traditional medicinal plants: Traditional medicine in Botswana*. Gaborone: Ipeleng publishers, Broadhurst.
- Khalumba, M.L., Mbugua, P.K., Kung'u, J.B. 2005. Uses and conservation of some highland species of the genus *Sansevieria* Thunb. in Kenya. *African Crop Science Conference Proceedings*, Uganda, vol. 7, p. 527–532.
- Kingsley, D., Chauhan, R., Sinha, P., Abraham, J. 2013. Screening and Characterization of Antimicrobial Agents from *Sansevieria roxburghiana* and *Sansevieria trifasciata*. *Asian Journal of Plant Sciences*, vol. 12, no. 5, p. 224–227. DOI: [10.3923/ajps.2013.224.227](https://doi.org/10.3923/ajps.2013.224.227)
- Lewis, W.H., Elvin-Lewis, M.P. 1995. Medicinal plants as sources of new therapeutics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, vol. 82, no. 1, p. 16–24. DOI: [10.2307/2399976](https://doi.org/10.2307/2399976)
- Lu, P.-L., Morden, C. 2014. Phylogenetic relationships among Dracaenoid genera (Asparagaceae: Nolinoideae) inferred from chloroplast DNA loci. *Systematic Botany*, vol. 39, no. 1, p. 90–104. DOI: [10.1600/036364414X678035](https://doi.org/10.1600/036364414X678035)
- Okoth, D.A., Chenia, H.Y., Koorbanally, N.A. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of flavonoids from *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae). *Phytochem. Lett.*, vol. 6, p. 476–481. DOI: [10.1016/j.phytol.2013.06.003](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.06.003)
- Salehzadeh, A., Asadpour, L., Naeemi, A.S., Housmand, E. 2014. Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Sambucus ebulus* and *Urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, vol. 11, no. 5, p. 38–40. DOI: [6511v.ajtcam/43141](https://doi.org/10.6511/ajtcam/43141)
- Sethi, P. 2013. Biological characterization of the rhizome of *Sansevieria roxburghiana* Schult. & Schult. f. (Agavaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 7, no. 17, p. 1201–1203. DOI: [10.5897](https://doi.org/10.5897)
- Sheela D.J., Jeeva S., Shamila I.M.R., Packia Lekshmi N.C.J., Raja Brindha J. 2012. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Sansevieria roxburghiana* leaf. *Asian Journal of Plant Science and Research*, vol. 2, no. 1, p. 41–44.
- Staples, G.W., Herbst, D.R. 2005. *A Tropical Garden Flora: Plants cultivated in the Hawaiian Island and other tropical places*. Honolulu, Hawaii: Bishop Museum Press.
- Takawira-Nyenya, T., Newton, L.E., Wabuyele, E., Stedje, B. 2014. Ethnobotanical uses of *Sansevieria* Thunb. (Asparagaceae) in Coast Province of Kenya. *Ethnobotany Research and Application*, vol. 12, no. 1, p. 51–69. DOI: [10.17348/era.12.0.051-069](https://doi.org/10.17348/era.12.0.051-069)



THE ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF EXTRACTS OBTAINED FROM *BEGONIA GOEGOENSIS* N.E.BR. LEAF AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATES

Tkachenko Halyna^{1*}, Buyun Lyudmyla², Osadowski Zbigniew¹

¹Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk, Poland

²M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The present study was designed to evaluate the antibacterial property of crude extracts of the leaves of *Begonia goegoensis* N.E.Br. prepared in different solvent systems against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27583) and β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* (MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa*) strains. Therefore, five kinds of solvents were used to extract the active ingredients from the leaves of *Begonia goegoensis*: ethanol, methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane. The testing of antibacterial activity of the plant extracts was carried out *in vitro* by Kirby-Bauer disc diffusion technique. Subsequently, the present study has shown that ethanolic extract from the leaves of *Begonia goegoensis* exhibited strong activity against *Pseudomonas aeruginosa* (inhibition zone diameter ranged from 12 mm to 13 mm), while methanolic leaf extract screened revealed less profound activity (within 11–12.5 mm). Moreover, it has been observed that ethyl acetate, hexane and dichloromethane extracts obtained from leaves of *Begonia goegoensis* revealed no antibacterial activity against *P. aeruginosa* and MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* strains. MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* was also susceptible to ethanolic and methanolic extracts (inhibition zone diameter ranged from 12.5 mm to 15.5 mm). Thus, the spectrum of activity observed in the present study indicate that the alcoholic leaf extract of *Begonia goegoensis* could be a possible source to obtain new and effective herbal medicines to treat various infectious diseases, including infections, caused by drug resistant microorganisms.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; *Begonia goegoensis*; leaf extract; antimicrobial activity ; Kirby-Bauer disc diffusion technique

Introduction

Pseudomonas aeruginosa is an infectious bacterial species, capable to infecting and promoting disease in different tissues, and responsible for remarkable morbidity and mortality rates in humans (Doosti et al., 2013). Several mechanisms are involved in *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antimicrobial agents, such as chromosomal expression of resistance encoding genes, β -lactamase production, efflux pumps and a decrease in membrane permeability (Rodrigues et al., 2011; Doosti et al. 2013). One of the mechanisms of resistance to carbapenem antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* is metallo- β -lactamases (MBL) production that hydrolyzes all carbapenems (Lepsanovic et al., 2008; Chin et al., 2011; Doosti et al., 2013).

*Corresponding author: Halyna Tkachenko, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk, Poland, ✉ tkachenko@apsl.edu.pl

In the past years, the pharmaceutical industry has been focused mainly on libraries of synthetic compounds as drug discovery source. However, at the same time a declining trend in the number of new drugs reaching the market has been observed, raising renewed scientific interest in drug discovery from natural sources despite its known advantages and benefits, e.g. cost-effectiveness and global availability as well as their safety compared to other medicinal products and the lack of major side-effects (Atanasov et al., 2015; Yamani et al., 2016).

Medicinal plants have a great potential as antimicrobial compounds sources against microorganisms for providing novel drug leads with the proven mechanism of action (Singh et al., 2012; Venkatadri et al., 2015). Moreover, plant extracts can be used in the treatment of infectious diseases caused by drug resistant microorganisms (Venkatadri et al., 2015).

Begonia L. is one of the most species-rich angiosperm genera with approximately 1500 species currently recognized (Frodin, 2004). Within the genus *Begonia*, there is a large range of morphological diversity, particularly in vegetative form, and this is linked to adaptation to a variety of ecological conditions. Vegetative adaptations such as the evolution of perennial rhizomes, leaf micromorphology optimized for low, scattered light; or stomatal clustering may underlie their ability to thrive in diverse niches (Dewitte et al., 2011).

Begonia species are globally important ornamental plants widely used in cultivation. However, in their native environments, many *Begonia* species are rare and threatened by deforestation (Chan et al., 2015). Since *Begonia* genus is widespread in tropical regions of the world, its species have been used by local people as folk or traditional herbal medicines. Moreover, phytochemical investigations of *Begonia* species have revealed that many compounds, isolated from this genus are highly bioactive (Tsybulya et al., 2010; Karpova et al., 2011).

Consequently, in the present work, extracts prepared in different solvent systems obtained from crude leaves of *Begonia goegoensis* N.E.Br. were evaluated for its antibacterial property against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27583) and β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* (MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa*). This *Begonia* species belonging to Begoniaceae family has been selected, because the antimicrobial activity of *Begonia* species has been well studied (Tsybulya et al., 2010; Karpova et al., 2011).

Materials and methodology

Collection of Plant Material

The leaves of *Begonia goegoensis* (Figure 1) plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine.

Preparation of Plant Extracts

Freshly sampled leaves were washed, weighted, crushed, and homogenized in 96% ethanol, methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane (in ratio 1 : 19) at room temperature. All extracts were stored at 4 °C until use.

Bacterial Growth Inhibition Test of Plant Extracts by the Disk Diffusion Method

The antimicrobial activity of the extract was evaluated by the agar disk diffusion assay (Bauer et al., 1966). Strains of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27583) and locally isolated MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* were suspended in sterile solution of 0.9% normal saline and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. Culture was inoculated onto Mueller-Hinton

(MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extracts were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37 °C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of extracts obtained from leaves of *Begonia goegoensis*. Negative control discs impregnated with sterile ethanol, methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane were used in each experiment. The antimicrobial activities of the extracts tested were evaluated at the end of the inoculated period. At the end of the incubation period, the diameters of zones of inhibition were measured and photographs were taken. All assays were repeated in six replicates and the mean zones of inhibition were recorded. All statistical calculations were performed on separate data from each bacterial strains and extracts. The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S) ≥ 15 mm, Intermediate (I) = 11–14 mm, and Resistant (R) ≤ 10 mm (Okoth et al., 2013).

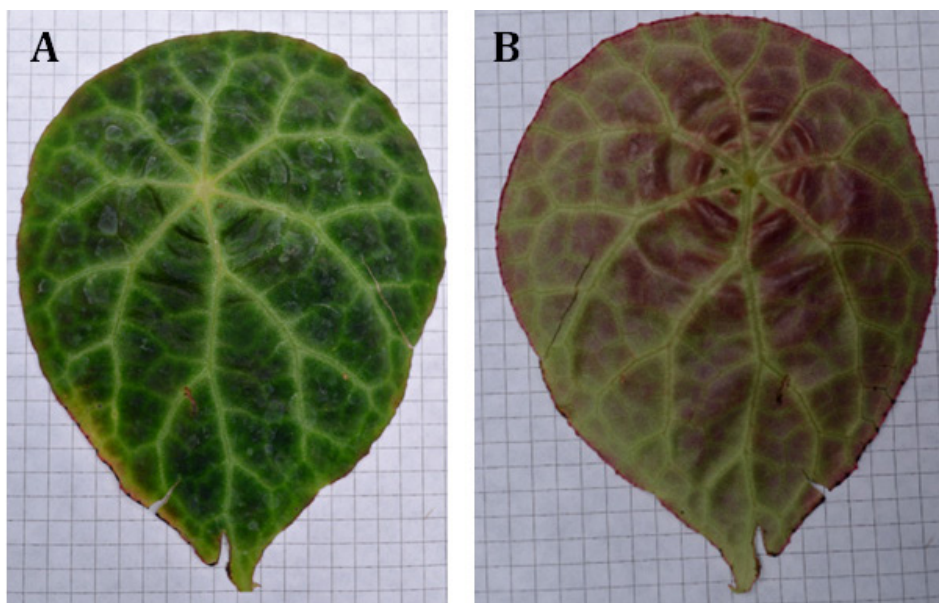


Figure 1 Leaf morphology of *Begonia goegoensis* N.E.Br.
A – adaxial leaf surface; B – abaxial leaf surface

Results and discussion

Antimicrobial activity of various extracts obtained from leaves of *Begonia goegoensis* against *Pseudomonas aeruginosa* and MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* measured as diameters of zones of inhibition was presented in Figure 2 and 3.

The present study has shown that ethanolic extract from the leaves of *Begonia goegoensis* exhibited strong activity against *Pseudomonas aeruginosa* (inhibition zone diameter ranged from 12 mm to 13 mm), while a methanolic extract from leaves revealed less activity (11 and 12.5 mm) (Figure 2 and 3).

Moreover, it has been observed that ethyl acetate, hexane and dichloromethane extracts obtained from leaves of *Begonia goegoensis* revealed no antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and MBL-positive *P. aeruginosa*. MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* was also susceptible to

ethanolic and methanolic extracts (inhibition zone diameter ranged from 12.5 mm to 15.5 mm) (Figure 2 and 3).

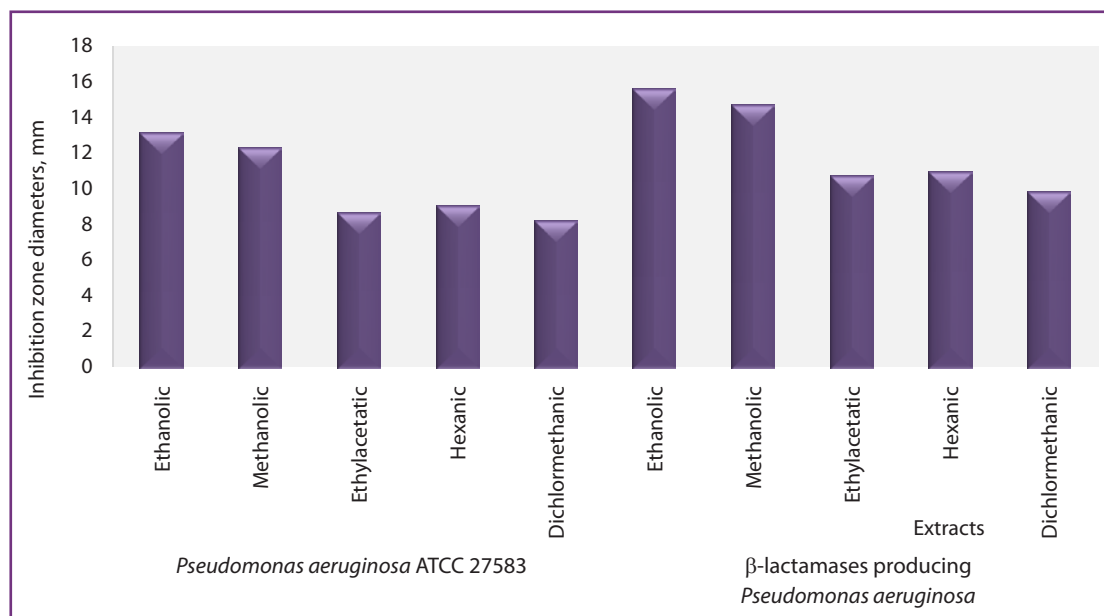


Figure 2 Antimicrobial activity of various extracts obtained from leaves of *Begonia goegoensis* N.E.Br. against *Pseudomonas aeruginosa* and MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* measured as diameters of zones of inhibition

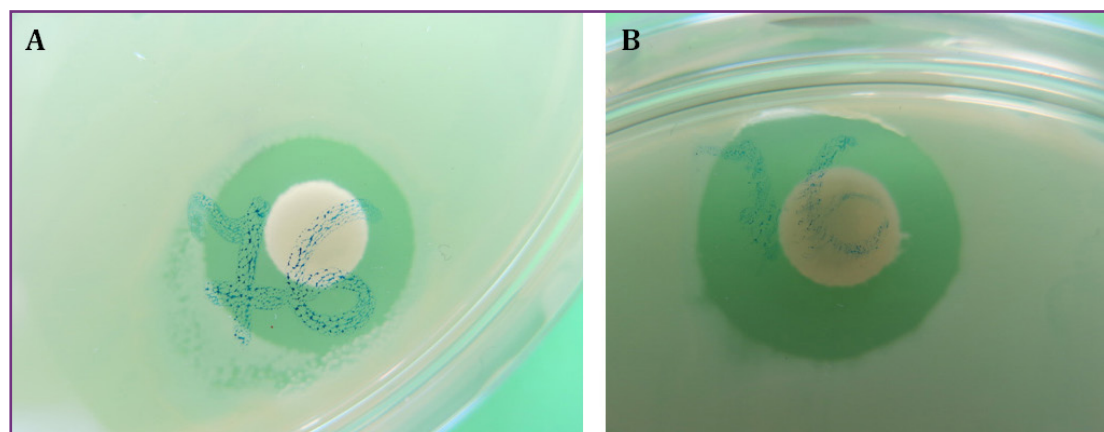


Figure 3 Antibacterial spectrum of ethanolic extracts obtained from leaves of *Begonia goegoensis* N.E.Br. against *Pseudomonas aeruginosa* (A) and MBL-positive *Pseudomonas aeruginosa* (B)

These results are in line with findings of Suresh and Nagarajan (2009) who have found similar data due to a screening of antimicrobial efficacy of other *Begonia* species against Gram-positive and Gram-negative bacteria as well as fungi. Aqueous extracts of *Begonia malabarica* Lam. leaves showed antimicrobial activity which is more profound against fungal strains than the bacterial strains. Moreover, the maximum activity was observed against *Vibrio cholerae*, whereas among

the fungal strains the most susceptible to plant extract screened was *Aspergillus niger* (Suresh and Nagarajan, 2009). In another study, aqueous leaves extract showed antimicrobial activity against the Gram-negative bacteria except for *Vibrio parahaemolyticus*. Nevertheless, the chloroform and methanol extracts showed minimum activity against all the tested bacteria (Ramesh et al., 2002). The antibacterial activity of methanolic extracts of *Begonia floccifera* Bedd. flowers against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus pyogenes* were investigated by Jeeva et al. (2012). In addition, the results of the phytochemical screening, conducted by these authors, revealed that extract of *Begonia floccifera* flowers screened contained phenol, tannins, xanthoproteins, steroids, tannins, steroids, phytosterols, triterpenoids, sapogenins, coumarins and carbohydrates. Interestingly, the bacteria tested have exhibited susceptibility to methanolic extracts of *Begonia floccifera* in varied degree. For example, the maximum zone of inhibition was 28 mm for *Bacillus cereus*, 25 mm for *Staphylococcus aureus*, 15 mm for *Escherichia coli*, 13 mm for *Proteus mirabilis*, 7 mm for *Klebsiella pneumonia*. Therefore, the antimicrobial activity of methanolic extracts of *B. floccifera* flowers against various bacteria tested is comparable and their potential as an alternative in the treatment of infections caused by these microorganisms is of great importance (Jeeva et al., 2012).

The preliminary phytochemical studies of *Begonia malabarica* by Ramesh and co-workers (2002) revealed the presence of flavone, sterol, triterpene in hexane, chloroform, and methanol extracts; phenol in chloroform and methanol extracts and quinone, saponin, tannin and starch in methanol extract. All the extracts did not answer for alkaloid. Flavones are becoming the subject of antimicrobial study and many groups have isolated and identified different flavones possessing antifungal, antiviral and antibacterial activity. Nitrogen containing flavones have been reported to have considerable antimicrobial activity. The compounds, bearing amino alkyl, cyano- or alkenyl alkyl group on piperazine are found to be the potent antibacterial and antifungal agents (Singh et al., 2014). Cushnie and Lamb (2005) revealed that flavonoids possess capabilities to form complexes with extracellular soluble protein and bacterial cells.

Catechins also posed antibacterial potential via DNA gyrase prohibition operations. It is also worth noting that catechins could enhance the sensitivity of bacterial antibiotic resistance to other kinds of antibiotics, such as tetracycline and β -lactam, by rehabilitating the repressors sensitivity (Stapleton et al., 2004).

Three new compounds: begononline, nantoamide and methyl (S)-glycerate, as well as forty-four known compounds have been isolated and characterized from the rhizomes of *Begonia nantoensis* by Wu and co-workers (2004). Some of them showed cytotoxicity against four human cancer cell lines and demonstrated significant activity against HIV replication in H9 lymphocyte cells (Wu et al., 2004).

Ramesh and co-workers (2002) have observed that hexane, chloroform and methanolic extracts of the leaves of *Begonia malabarica* did not exhibit of antifungal activity against the *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* and *Candida albicans*. Moreover, the hexane extract did not show antibacterial activity also. The significant activity against *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* shown by chloroform and methanolic extracts implicates the use of the plant in respiratory tract diseases by the tribals. The activity of the same extracts against *Vibrio parahaemolyticus* suggests the use of the plant in diarrhea. The activity of the chloroform and aqueous extracts against *Chromobacterium violaceum* supports the use of plant against skin lesions and pyemia (Ramesh et al., 2002).

Moreover, we also investigated the anti-*Escherichia coli* activity of the ethanolic extracts from the leaves of *Begonia* species plants, cultivated under glasshouse conditions at M.M. Gryshko National Botanical Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine (Tkachenko et al., 2016). Our previous study has shown that ethanolic extracts obtained from leaves of *Begonia* species had moderate activity against *E. coli*. The diameters of inhibition zone for *Begonia solimutata* L.B.Sm. & Wassh. were 14 mm, 11.5 mm for *Begonia goegoensis* N.E. Br., 13 mm for *Begonia foliosa* Kunth, 13.5 mm for *Begonia* × *bunchii* L.H. Bailey 15 mm for *Begonia thiemei* C.DC., 19 mm for *Begonia peltata* Otto & Dietr., 12 mm for *Begonia heracleifolia* Cham. & Schltdl., 11.5 mm for *Begonia dregei* Otto & Dietr., and 16 mm for *Begonia mexicana* G. Karst ex Fotsch. The highest antimicrobial effect was recorded for *Begonia peltata*, *Begonia mexicana*, and *Begonia thiemei*. The most antimicrobially effective plant against *Escherichia coli* was *Begonia peltata*, being highly active with the ethanolic extract (diameter of inhibition zone was 19 mm). The highly active antimicrobial effects noted against Gram-positive and Gram-negative bacteria are worthy of highlighting (Tkachenko et al., 2016).

Conclusions

This study emphasizes the importance of ethanolic extract of *Begonia goegoensis* as effective antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa* and β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa*. The plant studied here had shown that it is potentially rich in antimicrobial compounds. The use of *Begonia* species in medicine and veterinary suggests that they represent an economic and safe alternative for treatment of resistant microorganisms. Since this is a small study, a further and larger scale investigation of the efficacy of extracts prepared from other *Begonia* species as well as with various solvents, is necessary to confirm these results.

References

- Atanasov, A.G, Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.M, Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S. et al. 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnol. Adv.*, vol. 33, no. 8, p. 1582–1614. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2015.08.001](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001)
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 45, no. 4, p. 493–496.
- Chan, Y.M., Twyford, A.D., Tnah, L.H., Lee, C.T. 2015. Characterisation of EST-SSR markers for *Begonia maxwelliana* (Begoniaceae) and cross-amplification in 23 species from 7 Asian sections. *Scientia*, vol. 190, p. 70–74. DOI: [10.1016/j.scienta.2015.04.012](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.012)
- Chin, B.S., Han, S.H., Choi, S.H., Lee, H.S., Jeong, S.J., Choi, H.K., Choi, J.Y., Song, Y.G., Kim, C.K., Yong, D., Lee, K., Kim, J.M. 2011. The characteristics of metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacilli isolated from sputum and urine: a single center experience in Korea. *Yonsei Med. J.*, vol. 52, no. 2, p. 351–357. DOI: [10.3349/ymj.2011.52.2.351](https://doi.org/10.3349/ymj.2011.52.2.351)
- Cushnie, T.P., Lamb, A.J. 2005. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *J. Ethnopharmacol.*, vol. 101, no. 1–3, p. 243–248. DOI: [10.1016/j.jep.2005.04.014](https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.014).
- Dewitte, A., Twyford, A.D., Thomas, D.C., Kidner, C.A., Van Huylbroeck, J. 2011. The origin of diversity in *Begonia*: genome dynamism, population processes and phylogenetic patterns. Venora, G, Grillo, O., López-Pujol, J. *The Dynamical Processes of Biodiversity – Case Studies of Evolution and Spatial Distribution*. Croatia, Intech Press, Rijeka, p. 27–52. DOI: [10.5772/23789](https://doi.org/10.5772/23789)
- Doosti, M., Ramazani, A., Garshasbi, M. 2013. Identification and characterization of metallo- β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. *Iran Biomed. J.*, vol. 17, no. 3, p. 129–133. DOI: [10.6091/ibj.1107.2013](https://doi.org/10.6091/ibj.1107.2013)

- Frodin, D.G. 2004. History and concepts of big plant genera. *Taxon*, vol. 53, p. 753–776. DOI: [10.2307/4135449](https://doi.org/10.2307/4135449)
- Jeeva, S., Marimuthu, J., Antonisamy, J. 2012. Anti-bacterial and phytochemical studies on methanolic extracts of *Begonia floccifera* Bedd. flower. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, p. S151–S154. DOI: [10.1016/S2221-1691\(12\)60147-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60147-6)
- Karpova E.A., Tsybula, N.V. Kchramova E.P., Yakimova, Y.L., Fershalova, T.D. 2011. Antimicrobial activity and flavonoids content of some representatives of genus *Begonia* L. used in phytodesign. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, no. 1, p. 8–17.
- Lepsanovich, Z., Libisch, B., Tomanovic, B., Nonkovici, Z., Balogh, B., Fuzi, M. 2008. Characterisation of the first VIM metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Serbia. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, vol. 55, no. 4, p. 447–454. DOI: [10.1556/AMicr.55.2008.4.9](https://doi.org/10.1556/AMicr.55.2008.4.9)
- Okoth, D.A., Chenia, H.Y., Koorbanally, N.A. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of flavonoids from *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae). *Phytochem. Lett.*, vol. 6, p. 476–481. DOI: [10.1016/j.phytol.2013.06.003](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.06.003)
- Ramesh N., Viswanathan M.B., Saraswathy A., Balakrishna K., Brindha P., Lakshmanaperumalsamy, P. 2002. Phytochemical and antimicrobial studies of *Begonia malabarica*. *J. Ethnopharmacol.*, vol. 79, no. 1, p. 129–132. DOI: [10.1016/S0378-8741\(01\)00352-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00352-X)
- Rodrigues, A.C., Chang, M.R., Nóbrega, G.D., Rodrigues, M.S., Carvalho, N.C., Gomes, B.G., Almeida, D.L. et al. 2011. Metallo-beta-lactamase and genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units in Campo Grande, MS, Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, vol. 15, no. 3, p. 195–199. DOI: [10.1016/S1413-8670\(11\)70174-X](https://doi.org/10.1016/S1413-8670(11)70174-X)
- Singh, A.G., Kumar, A., Tewari, D.D. 2012. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Terai forest of western Nepal. *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, vol. 8, p. 19. DOI: [10.1186/1746-4269-8-19](https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-19)
- Singh, M., Kaur, M., Silakari, O. 2014. Flavones: an important scaffold for medicinal chemistry. *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 84, p. 206–239. DOI: [10.1016/j.ejmech.2014.07.013](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.013)
- Stapleton, P.D., Shah, S., Anderson, J.C., Hara, Y., Hamilton-Miller, J.M., Taylor, P.W. 2004. Modulation of beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 23, no. 5, p. 462–467. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2003.09.027](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.09.027)
- Suresh, S.N., Nagarajan, N. 2009. Preliminary phytochemical and antimicrobial activity analysis of *Begonia malabarica*. *LAM J. Basic Appl. Biol.*, vol. 3, no. 1–2, p. 59–61.
- Tkachenko, H., Buyun, L., Osadowski, Z., Belayeva, Ya. 2016. *In vitro* microbiological investigation of ethanolic extracts obtained from leaves of various *Begonia* species against *Escherichia coli*. *Ślupskie Prace Biologiczne*, vol. 13, p. 277–294.
- Tsybulya, N.V., Fershalova, T.D., Yakimova, Yu.L. 2010. Examination of the antimicrobial activity of some *Begonia* L. species as a possible piece of phytodesign. *Aerokosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*, vol. 44, no. 1, p. 47–50.
- Venkatadri, B., Arunagirinathan, N., Rameshkumar, M.R., Ramesh, L., Dhanasezhian, A., Agastian, P. 2015. *In vitro* Antibacterial Activity of Aqueous and Ethanol Extracts of *Aristolochia indica* and *Toddalia asiatica* Against Multidrug-Resistant Bacteria. *Indian J. Pharm. Sci.*, vol. 77, no. 6, p. 788–791. DOI: [10.4103/0250-474X.174991](https://doi.org/10.4103/0250-474X.174991)
- Wu, P.L., Lin, F.W., Wu, T.S., Kuoh, C.S., Lee, K.H., Lee, S.J. 2004. Cytotoxic and anti-HIV principles from the rhizomes of *Begonia nantoensis*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, vol. 52, no. 3, p. 345–349.
- Yamani, H.A., Pang, E.C., Mantri, N., Deighton, M.A. 2016. Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) Essential Oil and Their Major Constituents against Three Species of Bacteria. *Front Microbiol.*, vol. 7, p. 681. DOI: [10.3389/fmicb.2016.00681](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00681)



PRESERVATION AND USE OF LOCAL CULTIVARS OF BUCKWHEAT UKRAINE NATIONAL COLLECTION

Tryhub Oleh^{1*}, Burdyga Vitaliy²

¹Ustymivska Experimental Station of Plant Production of Plant Production Institute nd. a. V. Ya. Yuryev NAAS, Ustyvivka, Ukraine

²Research Institute cereals them. Helen Alekseeva Podolsky State Agricultural and Technical University, Kamenetz Podolsky, Ukraine

ЗБЕРЕЖЕННЯ І ВИКОРИСТАННЯ МІСЦЕВИХ СОРТІВ ГРЕЧКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ КОЛЕКЦІЇ УКРАЇНИ

Тригуб Олег, Бурдига Віталій

Received 16. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The National collection of Ukraine consists of approximately 2,500 buckwheat samples in total, whereas local buckwheat species are its most valuable part, comprising over 1,500 samples. This material has been collected on the territory of former Soviet Union and foreign countries. The material preservation is conducted based on ex-situ storage method (any plant genepool samples collection preserved outside of its typical habitat area). Collection is coordinated by two institutions: Research Institute cereals them. Helen Alekseeva Podolsky State Agricultural and Technical University and Ustymivska Experimental Station of Plant Production of Plant Production Institute n.a. V.Ya. Yuryev NAAS. In order to conduct guaranteed preservation of the local samples, there is a program in place for mid- (up to 15 years, over 1,600 samples preserved) and long-term (over 20 years, more than 1,300 samples preserved) storage. The main collection's doublet is stored in the different institutions in order to preserve the collection from loss in case of unforeseen natural or homogenous circumstances. The collection is maintained with material authenticity, high viability indicators and timely seed multiplication. The available buckwheat local samples genepool is classified into groups and subgroups based on its ecological and geographical origin and description of the plant material structure (quantitative and qualitative indicators). The genepool is actively studied based on the complex of industrial and valuable for selection criteria. According to the obtained results, special collections are created based on plant productivity, precocity, extensive number of inflorescences and grains, disease- and pests-resistance etc. Local samples are used in the selection process as a valuable source material for various research trends. They have become the basis for the creation of promising and zoned on the territory of Ukraine and foreign countries cultivars, such as 'Radehivska polipshena', 'Viktoria', 'Gloria', 'Aelita', 'Lada', 'Halleya', 'Zalenokvitkova 90', 'Kara-Dah' etc. Local samples are especially valuable as the source of resistance against abiotic and biotic environmental factors and quality of the product.

Keywords: buckwheat; genepool; collection; local samples; preservation; usage

***Corresponding author:** Oleh Tryhub, Ustymivska Experimental Station of Plant Production of Plant Production Institute nd. a. V. Ya. Yuryev NAAS, Ustyvivka, Ukraine,
✉ tryhub_oleg@ukr.net

Вступ

Велика цінність місцевих сортів обумовлена значною пристосованістю їх до конкретних умов середовища, що забезпечує стабільну, в багатьох випадках, високу врожайність (Алексеева, 1999).

Враховуючи, що перші зареєстровані в часописах площі посіву гречки ан Україні відносять до XIV – XVI ст. (Алексеева та ін., 2004; Алексеева и др., 2005; Тараненко і Яцишен, 2014), тут сформувалися давні традиції гречкосіяння і насіннєвий фонд місцевих сортів. Територія України має значну різноманітність за ґрунтово-кліматичними особливостями і для кожного регіону було сформовано свій набір культур та місцевих форм рослин, які найбільше відповідали цим особливостям, могли забезпечити кількісний та якісний склад продуктів харчування (Ефименко і Барабаш, 1990).

В 1938 році на території колишнього Радянського Союзу було районовано лише три селекційні сорти (Богатирь, Большевик, Альтгаузен II) і 14 місцевих сортів (Кротов, 1963; Алексеева, 1976; Алексееваидр., 2005). Лише починаючи з 60-х років минулого століття відбулося значне зменшення місцевого сортового матеріалу у аграрному виробництві. Більшість країн замінили місцеві сорти на селекційні, але в Російській Федерації й досі до районування допущено два місцеві сорти – Амурская местная і Бурятская местная (Государственный реестр..., 2017). Що вказує на значну цінність такого матеріалу, його конкурентноздатність у специфічних умовах певних регіонів вирощування.

Значною є роль місцевого сортового матеріалу і як вихідних форм в селекції. Цей матеріал володіє унікальними характеристиками, особливо адаптивності до абіотичних і біотичних чинників середовища. Місцеві сорти та форми є банком генів, що забезпечує широкий поліморфізм генофонду за господарськими та селекційними показниками. Тому збереженню, вивченню та застосуванню цього генофонду приділяється значна увага – формуються колекції, які є резерватами цінного матеріалу.

Матеріали та методи

Колекція гречки України нараховує понад 2,5 тис. зразків різного еколого-географічного походження і розміщена в Науково-дослідному інституті круп'яних культур ім. Олени Алексеевої Подільського аграрно-технічного університету (м. Кам'янець-Подільський) та Устимівській дослідній станції рослинництва Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН (с. Устимівка Полтавська область) (Тригуб і Бурдига, 2015). Колекційний матеріал проходить всебічне вивчення відповідно спеціальних методик (Кротов, 1968; Description for buckwheat..., 1994; Бочкарева, 1994; Тригуб та ін., 2013). Збереження генофонду колекції гречки проводиться відповідно до методики Національного центру ГРП України (Вирощування та порядок передачі..., 2002), розроблених для збереження генетичної автентичності колекційного матеріалу, подовження строку зберігання насіння та забезпечення користувачів цінним генофондом.

Результати та їх обговорення

Формування Національної колекції гречки проводилося відповідно головної мети – збору, збереження та використання генофонду цінних місцевих зразків. Колекція гречки Науково-дослідного інституту круп'яних культур ім. Олени Алексеевої почала формуватися в період 1950 – 1971 років із матеріалу місцевих сортів-популяцій західного регіону України. До колекції увійшли місцеві зразки від Волині до Карпат і Закарпаття. Всього було зібрано більше 500 зразків. Вони відрізнялися морфо-біологічними характеристиками, мали різні технологічні властивості зерна і його біохімічний склад (Алексеева и др., 2005). Зібраний матеріал було розкласифіковано, виділені еколого-географічні групи і підгрупи: Білоруська (сорта Волинської і Рівненської областей), Поліська (сорта Волинської, Рівненської

і частково Львівської областей), Лісостепова (сорт Тернопільської області), Придністровська (сорт Івано-Франківської і Львівської областей), Карпатська (сорт із передгірних і гірських районів Карпат) (Алексеева та ін., 2004). На сьогоднішній день колекція місцевих сортів та форм гречки Науково-дослідного інституту круп'яних культур нараховує 283 зразки різного походження (Алексеева и др., 2002).

Велике різноманіття ґрунтово-кліматичних умов окремих зон регіону наклало відбиток на формування стародавніх місцевих сортів (Алексеева, 1999). За тривалістю вегетаційного періоду місцеві сорти відносять до скоро-, середньо- і пізньостиглих, причому найбільш скоростиглими були Поліські сорти, середньостиглими – із Лісостепу, а пізньостиглими – із Передкарпаття.

Поліські сорти також були короткостебловими з добрим гілкуванням та компактним періодом цвітіння. На Поділлі – низькорослі, добре облистяні, з великою кількістю суцвіть; із Передкарпаття і Карпат – високорослі, добре облистяні, сильно квітучі. Місцеві сорти були різноманітні за величиною та якістю врожаю зерна. Найбільш високоврожайні сорти походять із Поділля і Полісся. Низьковрожайні сорти – із Передкарпаття і Карпат. Для західноукраїнських сортів характерні – висока натура зерна (понад 550 г), середня маса 1000 зерен (біля 22 г), досить висока плівчистість (біля 23,5 %). При цьому сорти із Полісся вирізнялися дрібнозерністю, а Лісостепу – як крупнозерністю і тонко плівчистістю, так і дрібнозерністю. Сорти із Прикарпаття і Карпат вирізняються дрібнозерністю і тонко плівчистістю. Зерно місцевих сортів із Лісостепу містить велику кількість білка, а із Карпат – крохмалю (Алексеева, 1976; Кротов, 1968; Алексеева, 1999).

Колекція місцевих сортів Устимівської дослідної станції рослинництва формувалася із матеріалу експедиційних зборів, що проводилися Всесоюзним інститутом рослинництва (ВІРом), оскільки з 1954 до 1992 року вона входила в систему цього інституту. Перші зразки, що входять до колекції, датуються 1929 роком збору (VIR. Accession list, 2017). За еколого-географічним походженням в колекції представлено матеріал із території колишнього Радянського Союзу та зарубіжні сорти. За класифікацією А.С. Кротова (1975) це матеріал, що входить до скоростиглої північної групи (рослини низькорослі, малооблистяні, слабо гілкуваті; листя дрібне і жорстке; плоди крилаті дрібні, середньої плівчистості, коричневого забарвлення; зразки порівняно скоростиглі, зі зниженою потребою в теплі і слабкою реакцією на скорочений день), середньостиглої південної групи (рослини середньої висоти і вище; гілкування середнє і нижче середнього; листя середнього розміру; плоди крилаті та безкрилі, середньої плівчистості, важко- та середньообрушувані, коричневого або сірого (сріблястого) забарвлення; рослини середньостиглі та середньопізньостиглі, малостійкі до знижених температур; за вирощування на короткому дні – скорочують періоди сходів-цвітіння та цвітіння-достигання), середньостиглої прибайкальської групи (рослини середньої висоти і облистяності; плоди зі слабо розвинутими ребрами, майже безкрилі, з випуклими гранями, коричневого забарвлення, середньої крупності, плівчистість низька, обрушуваність середня) та пізньостиглої приморської групи (рослини високорослі, добре облистяні; листя широке, менш грубе і більш заокруглене, ніж у представників інших груп; квітки вище середньої крупності; плоди слабо крилаті, коричневі і бурі, з низькою плівчистістю; рослини пізньостиглі, особливо сприйнятливі до дефіциту тепла, вологи, а також тривалості дня) (Алексеева и др., 2005). На сьогоднішній день до складу колекції дослідної станції входить 1101 сорт і форм народної селекції (Тригуб, 2016).

Все різноманіття матеріалу гречки місцевого походження, як і весь колекційний матеріал, що входить до Національної колекції України має три типи зберігання: короткострокове (до 5 років) – це матеріал робочих колекцій, що використовується, в першу чергу, для селекційної роботи, використання в дослідницьких та навчальних програмах; середньостроковий (до 15 – 20 років) – насінневий матеріал при такому зберіганні має спеціальну підготовку

(очищення та висушування до 6 – 7 % вологості) та зберігання в контрольованих умовах (при $t +2 - 4^{\circ}\text{C}$); довгостроковий (понад 20 років) – підготовлений до зберігання насіннєвий матеріал, як і в попередньому типі зберігання, але сам процес зберігання ведеться за $t -20^{\circ}\text{C}$. Значна частина колекції (понад 1,6 тис. зразків) знаходиться на середньостроковому зберіганні в Устимівській дослідній станції рослинництва. Понад 1,3 тис. зразків зберігаються в умовах довготривалого збереження в Національному сховищі України (Тригуб, 2016).

Весь наявний в колекції матеріал місцевого походження проходив активне вивчення в умовах науково-дослідних установ, був досліджений та описаний за комплексом господарських та селекційно-цінних ознак. Дослідники гречки формували із наявного генофонду ознакові колекції за різними напрямками використання: продуктивністю рослини, скоростиглістю, значною кількістю плодів та суцвіть, стійкістю до хвороб та шкідників, тощо. Тому колекції мали своє активне застосування, як вихідний матеріал для створення нових сортів гречки. Виділені кращі місцеві сорти Мишковецька і Тернопільська через залучення до гібридизації та застосування традиційних методів добору стали родоначальниками сорту Тернопільська 1, який в свою чергу став вихідним матеріалом для відомого сорту Вікторія.

Місцеві сорти походженням із Львівської області дозволили створити унікальний за своїми пристосувальними до умов вирощування сорт Радехівська поліпшена. Ці ж сорти після схрещування із географічно віддаленими місцевими сортами (представниками скоростиглої північної групи) дозволили створити сорт Глорія. Високопродуктивні та адаптивні місцеві сорти та форми широко застосовували при проведенні мутагенезу (радіаційного та хімічного). Виділений в результаті дії мутагенів матеріал став основою кращих вітчизняних сортів Аеліта, Лада, Галлея, Зеленоквіткова 90, Кара-Даг та ін. (Алексеева та ін., 2004; Алексеева і др., 2005).

Висновки

Найбільш цінною складовою Національної колекції гречки України є місцеві сорти різного еколого-географічного походження. Це матеріал, що є потенційним джерелом комплексу господарських та селекційно цінних показників. Сорти місцевого походження з різних частин світу і сьогодні є базою для різних напрямків селекції: в першу чергу стійкості до абіотичних і біотичних чинників середовища, якості зерна, наявності найбільш витребуваних в наш час антиоксидантних властивостей. В Національному центрі генетичних ресурсів рослин України зареєстровані створені на основі або з участю місцевих сортів ознакові колекції за урожайністю та крупноплідністю, продуктивністю та посухостійкістю і жаровитривалістю, придатністю до механізованого вирощування. Для місцевого сортового різноманіття в Національній колекції створено умови для гарантованого збереження генетичної автентичності матеріалу, його розмноження для потреб селекціонерів та дослідників цієї культури.

Література

- Descriptors for buckwheat (Fagopyrum spp.)*. 1994. IPGRI. 48 p. ISBN 92-9043-221-7.
VIR. Accession list. [on-line] 2017-03-24. Available at: <http://91.151.189.38/virdb/maindb>
Алексеева, О. 1976. *Гречка*. Київ: Урожай. 136 с.
Алексеева, Е. 1999. *Селекция подольских сортов гречихи*. Черновцы: Рута. 120 с. ISBN 966-568-034-X
Алексеева, Е., Кашеева Е., Бочкарева, Л. 2002. Формирование коллекции мирового генофонда гречихи в Украине. *Сб. науч. трудов Международной конференции посвященной 30-летию НИИМКК*. Каменец-Подольський: Абетка, с. 164–168.
Алексеева, Е., Кушнир, В. 2003. *Гречиха зеленоцветковая – настоящее и будущее*. Кам'янець-Подільський: Медобори. 174 с. ISBN 966-8102-29-0.

- Алексеева, О., Тараненко, Л., Малина, М. 2004. *Генетика, селекція і насінництво гречки*. Київ: Вища школа. 316 с. ISBN 966-642-214-X.
- Алексеева, Е., Елагин, И., Тараненко, Л., Бочкарева, Л., Малина, Л., Рарок, В., Яцишин, О. 2005. *Культура гречихи. Селекция и семеноводство гречихи*. Камянец-Подольский: Друкарня ПП Мошака М.І. 240 с. ISBN 966-8102-52-5.
- Алексеева, Е., Елагин, И., Тараненко, Л., Бочкарева, Л., Малина, Л., Рарок, В., Яцишин, О. 2005. *Культура гречихи. История культуры, ботанические и биологические особенности*. Камянец-Подольский: Друкарня ПП Мошака М.І. 192 с. ISBN 966-8102-52-5.
- Бочкарева, Л. 1994. *Анализ структуры растения гречихи* (Методические рекомендации). Черновцы. 45 с.
- Вирощування та порядок передачі насіння зразків генофонду на зберігання в Національне сховище. Методичні вказівки*. 2002. Харків: ІР. 24 с.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию*. Т.1. Москва, 2017. [on-line] 2017-02-07. Available at: http://reestr.gossort.com/docs/reestr_2017.pdf
- Ефименко Д., Барабаш, Г. 1990. *Гречиха*. Москва: ВО «Агропромиздат». 192 с. ISBN 5-10-000553-X.
- Кротов, А. 1963. *Гречиха*. Москва-Ленинград: Сельхозиздат. 256 с.
- Кротов, А. 1968. *Методические рекомендации по изучению коллекционных образцов кукурузы, сорго и крупяных культур*. Л.: Издательство ВИР, с. 37–44.
- Тараненко, Л., Яцишен, О. 2014. *Принципи, методи і досягнення селекції гречки (Fagopyrum esculentum Moench.)*. Вінниця: ТОВ „Нілан ЛТД“. 222 с. ISBN 978-617-7121-77-9.
- Тригуб, О., Харченко, Ю., Рябчун, В., Григоращенко, Л., Докукіна, К. 2013. *Широкий уніфікований класифікатор роду Гречка (Fagopyrum Mill.)*. Устимівка. 56 с.
- Тригуб, О., Бурдига, В. 2015. *Формування колекції світового генофонду гречки в Україні та напрямки її використання. Посібник українського хлібороба*, с. 118–123.
- Тригуб, О. 2016. *Гречка. Звіт про науково-дослідну роботу Устимівської дослідної станції рослинництва по ПНД 24. „Формування та ведення Національного банку генетичних ресурсів рослин для стабільного забезпечення потреб народу України у продукції рослинництва („Генофонд рослин“)*“. Устимівка, с. 140–155.



CHEMICAL COMPOSITION UNDER RABBIT UNCONVENTIONAL FEEDING

Umanets Ruslana*, Umanets Dmytro

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ХІМІЧНИЙ СКЛАД М'ЯСА КРОЛІВ ЗА УМОВ НЕТРАДИЦІЙНОЇ ГОДІВЛІ

Уманець Руслана, Уманець Дмитро

Received 3. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

It was studied chemistry including amino acid composition longest back muscle of young rabbits of different ages depending on the content of biologically active additives (BAA) for rabbits in complete feed. The necessary number of dietary supplements to provide cheap protein of young rabbits. For the experiment, 60 selected animals aged 45 days, of which the principle of analogues formed three groups: control and two experimental, on 20 goals each. Test young rabbits kept in bunk cellular batteries. Each cell size of 105 × 97 × 72 cm to 5 units (females and males separately). At the age of 60, 90 and 120 days scored 4 head of calves from each group (2 males and 2 females) and their subsequent dissection and weighting of the individual and determining the chemical, including amino acids, the longest part of the back muscles. Selection for slaughter animals with a live weight of which corresponded to the average for the group was carried out. Depending on the content of the fodder supplements in some way changes the total content of amino acids in the longest back muscle calves. At age 120 days, the highest content of essential amino acids in the longest back muscle was observed in animals of group 2 (2% BAA), in which it was 2.1–0.4% from the corresponding figure in animals other groups. In the longest muscle of rabbits that are grown on the fodder containing 2% of supplements contained less than 1.44% at BAA and 0.66% ash and 0.2% more calcium than those who did not receive this supplement. When used in feeding young rabbits of Full-feed supplements with containing 2%, increases the content of fat in the longest muscle in the back 0.63–0.81%, 0.54–3.95% at BAA.

Keywords: rabbits; productivity; products of processing of leather

Вступ

Усунення дефіциту протеїну у раціонах залишається однією з важливих проблем, що ускладнює організацію повноцінної годівлі кролів, тим самим стримуючи ріст виробництва кролятини (Барта, 1984; Балакирев, 1996; Александров, 2005).

У зв'язку з цим, протягом останніх десятиріч ведуться пошуки, спрямовані на використання нетрадиційної сировини як джерела для виробництва кормових засобів взагалі і зокрема кормових продуктів з високою протеїновою поживністю. Одним із вагомих резервів виробництва білкових кормів тваринного походження є відходи шкіряної промисловості (Калугин, 1985; Мирсь, 1988; Артемов, 1994; Вакуленко, 1998).

***Corresponding author:** Ruslana Umanets, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ xbxbr@ukr.net

За даними Л.М. Борисенко (1987, 1997, 1998, 2002, 2003, 2004), у шкіряній промисловості залежно від способів виробництва, маси сировини та виду шкір відходи становлять 30 – 50 % їх маси. При переробці шкір маса відходів може досягати 60% від загальної їх маси.

Як показало вивчення хімічного складу шкіряних відходів, у їх складі міститься 50 – 80 % сирого протеїну. Виявлено, що шкіряні відходи також містять необхідні для тварин макро- (натрій, сірка, кальцій, фосфор) і мікроелементи (кремній, кобальт, молібден, мідь, бор, цинк).

Проте, незважаючи на це, використання їх для виробництва кормових засобів обмежене, а все зростаюча кількість шкіряних відходів не знаходить раціонального використання. Їх вивозять у відвали, погіршуючи цим і так досить напружену екологічну ситуацію (Андреева, 1974; Агабабян, 1974; 1977; Бикташев, 1984; Агеев, 1985).

Метою наших досліджень було вивчення ефективності часткової заміни соєвого шроту в складі повнораціонного комбікорму для молодняку кролів новою біологічно-активною добавкою.

Розроблена БАД для кролів (СОУ 15.7-37-111:2004) за хімічним складом відповідає соєвому шроту і містить: сирого протеїну – 42 %, лізину – 28 г/кг, сирого золи – 5 %. До її складу входять: хромово стружка – 36,5 %, Провумін-П (шерсть – 30 %, кукурудза – 70 %) – 58,5 %, Ліпрот СГ-25 – 5 %.

Матеріали та методи

Науково-господарський дослід проводився у 2016 р. в умовах експериментальної бази Київського зоопарку на молодняку кролів породи сріблястий за методом груп.

Для досліді відібрали 60 тварин віком 45 діб, з яких за принципом аналогів сформували 3 групи: контрольну і дві дослідні, по 20 голів у кожній. При підборі аналогів враховували стать, вік, походження і живу масу кроленят.

Протягом основного періоду досліді враховували три вікові періоди: 45 – 60; 61 – 90; 91 – 120 діб. Тварин індивідуально зважували, визначали зміни живої маси, абсолютного та середньодобового приростів.

Піддослідний молодняк утримувався у двоярусних кліткових батареях. У кожній клітці розміром 105 × 97 × 72 см розміщували по 5 голів (самок і самців окремо). Площа підлоги на одну голову становила 0,2 м², фронт годівлі – 6 см на одну голову. Годували тварин двічі на добу (вранці і ввечері), напували з перекидних напувалок.

Упродовж основного періоду досліді молодняк усіх груп одержував гранульовані повнораціонні комбікорми за схемою досліді (табл. 1, 2).

Обліковувались жива маса кролів, маса спожитого ними комбікорму та витрати комбікорму на 1 кг приросту живої маси.

Зважували кролів індивідуально щотижня на вагах РН-10Ц13У, обчислюючи абсолютний та середньодобовий прирости.

Таблиця 1 Схеми науково-господарського досліді
Table 1 Scheme of scientific experiment

Група	n	Період досліді	
		зрівняльний (30 – 45 діб)	основний (45 – 120 діб)
1-контрольна	20	ОР*	ОР
2-дослідна	20	ОР	ДР** (соєвого шроту (2 % за масою) БАД)
3-дослідна	20	ОР	ДР (замість соєвого шроту (5 % за масою) – БАД)

*ОР – основний раціон; **ДР – дослідний раціон

Таблиця 2 Склад та поживність досліджуваного комбікорму, %
Table 2 Composition and nutritional value of the studied feed, %

Показник	Вік, днів								
	45 – 60			61 – 90			91 – 120		
	група								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Сінне борошно	33,43	33,43	33,43	36,06	36,06	36,06	27,07	27,07	27,07
Пшениця	18,74	18,74	18,74	18,74	18,74	18,74	17,22	17,22	17,22
Шрот соєвий	10,93	8,93	5,93	7,68	5,68	2,68	12,00	10,00	7,00
Ячмінь	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Овес	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Шрот соняшниковий	17,38	17,38	17,38	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Висівки пшеничні	0,80	0,80	0,80	0,83	0,83	0,83	1,19	1,19	1,19
Олія соняшникова	4,88	4,88	4,88	2,68	2,68	2,68	4,20	4,20	4,20
Рибне борошно	0,63	0,63	0,63	0,50	0,50	0,50	–	–	–
Сіль	0,17	0,17	0,17	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15	0,15
Крейда кухонна	0,44	0,44	0,44	0,47	0,47	0,47	0,57	0,57	0,57
Мінерол	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Премікс для кролів Vitamix	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
БАД для кролів	–	2,00	5,00	–	2,00	5,00	–	2,00	5,00
У 100 г комбікорму									
Обмінна енергія, МДж	0,99	0,99	0,99	0,94	0,94	0,94	0,99	0,99	0,99
Суха речовина, г	84,14	84,14	84,14	84,25	84,25	84,25	84,48	84,48	84,48
Сирий протеїн, г	17,00	17,00	17,00	18,00	18,00	18,00	19,00	19,00	19,00
Сира клітковина, г	14,50	14,50	14,50	15,00	15,00	15,00	14,60	14,60	14,60
Кальцій, г	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Фосфор, г	0,45	0,45	0,45	0,49	0,49	0,49	0,48	0,48	0,48

У віці 60, 90 та 120 діб забивали по 4 голови молодняку з кожної групи (2 самці і 2 самки) з наступним їх розтином і зважуванням окремих органів, а також визначенням хімічного, у тому числі амінокислотного, складу найдовшого м'язу спини. Для забою відбирали тварин з живою масою, що відповідала середній по групі.

Амінокислотний склад найдовшого м'язу спини досліджували у лабораторії Інституту біохімії ім. Палладіна НАНУ на автоматичному аналізаторі амінокислот ТТТ 339 з використанням катіонообмінної смоли LG ANB з активною групою SO₃. Усі лабораторні дослідження проводилися у парних визначеннях.

Біометричну обробку даних здійснювали на ПЕОМ за допомогою програмного забезпечення MS Excel з використанням вбудованих статистичних функцій.

Результати та їх обговорення

Залежно від вмісту БАД у комбікормі певним чином змінюється сумарний вміст амінокислот у найдовшому м'язі спини молодняку. Так, у м'язі кроленят 2-ї групи віком 60 діб вміст незамінних і замінних амінокислот був відповідно на 2,92 – 2,24 %, і 1,02 – 0,16 % вище, ніж у аналогів 1-ї та 3-ї груп (табл. 3).

Таблиця 3 Вміст амінокислот у найдовшому м'язі спини кролів віком 60 діб, мг/100 г
Table 3 Content of amino acids in the longest muscle in the back of rabbits at the age of 60 days, mg/100 g

Амінокислота	Група		
	1	2	3
Лізин	1 970 ±56,9	1 993 ±57,5	1 947 ±56,2
Гістидин	682 ±19,7	632 ±18,2	626 ±18,1
Аргінін	1 405 ±40,6	1 409 ±40,7	1 455 ±42,0
Оксипролін	139 ±4,0	131 ±3,8	141 ±4,1
Аспарагінова	1 828 ±52,7	1 838 ±53,1	1 856 ±53,6
Треонін	1 224 ±35,3	1 279 ±36,9	1 256 ±36,3
Серин	1 018 ±29,4	1 032 ±29,8	1 044 ±30,1
Глутамінова	3 721 ±107,4	3 890 ±112,3	3 771 ±108,9
Пролін	514 ±15,0	519 ±15,0	521 ±15,0
Гліцин	928 ±26,8	930 ±26,8	959 ±27,7
Аланін	1 398 ±40,4	1 310 ±37,8	1 355 ±39,1
Цистин	148 ±4,3	147 ±4,2	139 ±4,0
Валін	911 ±26,3	948 ±27,4	922 ±26,6
Метіонін	253 ±7,3	273 ±7,9	261 ±7,5
Ізолейцин	832 ±24,0	883 ±25,5	877 ±25,3
Лейцин	1 927 ±55,6	1 952 ±56,3	1 950 ±56,3
Тирозин	909 ±26,2	973 ±28,1	924 ±26,7
Фенілаланін	959 ±27,7	984 ±28,4	917 ±26,5
Сума	20 758	21 123	20 921

Аналогічна закономірність у зміні рівня накопичення амінокислот у найдовшому м'язі спини спостерігається у кроленят віком 90 діб (табл. 4). У цьому віці найменший вміст як незамінних, так і замінних амінокислот виявлено у найдовшому м'язі спини кролів контрольної групи. Так, у м'язі тварин 1-ї та 3-ї груп вміст незамінних і замінних амінокислот був відповідно на 0,24 – 0,67 та на 2,21 – 0,88 % менше, ніж у тварин 2-ї групи.

Таблиця 4 Вміст амінокислот у найдовшому м'язі спини кролів віком 90 діб, мг/100 г
Table 4 Content of amino acids in the longest muscle in the back of rabbits at the age of 90 days, mg/100 g

Амінокислота	Група		
	1	2	3
Лізин	1 808 ±52,2	1 828 ±52,8	1 831 ±52,9
Гістидин	666 ±19,2	638 ±18,4	626 ±18,1
Аргінін	1 419 ±41,0	1 455 ±42	1 430 ±41,3
Окспиролін	183 ±5,3	180 ±5,2	191 ±5,5
Аспарагінова	1 808 ±52,2	1 828 ±52,8	1 831 ±52,9
Треонін	1 256 ±36,3	1 297 ±37,4	1 279 ±36,9
Серин	922 ±26,6	924 ±26,7	944 ±27,2
Глутамінова	3 371 ±97,3	3 404 ±98,3	3 361 ±97,0
Пролін	355 ±10,1	391 ±11,3	362 ±10,4
Гліцин	1 010 ±29,2	1 030 ±29,7	1 059 ±30,6
Аланін	1 228 ±35,4	1 355 ±39,1	1 275 ±36,8
Цистин	231 ±6,7	223 ±6,4	235 ±6,8
Валін	1 071 ±30,9	1 054 ±30,4	1 042 ±30,1
Метіонін	391 ±11,3	389 ±11,2	372 ±10,7
Ізолейцин	885 ±25,5	874 ±25,2	877 ±25,3
Лейцин	1 870 ±53,8	1 865 ±53,8	1 831 ±52,9
Тирозин	860 ±24,8	891 ±25,7	897 ±25,9
Фенілаланін	908 ±26,2	902 ±26,0	922 ±26,6
Сума	20 242	20 528	20 365

У віці 120 діб найвищий вміст незамінних амінокислот у найдовшому м'язі спини спостерігався у тварин 2-ї групи, де він був відповідно на 2,15 – 1,15 більше порівняно з аналогічним показником у тварин інших груп (табл. 5). Вміст замінних амінокислот у цьому м'язі тварин 2-ї групи був на 0,85 % більший, ніж у контрольних аналогів, але на 1,47 % менший, ніж у тварин 3-ї групи. За вмістом окремих амінокислот у найдовшому м'язі спини між тваринами різних груп різниці не спостерігалось.

Встановлено, що згодовування молодняку кролів комбікорму з різним вмістом БАД суттєво не впливало на вміст у найдовшому м'язі спини протеїну та органічної речовини, але викликало певні зміни у вмісті золи, жиру, кальцію, фосфору та БЕР (табл. 6). Зокрема у найдовшому м'язі спини кролів 2-ї групи віком 60 діб кальцію містилося на 0,01 % більше порівняно з тваринами 1-ї та 3-ї груп.

Виявлено, що молодняк 3-ї групи за вмістом жиру у найдовшому м'язі спини відповідно на 0,81 та 0,63 % переважав аналогів контрольної та 2-ї груп, а за вмістом БЕР – на 0,54 % переважали молодняк 2-ї групи.

Таблиця 5 Вміст амінокислот у найдовшому м'язі спини кролів віком 120 діб, мг/100 г
Table 5 The content of amino acids in the longest muscle in the back of rabbits at the age of 120 days, mg/100 g

Амінокислота	Група		
	1	2	3
Лізин	2 026 ±58,5	2 131 ±61,5	2 027 ±58,5
Гістидин	815 ±23,5	808 ±23,3	802 ±23,1
Аргінін	1 426 ±41,2	1 409 ±40,7	1 468 ±42,4
Окспиролін	123 ±3,5	131 ±3,8	122 ±3,5
Аспарагінова	2 026 ±58,5	2 131 ±61,5	2 027 ±58,5
Треонін	1 239 ±35,8	1 252 ±36,1	1 279 ±36,9
Серин	1 013 ±29,2	1 032 ±29,8	1 023 ±29,5
Глутамінова	3 629 ±104,8	3 524 ±101,7	3 890 ±112,3
Пролін	406 ±11,7	443 ±12,8	440 ±12,7
Гліцин	993 ±28,7	978 ±28,2	930 ±26,8
Аланін	1 310 ±37,8	1 392 ±40,2	1 342 ±38,7
Цистин	223 ±6,4	240 ±6,9	238 ±6,9
Валін	1 046 ±30,2	1 072 ±30,9	1 085 ±31,3
Метіонін	391 ±11,3	399 ±11,52	388 ±11,2
Ізолейцин	1 032 ±29,8	1 021 ±29,5	1 011 ±29,2
Лейцин	2 010 ±58,8	2 036 ±58,9	2 028 ±58,5
Тирозин	971 ±28,0	957 ±27,6	955 ±27,6
Фенілаланін	1 053 ±30,4	1 075 ±31,0	1 066 ±30,8
Сума	21 732	22 031	22 121

За вмістом золи і фосфору у найдовшому м'язі спини кролів 60-денного віку достовірної різниці між групами не виявлено.

У кролів віком 90 діб не встановлено суттєвої різниці у вмісті золи та жиру у найдовшому м'язі спини кролів різних груп.

Вміст кальцію у досліджуваному м'язі кролів 1-ї та 2-ї груп у згаданому віці був на 0,01 % вищий, ніж у молодняку 3-ї групи. У м'язі кролів 3-ї групи фосфору містилося на 0,08 % менше порівняно з аналогічним показником кролів 2-ї групи. Встановлено, що за вмістом БЕР у найдовшому м'язі спини тварини 1-ї та 3-ї груп відповідно на 1,24 та 0,81 % переважали аналогів 2-ї групи.

У найдовшому м'язі спини молодняку 2-ї та 3-ї груп віком 120 діб містилося кальцію відповідно на 0,02 та 0,01 % більше, ніж у м'язі контрольних аналогів, а тварини 2-ї групи за цим показником на 0,01 % переважали молодняк 3-ї групи.

Таблиця 6 Хімічний склад найдовшого м'яза спини у піддослідних кролів, з розрахунку на абсолютно суху речовину, %
Table 6 Chemical composition of the longest back muscles from experimental rabbits, per absolutely dry substance, %

Показник	Період 1			Період 2		
	група					
	1	2	3	1	2	3
Зола	4,63 ±0,134	4,56 ±0,132	4,39 ±0,127	4,65 ±0,134	5,01 ±0,145	4,76 ±0,137
У тому числі: кальцій фосфор	0,06 ±0,002 0,69 ±0,020	0,07 ±0,002* 0,72 ±0,021	0,06 ±0,002 0,69 ±0,020	0,05 ±0,002 0,73 ±0,021	0,05 ±0,001 0,78 ±0,023	0,04 ±0,001** 0,70 ±0,020
Органічна речовина	95,37 ±2,753	95,44 ±2,755	95,61 ±2,760	95,35 ±2,753	94,99 ±2,742	95,24 ±2,749
Протеїн	86,86 ±2,507	87,04 ±2,513	86,03 ±2,483	85,05 ±2,455	85,80 ±2,477	85,07 ±2,456
Жир	3,84 ±0,111	4,02 ±0,116	4,65 ±0,134*	3,88 ±0,112	4,01 ±0,116	4,18 ±0,121
БЕР	4,67 ±0,135	4,39 ±0,127	4,93 ±0,142	6,42 ±0,185	5,18 ±0,150**	5,99 ±0,173

Показник	Період 3		
	група		
	1	2	3
Зола	4,14 ±0,119	3,48 ±0,101*	4,43 ±0,128
У тому числі: кальцій фосфор	0,05 ±0,001 0,68 ±0,020	0,07 ±0,002** 0,70 ±0,020	0,06 ±0,002* 0,61 ±0,018*
Органічна речовина	95,86 ±2,767	96,52 ±2,786	95,57 ±2,759
Протеїн	82,13 ±2,371	86,44 ±2,495	81,86 ±2,363
Жир	7,46 ±0,215	7,76 ±0,224	7,85 ±0,227
БЕР	6,27 ±0,181	2,32 ±0,067***	5,85 ±0,169

*P <0,05; **P <0,01; ***P <0,001 – порівняно з контрольною групою

Найнижчий вміст фосфору виявлено у найдовшому м'язі спини кролів 3-ї групи у цьому віці, де він був відповідно на 0,07 та 0,09 % нижче порівняно з аналогічним показником у тварин 1-ї та 2-ї груп.

У досліджуваному м'язі тварин 2-ї групи золи містилося відповідно на 0,66 та 0,95 % менше, ніж у м'язі аналогів контрольної і 3-ї груп. У найдовшому м'язі спини кролів 1 і 3-ї груп містилося відповідно на 3,95 та 3,53 % більше БЕР порівняно з цим показником у аналогів 2-ї групи. За вмістом жиру у найдовшому м'язі спини кролів цього віку достовірної різниці між групами не виявлено.

Висновки

Оптимальний вміст біологічно-активної добавки (БАД) для кролів у повнораціонних комбікормах для молодняку кролів віком 45 – 120 діб становить 2 %.

При використанні у годівлі молодняку кролів повнораціонального комбікорму з вмістом БАД 2 % підвищується вміст, жиру у найдовшому м'язі спини на 0,63–0,81 %, БЕР на 0,54–3,95 %.

Перспективними напрямками розвитку досліджень є вивчення ефективності різних джерел протеїну для кролів та впливу на енергетичний та протеїновий обмін.

Література

- Агабабян, Р.Д. 1974. Химический состав не пищевых отходов. *Свиноводство*, № 6, с. 22.
- Агабабян, Р.Д. 1977. Скармливание овцам кожаной стружки. *Животноводство*, № 9, с. 58–59.
- Агеев, В. 1985. Белковый гидролизат из отходов мездрения кожи. *Птицеводство*, № 4, с. 23–24.
- Александров, С.Н. 2005. *Кролики: разведение, выращивание, кормление*. Москва: ООО «Издательство АСТ». 157 с.
- Андреева, В.С. 1974. *Кормление кроликов*. Москва: Колос. 80 с.
- Артемов, И.В. 1994. Резерв пополнения белка и жира. *Кормопроизводство*, № 3, с. 22–24.
- Балакирев, Н.А. 1996. Поиск альтернативных кормов. *Кролиководство и звіроводство*, № 5, с. 11.
- Барта, Я. 1984. *Нетрадиционные корма в рационах сельскохозяйственных животных*. Москва: Колос. 272 с.
- Бикташев, Р.У. 1984. *Питательная ценность переработанных на кормовые цели отходов кожевенной промышленности*. Казань. С. 65–69.
- Борисенко, Л.М. 1997. Вивчення можливості використання шкіряних відходів у біохімічному кормо виробництві. *Ветеринарна медицина України*, № 2, с. 22–24.
- Борисенко, Л.М. 1997. Використання колаген- та кератиністких відходів у годівлі сільськогосподарських тварин. *Тваринництво України*, № 2, с. 10–15.
- Борисенко, Л.М. 1998. Ліпрот, одержаний з використанням хромістких шкіряних відходів, в раціоні свиней та птиці. *Науковий вісник Львівської ДАВМ ім. С.З. Жицького*, вип.1, с. 12–14.
- Борисенко, Л.М. 2003. Провумін – новий білковий компонент в раціоні курок-несучок. Матеріали *Української конференції по птахівництву з міжнародною участю*, вип. 53, с. 15–19.
- Борисенко, Л.М. 1998. Хромісткі добавки в годівлі сільськогосподарських тварин. *Вісник аграрної науки*, № 1, с. 15–18.
- Борисенко, Л.М. 2002. Шерсть як сировина для кормових домішок. *Вісник КДУТД*, №3, С. 25–28.
- Борисенко, Л.Н. 1987. *Эффективные методы производства и использования нетрадиционных кормов и кормовых добавок*. Киев. 37 с.
- Борисенко, Л.М. 2004. Хромовмісні шкіряні відходи та можливі напрями їх використання. *Науковий вісник НАУ*, вип. 74, с. 136.
- Вакуленко, І.С. 1998. *Кролівництво*. Харків: Прапор, 180 с.
- Калугин, Ю.А. 1985. *Кормление кроликов*. Москва: Агропромиздат, 112 с.
- Мирсь, В.В. 1988. *Кролівництво*. К.: Урожай, 130 с.



ESTIMATION OF THE STABILITY OF EXOTIC SPECIES OF DENDROFLORA OF GREEN PLANTATIONS OF THE HISTORICAL PART OF CHERNIVTSI

Vanzar Oksana*, Romanyuk Vasil

Institute of Biology, Chemistry and Bioresources of Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Ukraine

ОЦІНКА СТІЙКОСТІ ЕКЗОТІВ ДЕНДРОФЛОРИ ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕНЬ ІСТОРИЧНОЇ ЧАСТИНИ М. ЧЕРНІВЦІ

Ванзар Оксана, Романюк Василь

Received 22. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The purpose of the research is to study the species composition, the present state and the stability of the main environmental factors of the exotic dendroflora of the parks of the historical part of Chernivtsi. The estimation of stability dendroflora exotic green spaces historical part of the city Chernivtsi. Based on taxonomic and biomorphological analysis of the current state of the dendroflora of the parks of the historical part of Chernivtsi, it has been established that 38 species of exotic species, consisting of 31 genera and 18 families, are growing in their territory. 10 species belong to the *Pinophyta* phylum and 28 species to *Magnoliophyta*. When assessing the stability of exotic species of dendroflora of green plantations of the historical part of Chernivtsi to atmospheric pollutants, pests and diseases, the predominance of exclusively gas-resistant species (19 species, 53%), exclusively resistant species to pests and diseases (26 species, 68%) and exclusively winter-resistant (33 species, 86%) plants. It was established that the species composition of the exotic species of the investigated dendroflora is fully adapted to the climatic conditions of the region and ensures the high success of the functioning of the green plantations of Chernivtsi.

Keywords: exotic dendroflora; squares; estimation; resistance

Вступ

Одним з головних компонентів системи міських зелених насаджень є сквери та парки. Завдяки парковим насадженням у містах поліпшуються архітектурно – художній вигляд і мікроклімат, знижується забрудненість повітря, зменшується шум, вони є потужним природним чинником протидії негативним для довкілля наслідкам урбанізації і техногенного забруднення. Важливою складовою урбоєкосистеми м. Чернівці є його сквери. Фізико-географічні умови міста та використання в культурі певних груп аборигенних та інтродукованих рослин сприяють формуванню його парків та скверів (Гуцуляк, 2006). Більшість чернівецьких скверів залишаються недостатньо вивченими щодо вікової та кількісної структур, композиційного формування, неповністю опрацьовані принципи побудови композицій з використанням покритонасінних та голонасінних.

***Corresponding author:** Oksana Vanzar, Institute of Biology, Chemistry and Bioresources of Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Ukraine,
✉ vanzar_oksana@ukr.net

Мета досліджень полягала у вивченні видового складу та стійкості до основних факторів зовнішнього середовища екзотичної дендрофлори скверів історичної частини м. Чернівці.

Об'єктом досліджень є екзотичні види дендрофлори скверів історичної частини м. Чернівці. Предмет досліджень: стійкість інтродукованих деревних екзотів до дії основних факторів зовнішнього середовища.

Матеріали та методи

Дендрофлору скверів вивчали детально маршрутним методом протягом 2016 – 2017 рр. При встановленні видової належності рослин користувалися відповідними визначниками (Кохно та ін., 2002). Оцінку стійкості екзотів дендрофлори зелених насаджень історичної частини м. Чернівці до атмосферних забруднювачів, шкідників та хвороб, зимостійкості здійснювали за В.М. Меженським (2007).

При вивченні газостійкості деревних екзотів нами застосовувалась 9-бальна уніфікована шкала. Згідно з вказаною шкалою 1 бал визначає: газостійкість виключно низька (рослина гине), 2 – газостійкість дуже низька (всихає надземна частина), 3 – газостійкість низька (всихають багаторічні листки), 4 – газостійкість від низької до середньої (ушкоджено понад 40 % поверхні листків, всихає однорічний приріст), 5 – газостійкість середня (ушкодження 21 – 40% поверхні листків), 6 – газостійкість від середньої до високої (ушкоджено 5 – 10 % поверхні листків), 7 – газостійкість висока (ушкоджено 5 – 10 % поверхні листків), 8 – газостійкість дуже висока (ушкоджено до 5 % поверхні листків), 9 – газостійкість виключно висока (ознаки впливу відсутні).

Ступінь ураження рослин збудниками хвороб та пошкодження їх шкідниками, або стійкість до хвороб визначають також за 9-бальною шкалою, згідно з якою 1 бал визначає, що стійкість виключно низька (рослина гине), 2 – стійкість дуже низька (рослина дуже чутлива, уражено понад 75 % поверхні органів), 3 – стійкість низька (рослина чутлива, пошкоджено 51 – 75 % поверхні органів), 5 – стійкість середня (уражено 26 – 50 % поверхні органів), 7 – стійкість висока (пошкоджено 11 – 25% поверхні органів), 8 – стійкість дуже висока (уражено менше 11 % поверхні органів), 9 – стійкість виключно висока (пошкодження відсутні).

Для оцінки зимостійкості рослин нами використана та ж уніфікована 9-бальна шкала. За якою 9 балів означають, що зимостійкість виключно висока (пошкоджень немає), 8 – зимостійкість дуже висока (вимерзло до 50 % квіткових бруньок), 7 – зимостійкість висока (вимерзли всі квітки або плоди осипалися внаслідок зимових ушкоджень; однорічний приріст не вимерз), 6 – балів, зимостійкість від середньої до високої (вимерзло до 50 % довжини однорічного приросту), 5- зимостійкість середня (вимерз однорічний приріст), 4 бали – зимостійкість від низької до середньої (вимерзли багаторічні гілки), 3 – зимостійкість низька (вимерзання надземної частини до рівня снігового покриву), 2 бали – зимостійкість дуже низька (вимерзання надземної частини), 1 бал – зимостійкість виключно низька (повне вимерзання рослини).

Результати та їх обговорення

На даний час в зелених насадженнях усіх категорій використовують декоративні екзотичні види. Кожний вид характеризується газо-, пило-, та димостійкістю, але правильніше стверджувати про стійкість рослин до сумарної та одночасної дії всіх атмосферних забруднювачів. Слід враховувати, що рослини мають різну чутливість до небезпечних викидів залежно від їхньої концентрації та тривалості дії, і що пошкодження можуть мати прихований, хронічний та гострий характер. Нами проведено детальне вивчення видового складу дендрофлори зелених насаджень історичної частини м. Чернівці.

На основі таксономічного та біоморфологічного аналізів сучасного стану дендрофлори скверів історичної частини м. Чернівці встановлено, що на їх території зростає 38 екзотичних видів у складі 31 роду та 18 родин. 10 видів з яких належать до відділу *Pinophyta* та

28 видів – до відділу *Magnoliophyta*. Представники екзотичної дендрофлори історичної частини м. Чернівці природно зростають на території 3 флористичних областей – Циркумбореальної, Східно-Азійської та Атлантично-Північно-Американської із рівномірним видовим розподілом.

На основі проведеного аналізу досліджуваних екзотів за стійкістю до атмосферних забруднювачів нами встановлено, що 19 видів (53 % від загальної кількості видів) є виключно газостійкими, 15 видів (39 %) володіють дуже високою газостійкістю (рис. 1).

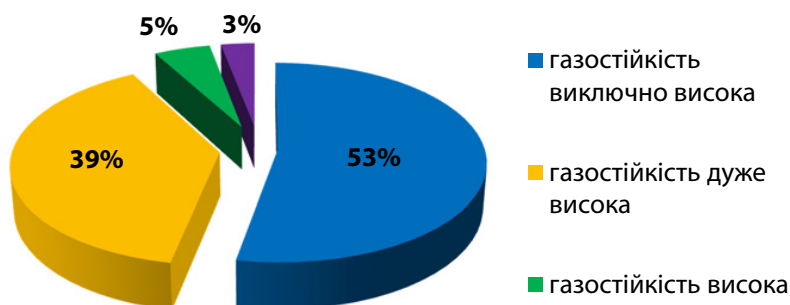


Рисунок 1 Розподіл екзотів зелених насаджень історичної частини м. Чернівці за стійкістю до атмосферних забруднювачів

Figure 1 Distribution of exotic species of green plantations of the historical part of Chernivtsi for resistance to atmospheric pollutants

У 2 видів (5 %) – *Platycladus orientalis* L., *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng газостійкість висока, і тільки 1 вид (3 %) – *Mahonia aquifolium* Nutt. володіє газостійкістю від середньої до високої в залежності від місцезростання.

Провівши аналіз досліджуваних екзотів за стійкістю до шкідників та хвороб нами встановлено, що 26 видів (що складає 68 % від загальної кількості екзотів) відзначаються виключно високою стійкістю (рис. 2).

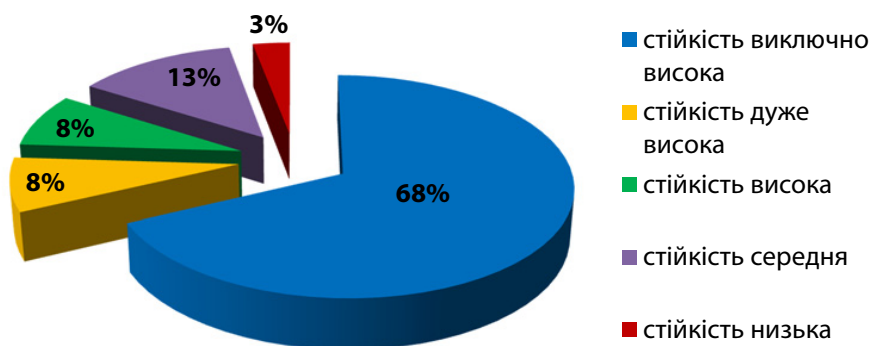


Рисунок 2 Розподіл екзотичної дендрофлори скверів історичної частини м. Чернівці за стійкістю до шкідників та хвороб

Figure 2 Distribution of exotic species of green plantations of the historical part of Chernivtsi for resistance to pests and diseases

3 види (8 %) володіють стійкістю дуже високою та високою, 5 видів (13 %) – середньою стійкістю, і тільки 1 вид – *Aesculus hippocastanum* L. відзначається низькою стійкістю до

шкідників, оскільки масово уражається мінуючою міллю *Cameraria ohridella*. *Mahonia aquifolium* Nutt., *Chaenomeles japonica* Lindl., *Cerasus serrulata* Lindl. уражені іржастими грибами, які спричиняють грибкові захворювання. *Phylocarpus opulifolia* (L.) Maxim уражений шкідником попелицею *Aphis pomi*. *Quercus borealis* L., *Hibiscus syriacus* L., *Syringa vulgaris* L. уражені борошнистою росою. У таких видів, як *Juglans regia* L., *Armeniaca vulgaris* Mill. виявлена плямистість листків. *Morus alba* L. уражена збудником *Hyphantria cunea*.

На основі результатів аналізу екзотичної дендрофлори за зимостійкістю було встановлено, що 33 види (87 %) відзначаються виключно високою зимостійкістю (рис. 3). 4 види (10 %) володіють дуже високою зимостійкістю: *Platycladus orientalis* L., *Magnolia obovata* Thunb., *Juglans regia* L., *Cerasus serrulata* Lindl. Тільки 1 вид (3 %) характеризується високою зимостійкістю: *Thuja occidentalis* L. f. *ericoides* hort.

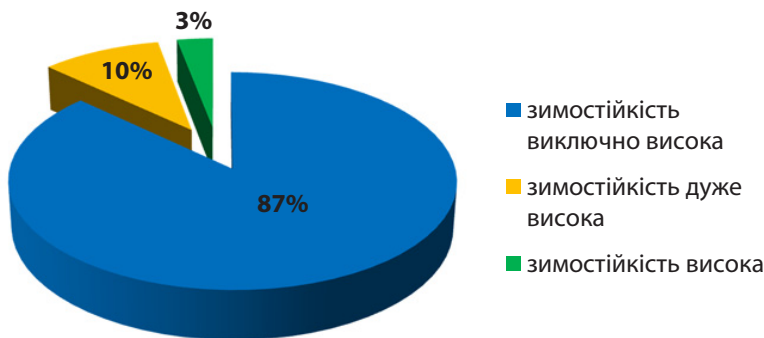


Рисунок 3 Розподіл екзотичної дендрофлори історичної частини м. Чернівці за зимостійкістю
Figure 3 Distribution of exotic species of green plantations of the historical part of Chernivtsi for winter resistance

В цілому слід відзначити, що переважна більшість досліджуваної екзотичної дендрофлори характеризується досить високими показниками газостійкості, зимостійкості та стійкості до шкідників та хвороб.

Висновки

Таким чином, при оцінюванні стійкості екзотичних видів дендрофлори зелених насаджень історичної частини м. Чернівці до атмосферних забруднювачів, шкідників та хвороб, до несприятливих факторів зимового періоду встановлено переважання виключно газостійких видів (19 видів, 53 %), виключно стійких видів до шкідників та хвороб (26 видів, 68 %) та виключно зимостійких (33 види, 86 %) рослин. Видовий склад екзотів досліджуваної дендрофлори є цілком адаптованим до кліматичних умов регіону та забезпечує високу успішність функціонування зелених насаджень м. Чернівці.

Література

- Кохно, М.А., Пархоменко, Л.І., Зарубенко, А.У., та ін. 2002. *Дендрофлора України. Дикорослі та культивовані дерева й кущі. Покритонасінні*. Частина 1. Довідник. За ред. М.А. Кохна К.: Фітосоціоцентр. 448с. ISBN 966-306-014-X.
- Ландшафти міста Чернівці. 2006. За редакцією В.М. Гуцуляка. Чернівці: Рута. 168 с. ISBN 978-966-568-881-5.
- Меженський, В.М. 2007. Уніфікування шкал оцінок, що застосовуються при інтродукції деревних рослин. *Інтродукція рослин*, № 4, с. 26–37.



THE INFLUENCE OF SORTING OF HATCHING EGGS ON THE INDICATORS OF GROWING OF BROILER CHICKENS

Vecheria Julia*, Prokopenko Nataliia

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ВПЛИВ СОРТУВАННЯ ІНКУБАЦІЙНИХ ЯЄЦЬ НА ПОКАЗНИКИ ВИРОЩУВАННЯ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ

Вечеря Юлія, Прокопенко Наталія

Received 16. 6. 2017

Revised 22. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The high homogeneity of the chicken-broilers population is important during the whole period of growth, starting from the daytime age. Completing the herd with chickens, the body masses of which are homogeneous allows achieving high industrial indicators. That's why, the estimation of the indicators of chicken-broilers growing, obtained during the incubation of eggs (mass more than 70 g) with an additional division into groups by mass, is actual. The materials for the experiment were incubated eggs of hens of the parent flock of the cross "Cobb-500" and the one-day-old chicken-broilers. Hatching eggs before incubation were divided into 4 groups: I – control (uncalibrated hatching eggs), II – 70–79 g, III – 70–74 and IV – 75–79 g. The distribution of hatching eggs by mass allowing greatly improve the results growing of broiler chickens – observed an increase in alive mass on 1.61... 5.59%, uniformity of poultry on 4.19... 9.57% and viability on 5.42... 5.84%.

Keywords: chicken broilers; uniformity; live weight; viability

Вступ

Глобалізація промислового птахівництва спонукає фахівців знаходити нові технологічні рішення на основі знань морфологічних і функціональних змін, що відбуваються в організмі курчат-бройлерів у постнатальному періоді (Киселев, 1983; Краснобаев, 2012).

Підвищення однорідності поголів'я бройлерів – актуальне завдання, вирішення якого дає можливість поліпшити показники вирощування курчат і виробництва м'яса. Інкубація яєць, каліброваних за масою, дозволяє комплектувати стада птиці з високим рівнем однорідності за живою масою (Османян, 2013).

У той же час, однорідність яєць за масою безпосередньо пов'язана із синхронізацією ембріонального розвитку птиці, тобто з одночасним початком процесу інкубації всієї партії яєць, яке призводить до одночасного старту ембріонального розвитку і до найменшого варіювання в часі виведення молодняку. Висока однорідність добових курчат сприяє підвищенню їх середньодобових приростів і живої маси до віку забою, покращує конверсію корму і збереженість у стаді.

***Corresponding author:** Julia Vecheria, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ julija-ve4erja@ukr.net

На думку А. Кавтарашвілі, Е. Новоротова, Д. Гладиліна (Кавтарашвілі та ін., 2012) однорідність молодняку птиці в стаді залежить від їх біологічної повноцінності при посадці і організації стартового вирощування. Особливо важливо отримати однорідних, добре розвинених курчат у бройлерному птахівництві, оскільки при вирощуванні м'ясних курчат рахунок йде на доби і години. У зв'язку з цим, значно зростає роль організації технологічного процесу інкубації яєць при відтворенні м'ясної птиці (Щербатов, 2009; Вечера, 2016).

В останні роки при інкубації яєць курей сучасних м'ясних кросів виникає багато питань щодо меж відбору яєць за масою, оскільки кількість інкубаційних яєць масою більше 70 г значна, а інкубація таких яєць вимагає внесення змін до технології інкубації, зокрема, режимів інкубації і, відповідно, до нормативних документів.

Тому дослідження інкубаційних якостей таких яєць, а також якості отриманого молодняку, є актуальними. При цьому оцінка однорідності молодняку, отриманого з яєць різної маси, є важливою при організації технологічного процесу виробництва м'яса курчат-бройлерів.

Мета нашого дослідження – провести оцінку показників вирощування курчат-бройлерів, отриманих при інкубації яєць масою більше 70 г при додатковому їх розподілі на групи за масою.

Матеріали та методи

Дослідження проведені в умовах інкубаторія та майданчика з вирощування птиці птахівничого підприємства. Для досліду було сформовано 4 групи інкубаційних яєць по 440 шт. в кожній: I – перша група – контрольна (яйця не сортували за масою), II – яйця масою 70 – 79 г, III – 70 – 74 г, IV – 75 – 79 г. Умови інкубації відповідали існуючим вимогам. Курчат, отриманих з яєць дослідних груп, вирощували до 42-добового віку. Умови годівлі та утримання птиці відповідали існуючим вимогам. За результатами досліджень визначили масу, однорідність яєць і молодняку, їх збереженість за період вирощування, рівень абсолютних і середньодобових приростів живої маси. Для вивчення однорідності інкубаційних яєць та молодняку курчат-бройлерів з кожної групи було взято по 100 яєць та 100 курчат. Однорідність розраховували за формулою (Османян, 2013):

$$K_0 = \frac{(n_1 - n_2)}{n_1} \cdot 100$$

де: K_0 – коефіцієнт однорідності, %; n_1 – число спостережень (кількість яєць, голів курчат); n_2 – кількість спостережень, де індивідуальні значення за показником маси відхиляються від середнього арифметичного більш ніж на ± 10 %

Отримані дані оброблені за допомогою методів варіаційної статистики на персональному комп'ютері за програмою «Microsoft Excel».

Результати та їх обговорення

Проведеними дослідженнями встановлено, що розподіл інкубаційних яєць за масою в межах 5 г дозволяє підвищити однорідність яєць і надалі курчат-бройлерів (табл. 1).

Показник однорідності яєць перед інкубацією в контрольній групі становив 88,70 %, що на 10,04 і 11,3, 11,3 % нижче, ніж у дослідних. Однорідність в III і IV дослідних групах була максимальною – 100 %. Таким чином, запропонований прийом дозволяє досягти високого рівня однорідності яєць перед інкубацією, що дозволяє оптимізувати технологічний процес інкубації.

Таблиця 1 Показники живої маси і однорідності курчат-бройлерів
Table 1 Indicators The indexes of live weight and uniformity of broiler chickens

Показник	Група – контрольна			
	I	II	III	IV
Маса інкубаційного яйця, г ($M \pm m$)	71,6 $\pm$ 0,47	73,7 $\pm$ 0,27*a	72,1 $\pm$ 0,13a	77,3 $\pm$ 0,14*b
Однорідність інкубаційних яєць, %	88,70	98,74	100,00	100,00
Маса добових курчат, г ($M \pm m$)	49,7 $\pm$ 0,36	49,8 $\pm$ 0,30a	49,2 $\pm$ 0,15a	52,9 $\pm$ 0,19b
Однорідність добових курчат, %	87,0	91,0	100,00	100,00
Маса курчат у 42-добовому віці, г ($M \pm m$)	2 510,3 $\pm$ 30,9	2 550,6 $\pm$ 31,4a	2 630,1 $\pm$ 32,4*a	2 650,7 $\pm$ 32,7*b
Однорідність курчат в 42-добовому віці, %	82,13	86,32	89,30	91,70
Збереженість молодняку, %	91,5	97,18	97,34	96,92

* $P \leq 0,05$ – вірогідна різниця дослідних груп з контрольною групою; a, b – різні літери при значеннях вказують на вірогідну різницю між дослідними групами, однакові – на невірогідну

Маса добових курчат виявилась найнижчою в III групі – 49,2 г, а найвищою у IV – 52,9 г, що вище порівняно з контрольною на 3,2 г або 6,1 %. Однорідність добових курчат у контрольній групі птиці знаходилась на рівні 87 %, що на 4, 13, 13 % нижче порівняно з групами курчат-бройлерів, які виведені з розподілених за масою інкубаційних яєць.

Маса курчат у 42-добовому віці знаходилась на рівні 2 510,3...2 650,7 г, при цьому найвища жива маса була в курчат, які виведені з яєць масою 75 – 79 г – 2 650,7 г. Якщо порівняти показники живої маси курчат-бройлерів кросу «Кобб-500» з нормативним показником для кросу (2 630 г), то необхідно відмітити, що маса курчат контрольної групи була нижчою на 119,7 г, та маса курчат II групи – на 100,1 г. Курчата III та IV груп мали більшу живу масу порівняно з нормативом. Однорідність курчат у 42-добовому віці у III та IV групі була на рівні 89 та 91%. Найнижчий показник був у контрольній групі 82 %, що на 4, 7 та 9 % нижче порівняно з дослідними групами.

Збереженість поголів'я курчат-бройлерів була високою у дослідних групах, що на 5,42 – 5,84 % вище порівняно з контрольною.

Аналізуючи показники середньодобових приростів птиці впродовж всього періоду вирощування (табл. 2) необхідно відмітити, що розподіл інкубаційних яєць за масою і подальше вирощування отриманих курчат дає можливість підвищити прирости птиці.

Так, у перший тиждень вирощування у курчат дослідних груп середньодобовий приріст був вище, ніж у контрольній. Найвищий середньодобовий приріст був у птиці IV групи – 20,67 г, що на 8,89 г вище, ніж у птиці контрольної групи. Найінтенсивніший ріст курчат спостерігається у період з 22 по 28 добу вирощування – прирости птиці складали 137,19... 154,65 г. Середньодобовий приріст за весь період вирощування курчат у контрольній та дослідних групах становив 58,10...60,88 г.

Таблиця 2 Показники приростів курчат-бройлерів впродовж всього періоду вирощування
Table 2 The indexes of growth accretion of broiler chickens during the period of growing

Вік курчат, доба	Група			
	I контрольна	II	III	IV
Середньодобовий приріст, г				
0 – 7	11,78	11,89	16,37	20,67
8 – 14	50,34	52,31	48,89	44,13
15 – 21	70,31	71,06	70,29	67,61
22 – 28	137,19	149,25	150,89	154,65
29 – 35	79,87	70,71	77,48	72,69
36 – 42	68,34	76,12	87,05	71,91
0 – 42	58,10	60,00	63,12	60,88
Абсолютний приріст, г				
0 – 7	82,44	83,21	114,57	144,68
8 – 14	352,41	366,20	342,2	308,89
15 – 21	492,19	497,42	492,06	473,26
22 – 28	960,35	1 044,8	1 056,3	1 082,57
29 – 35	559,08	494,97	542,36	508,81
36 – 42	478,38	532,83	609,33	545,36
0 – 42	2 440,33	2 520,2	2 650,83	2 557,12

Висновки

Проведені дослідження показали, що інкубація яєць масою понад 70 г при додатковому їх поділі на групи за масою в межах 5 г дозволяє підвищити однорідність молодняку при виведенні, його подальшому вирощуванні, а також досягти підвищення рівня живої маси, середньодобових і абсолютних приростів, збереженості курчат-бройлерів.

Література

- Вечеря, Ю.О. 2016. Однорідність добових курчат м'ясного кросу за сортування інкубаційних яєць за масою. *Науковий вісник НУБІП України. Серія «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва»*, № 250, р. 141–147.
- Кавтарашвили, А., Новоротов, Е., Гладилин, Д. 2012. Как добиться высокой однородности стада птицы? *Птицеводство*, № 4, р. 2–7.
- Кисилев, Л.Ю., Фатеев, В.Н. 1983. *Породы, линии и кроссы сельскохозяйственной птицы*. М.: Изд-во «Колос». 160 р.
- Краснобаев, Ю., Краснобаева, О., Крыканов, А. 2012. Хороший старт требует правильной подготовки. *Птицеводство*, № 10, р. 37–39.
- Османян, А., Лушенкова, Ю., Рыбаков, Д., Яловенко, А. 2013. Калибровка яйца и однородность стада. *Животноводство России*, № 12, р. 15–16.
- Щербатов, В.И., Данилова, О.В. 2009. Влияние массы яиц мясных кур на их инкубационные качества. *Птицеводство*, № 11, р. 17–18.



THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF PLANT RAW MATERIAL OF *PANICUM VIRGATUM* L. VARIETIES

Vergun Olena*, Rakhmetov Djamal, Fishchenko Valentyna, Rakhmetova Svitlana, Shymanska Oksana, Bondarchuk Oleksandr

M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

In article represented the results of a biochemical study of nine varieties and one cultivar of *Panicum virgatum* L. The investigations were carried out in the stage of seed ripening that is the most productive phase for these plants. Plant raw material collected and analyzed in the department of the Cultural flora of M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine. The determination of dry matter was conducted by drying to constant mass; total content of saccharides and monosaccharides – by Bertrand method in water extracts; ascorbic acid – by 2,6-dichlorophenol-indophenol titration of acid extracts; carotene – by spectrophotometric method in petrol extracts; ash – by combustion at 300–800 °C; calcium and phosphorus – by titrimetric method in acid solutions. It's found that level of dry matter was in a range from 41.96% (*Panicum virgatum* f. SL-1) to 65.28% (*Panicum virgatum* f. RB), total content of saccharides – from 3.11% (*Panicum virgatum* f. RB) to 8.69% (*Panicum virgatum* cv. Zoriane), monosaccharides – from 1.50% (*Panicum virgatum* f. RR) to 6.94% (*Panicum virgatum* f. DB), content of ash – from 3.04% (*Panicum virgatum* f. RR) to 5.27% (*Panicum virgatum* f. SL-1), calcium – from 0.353% (*Panicum virgatum* f. SL-2) to 0.987% (*Panicum virgatum* f. PP), phosphorus – from 0.065% (*Panicum virgatum* f. RB) to 0.110% (*Panicum virgatum* f. VP), ascorbic acid – from 11.80 mg% (*Panicum virgatum* f. RB) to 61.94 mg% (*Panicum virgatum* cv. Zoriane), carotene – from 0.05 mg% (*Panicum virgatum* f. RB) to 1.06 mg% (*Panicum virgatum* f. DB). Energetic value of plant raw material was in a range from 4,102.00 Kcal/ kg (*Panicum virgatum* f. DB) to 4,325.41 Kcal/kg (*Panicum virgatum* f. RB).

Keywords: *Panicum virgatum* L.; varieties; plant raw material; biochemical properties; energetic value

Introduction

Panicum virgatum L. (switchgrass) is a perennial grass native to the USA and Canada with an array of ploidy levels and ecotypes. It is used as a pasture and range grass for forage production (Huang et al., 2003). Last time these plants have characterized by using in a branch of biofuel production (Tigunova et al., 2016). Switchgrass doesn't require annual establishment, requires fewer chemical inputs (pesticide and fertilizer) than traditional row crops, produces large quantities of biomass and provides important ecosystem service. Some research has included work on breeding and genetics, ethanol potential, establishment, field-scale production economics, weed control, harvest and fertility management, documentation of the value of ecosystem services, energy balance, and entomology. The research to date fully supports that switchgrass for bioenergy is productive, protective of the environment and profitable for the farmer (Mitchell et al., 2012). *Panicum virgatum* is a C4 species

*Corresponding author: Olena Vergun, M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine, ✉ en_vergun@ukr.net

using the photosynthetic pathways that have higher photosynthetic, water, and nitrogen use efficiencies and greater tolerance to heat, nitrogen, and water stresses. These physiological attributes lead to high biomass productivity in switchgrass, especially under water- and nutrient-limited conditions (Parrish and Fike, 2005; Woli et al., 2012; Zegada-Lizarazu et al., 2012).

According to Kulyk (2015) and Kulyk (2016) the yield of a crude biomass of these plants was up to 24 T/ga and dried biomass – up to 20 T/ga depends on the group of ripeness. The main components of the switchgrass biomass are cellulose (35%), hemicellulose (29%), and lignin (26%) (Jefferson and McCaughey, 2012; Tiginova and Shulga, 2015). The maximal chlorophyll values were observed during anthesis (Liatukas, 2015).

Materials and methodology

Plant raw material collected from the experimental collections of Cultural Flora department of M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine. All biochemical analyses were conducted using the above-ground part of plants of *Panicum virgatum* varieties. The determination of absolutely dry matter conducted with drying to constant weight at 100–105 °C according to Yermakov (1972). The total content of saccharides and monosaccharides were investigated by Bertrand method in water extracts. The concentration of ascorbic acid (AA) of the acid extracts determined by a 2,6-dichlorophenol-indophenol method that based on the reduction properties of AA. Both analyses carried out according to V.P. Krishchenko (1983). The concentration of total carotene determined according to Pleshkov (1985). The procedure carried out in petrol extracts by spectrophotometric method using 2800 UV/VIS Spectrophotometer, Unico. Mixtures were left in a shaker for 2 hours and their absorbance was measured at the wavelength of 440 nm (Плешков, 1985). The level of total ash was determined using the method of combustion in muffle-oven (SNOL 7.2-1100, Termolab) at 300–800 °C until the samples turned into white ash to constant weight according to Z.M. Hrycajenko et al. (2003). The concentration of calcium was determined by titration method of acid extracts with Trilon B. Phosphorus content in plants was identified in acid extracts using molybdenum solution. Calcium and phosphorus determination carried out according to H.N. Pochinok (1976). To measure of the caloric value of seeds was equipped with a calorimeter IKA C-200 (Germany). Dry plant raw material in a range from 0.1 to 0.2 g was put in the decomposition vessel (IKA C 5010/5012) that fills with medical oxygen. Experimental data were evaluated by using Excel 2010. Mean values of three replicates and standard deviations are given in Table 1, 2 and Figure 1.

Results and discussion

In the M.M. Gryshko National Botanical Garden have been investigated varieties and cultivars of *Panicum virgatum* (Рахметов та ін., 2015; Щербаківа і Рахметов, 2017). Biochemical investigation of the plant has very important for evaluation raw material of a cultivated grasses. Maximizing dry matter yield is the primary objective when harvesting switchgrass for bioenergy (Mitchell et al., 2012). We identified among ten investigated samples that content of dry mass was in a range from 41.46 to 65.28%.

Because of high productivity and quality of plant raw material, the leading position among energetic plants have a sugar-containing plants that is value source for biofuel production (Рахметов та ін., 2014). The total content of saccharides was from 3.11 to 8.69% and monosaccharides – from 1.50 to 6.94% depending on varieties.

Table 1 The content of dry matter, total content of saccharides and monosaccharides in plant raw material of *Panicum virgatum* L. varieties in seed ripening phase, %

Sample	Dry matter	Total content of saccharides	Monosaccharides
<i>P. virgatum</i> f. DB	42.10 ±0.21	7.91 ±0.48	6.94 ±0.23
<i>P. virgatum</i> f. DN	43.86 ±0.26	7.78 ±0.13	3.76 ±0.27
<i>P. virgatum</i> f. RB	65.28 ±0.35	3.11 ±0.37	2.05 ±0.16
<i>P. virgatum</i> f. PL	43.42 ±0.19	4.35 ±0.02	3.75 ±0.30
<i>P. virgatum</i> f. PP	46.82 ±0.22	8.23 ±0.15	4.72 ±0.32
<i>P. virgatum</i> f. RR	58.34 ±0.04	4.59 ±0.15	1.50 ±0.11
<i>P. virgatum</i> f. SL-1	41.96 ±0.88	6.04 ±0.13	4.44 ±0.03
<i>P. virgatum</i> f. SL-2	44.31 ±0.30	4.65 ±0.24	3.08 ±0.18
<i>P. virgatum</i> f. VP	51.33 ±0.45	6.19 ±0.10	2.38 ±0.13
<i>P. virgatum</i> cv. Zoriane	50.45 ±0.36	8.69 ±0.27	5.95 ±0.12

In Table 2 represented the content of ash, calcium, and phosphorus in above-ground part of different varieties of *Panicum virgatum* L. in the period of seed ripening. Investigated plants characterised by the content of ash in a range from 3.19 to 5.27%. In our previous data, we analysed four varieties and one cultivar: *Panicum virgatum* f. VP, *Panicum virgatum* f. RB, *Panicum virgatum* f. VP and *Panicum virgatum* cv. Zoriane. According to obtained results, the content of dry matter was 40.70, 42.52, 36.06 and 37.14% respectively. Above-ground part of these plants accumulated 4.36% (*Panicum virgatum* f. VP), 4.70% (*Panicum virgatum* f. RB), 6.90% (*Panicum virgatum* f. VP) and 7.32% (*Panicum virgatum* cv. Zoriane) of the total content of saccharides (Ракхметов та ін., 2014). As shown in Table 1 the content of monosaccharides was from 1.50% (*Panicum virgatum* f. RR) to 6.94% (*Panicum virgatum* f. DB).

Table 2 The content of ash in plant raw material of *Panicum virgatum* L. varieties in seed ripening phase, %

Sample	Ash	Calcium	Phosphorus
<i>P. virgatum</i> f. DB	3.47 ±0.16	0.360 ±0.060	0.074 ±0.001
<i>P. virgatum</i> f. DN	4.70 ±0.13	0.610 ±0.010	0.088 ±0.002
<i>P. virgatum</i> f. RB	4.02 ±0.16	0.823 ±0.095	0.065 ±0.000
<i>P. virgatum</i> f. PL	4.33 ±0.18	0.427 ±0.055	0.097 ±0.004
<i>P. virgatum</i> f. PP	4.83 ±0.52	0.987 ±0.015	0.085 ±0.001
<i>P. virgatum</i> f. RR	3.04 ±0.48	0.397 ±0.045	0.074 ±0.000
<i>P. virgatum</i> f. SL-1	5.27 ±0.09	0.443 ±0.025	0.066 ±0.000
<i>P. virgatum</i> f. SL-2	3.97 ±0.08	0.353 ±0.075	0.082 ±0.004
<i>P. virgatum</i> f. VP	3.19 ±0.19	0.597 ±0.055	0.110 ±0.005
<i>P. virgatum</i> cv. Zoriane	3.50 ±0.03	0.983 ±0.015	0.076 ±0.005

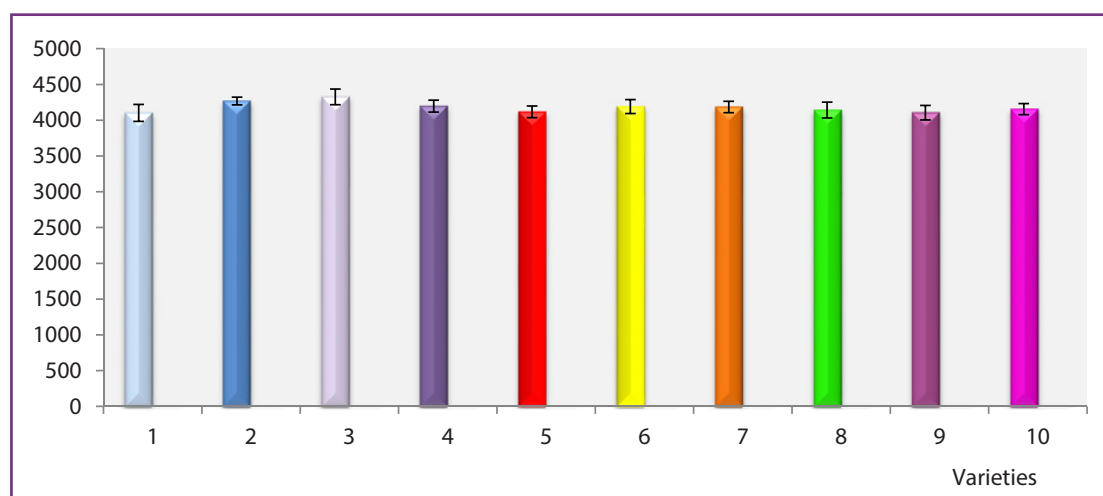


Figure 1 The energetic value of the plant raw material of *Panicum virgatum* L. varieties in a seed ripening phase, Kcal/kg
1 – *Panicum virgatum* f. DB, 2 – *Panicum virgatum* f. DN, 3 – *Panicum virgatum* f. RB, 4 – *Panicum virgatum* f. PL, 5 – *Panicum virgatum* f. PP, 6 – *Panicum virgatum* f. RR, 7 – *Panicum virgatum* f. SL-1, 8 – *Panicum virgatum* f. SL-2, 9 – *Panicum virgatum* f. VP, 10 – *Panicum virgatum* cv. Zoriane

Biomass properties such as ash composition can affect energy conversion processes such as direct combustion (Zhuo et al., 2015). Investigations of ash content showed that this sign was in a range from 3.04% (*Panicum virgatum* f. RR) to 5.27 (*Panicum virgatum* f. SL-1) %. As reported Hu et al. (2010), the ash content of *Panicum virgatum* L. was from 0.4 to 4.6% depends on switchgrass population.

We identified that maximal content of calcium in ash was 0.987% (*Panicum virgatum* f. PP) and minimal – 0.353% (*Panicum virgatum* f. SL-2). The concentration of phosphorus was in a range from 0.065% (*Panicum virgatum* f. RB) to 0.110 (*Panicum virgatum* f. VP).

We investigated the accumulation of ascorbic acid in phase ripening phase. The content of ascorbic acid wasn't significant for all investigated plants. *Panicum virgatum* f. DB accumulates 19.27 mg%, *Panicum virgatum* f. DN – 30.09 mg%, *Panicum virgatum* f. RB – 11.80, *Panicum virgatum* f. PL – 13.94 mg%, *Panicum virgatum* f. PP – 28.20 mg%, *Panicum virgatum* f. RR – 13.44 mg%, *Panicum virgatum* f. SL-1 – 13.70 mg%, *Panicum virgatum* f. SL-2 – 18.62 mg%, *Panicum virgatum* f. VP – 27.86 mg%, *Panicum virgatum* cv. Zoriane – 61.94 mg%. According to Rakhmetov et al. (2014) the accumulation of ascorbic acid in above-ground part was 59.84 mg% (*Panicum virgatum* f. VP), 42.07 mg% (*Panicum virgatum* cv. Zoriane), and 23.28 mg% (*Panicum virgatum* f. RB).

It was investigated the content of carotene in above-ground part of plants of *Panicum virgatum*. Research showed that *Panicum virgatum* f. DB in the seed ripening period accumulates 1.06 mg%, *Panicum virgatum* f. DN – 0.16 mg%, *Panicum virgatum* f. RB – 0.05 mg%, *Panicum virgatum* f. PL – 0.62 mg%, *Panicum virgatum* f. PP – 0.71 mg%, *Panicum virgatum* f. RR – 0.61 mg%, *Panicum virgatum* f. SL-1 – 0.32 mg%, *Panicum virgatum* f. SL-2 – 0.74 mg%, *Panicum virgatum* f. VP – 0.55 mg%, *Panicum virgatum* cv. Zoriane – 0.81 mg%. As identified Rakhmetov et al. (2014) the content of carotene was 0.21 mg% (*Panicum virgatum* f. VP), 0.42 mg% (*Panicum virgatum* cv. Zoriane), and 0.43 mg% (*Panicum virgatum* f. RB).

It's should be noted that among investigated plants ws in a range from 4,102.00 Kcal/kg (*Panicum virgatum* f. DB) to 4,325.41 (*Panicum virgatum* f. RB). As showed previous data, obtained by Rakhmetov et al. (2014) the energetic value of plant arwmaterial was from 4,011.67 to 4,349.67 Kcal/kg.

Conclusions

Results showed that in conditions of M.M. Gryshko National Botanical Garden among the investigated plants the leader of accumulation of dry matter and calories was *Panicum virgatum* f. RB. Maximal sign of total content of saccharides and concentration of ascorbic acid was characterized for *Panicum virgatum* cv. Zoriane. The most content of monosaccharides and carotene found in plant raw material of *Panicum virgatum* f. DB. The higher level of ash observed in sample *Panicum virgatum* f. SL-1, calcium – in *Panicum virgatum* f. PP and phosphorus – in *Panicum virgatum* f. VP. To conclude, investigated plants of *Panicum virgatum* L. can be used not only as energetic plants but as fodder crops.

References

- Hu, Z., Sykes, R., Davis, M.F., Brummer, E.C., Ragauskas, A.J. 2010. Chemical profiles of switchgrass. *Bioresource Technology*, vol. 101, p. 3253–3257.
- Huang, S., Su, X., Haselkorn, R., Gornicki, P. 2003. Evolution of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) based on sequences of the nuclear gene encoding plastid acetyl-CoA carboxylase. *Plant Science*, vol. 164, p. 43–49.
- Jefferson, P.G., McCaughey, M.P. 2012. Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) cultivar adaptation, biomass production, and cellulose concentration as affected by latitude of origin. *ISRN Agronomy*, vol. 2012, Article ID 763046. [doi:10.5402/2012/763046](https://doi.org/10.5402/2012/763046)
- Liatukas, Z., Lemeziene, N., Butkute, B., Ceseviciene, J., Dabkeviciene, C. 2015. Chlorophyll values as a measure of genetic variation of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) populations under cool temperate climate conditions. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 102, no. 2, p. 159–166. [DOI 10.13080/z-a.2015.102.021](https://doi.org/10.13080/z-a.2015.102.021)
- Mitchell, R., Vogel, K.P., Uden, D.R. 2012. The feasibility of switchgrass for biofuel production. *Biofuels*, vol. 3, no. 1, p. 47–59.
- Parrish, D.J, Fike, J.H. 2005. The biology and agronomy of Switchgrass for Biofuels. *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 24, no. 5–6, p. 423–459.
- Tigunova, O.O., Shulga, S.M. 2015. New strain-producers of biobutanol. III. Methods of increased butanol accumulation from biomass of switchgrass *Panicum virgatum* L. *Biotechnologia Acta*, vol. 8, no. 4, p. 92–97. [DOI:10.15407/biotech8.04.092](https://doi.org/10.15407/biotech8.04.092)
- Tigunova, O.O., Beiko, N.E., Andriash, A.S., Priymov, S.G., Shulga, S.M. 2016. Liophilization effect on productivity of butanol-producing strains. *Biotechnologia Acta*, vol. 9, no. 5, p. 24–29. <https://doi.org/10.15407/biotech9.05.024>
- Woli, P., Paz, J.O., Lang, D.J., Baldwin, B.S., Kiniry, J.R. 2012. Soil and variety effect on the energy and carbon balances of switchgrass-derived ethanol. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems*, vol. 2, p. 65–74. <http://dx.doi.org/10.4236/jsbs.2012.24010>
- Zegada-Lizarazu, W., Wulschleger, S.D., Nair, S.S., Monti, A. 2012. Crop Physiology In Monti, A. *Switchgrass: A valuable Biomass Crop for Energy*. London: Springer-Verlag, p. 55–86.
- Zhuo, Y., Zhang, Y., Xie, G., Xiong, S. 2015. Effects of salt stress on biomass and ash composition of switchgrass (*Panicum virgatum*). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Science*, vol. 65, no. 4, p. 300–309. <http://dx.doi.org/10.1080/09064710.2015.1006670>
- Грицаєнко, З.М., Грицаєнко, А.О., Карпенко, В.П. 2003. *Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунтів*. Київ: НІЧЛАВА. 320 с. ISBN 966-7317-84-6.

- Ермаков, А.И., Арасимович, В.В., Смирнова-Иконникова, М.И. 1972. *Методы биохимического исследования растений*. Ленинград: Колос. 456 с.
- Крищенко, В.П. 1983. *Методы оценки качества растительной продукции*. Москва: Колос, 192 с.
- Кулик, М.И. 2015. Адаптивный потенциал проса прутьевидного в условиях Украины. *Вестник Курганской ГСХА*, № 1, с. 28–30.
- Кулик, М.И. 2016. Урожайність сортів проса прутіподібного п'ятого року вегетації залежно від біометричних показників рослин. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, № 1–2, с. 30–35.
- Плешков, Б.П. 1985. *Практикум по биохимии растений*. Москва: Колос. 256 с.
- Починок, Х.Н. 1976. *Методы биохимического анализа растений*. Київ, Наук. Думка. 336 с.
- Рахметов, Д.Б., Корабльова, О.А., Стаднічук, Н.А., Андрущенко О.Л., Ковтун-Водяницька С.М. 2015. *Каталог рослин відділу нових культур*. Київ: Фітосоціоцентр. 112 с.
- Щербакова, Т., Рахметов, Д. 2017. Особливості будови пагонів проса прутіподібного (*Panicum virgatum* L.) в умовах інтродукції в Правобережному Лісостепу та Поліссі України. *Сортівивчення та охорона прав на сорти рослин*, № 1, с. 85–88. <http://dx.doi.org/10.21498/2518-1017.13.1.2017.97334>



TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PLANTS OF *SYMPHYTUM* L. SPECIES

Vergun Olena^{1*}, Brindza Jan², Rakhmetov Djamal¹

¹M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The aim of this study to demonstrate the antioxidant potential of methanolic, ethanolic and aqueous extracts of plants of *Symphytum* L. species. The DPPH radical scavenging effect was assessed by the discoloration of methanol solution of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl after 10 minutes according to Brand-Williams et al. (1995). Total antioxidant activity (TAA) of above-ground part of *Symphytum asperum* Lepech. during vegetation was from 73.59% (at spring vegetation stage) to 79.65% (fruitage) in methanolic extracts, from 17.53% (budding stage) to 36.31% (spring vegetation stage) – in ethanolic extracts, from 59.64% (spring vegetation stage) to 76.15% (stage of stem growth) – in water extracts. Methanolic extracts of *Symphytum caucasicum* Bieb. showed the TAA from 75.48% (budding stage) to 80.81% (spring vegetation stage), ethanolic extracts – from 22.61% (blossoming stage) to 73.99% (spring vegetation stage), water extracts – from 67.46% (budding stage) to 74.45% (blossoming stage). In plant raw material of *Symphytum × uplandicum* Nyman TAA was from 16.24% (blossoming stage) to 79.18% (budding stage) in methanolic extracts, from 5.64% (blossoming stage) to 21.06% (budding stage) – in ethanolic extracts, from 17.23% (stage of stem growth) to 60.58% (budding stage) – in water extracts. Maximal sign of radical inhibition was noticed in methanolic extracts of *Symphytum caucasicum* in stage of spring vegetation and minimal – in ethanolic extracts of *Symphytum × uplandicum* in blossoming stage. Obtained data allow to use these plants as plant raw material with antioxidant potential.

Keywords: *Symphytum* spp.; antioxidant activity; DPPH-method; methanol; ethanol; aqueous extracts

Introduction

Medicinal plants have been used in the cure of human diseases due to their content of components with antioxidant value. Antioxidants are a group of different natural compounds in the human body which are important for protection against the harmful effects of free radicals (Tahirovic et al., 2014). Plants of genus of *Symphytum* L. are species widely used in traditional and folk medicine. Plant raw material of these plants is a rich source of biological activity compounds such as allantoin, mucopolysaccharides, flavones, steroidal saponins, alkaloids, macro elements, amino acids, phenolic acids with anticancer and antioxidant action (Roman et al., 2008; Vergun, 2008; Castro et al., 2001; Stef et al., 2010; Vergun and Rakhmetov, 2013). Savic et al. (2012) reported that ethanol extracts of the underground part of *Symphytum officinale* L. showed the DPPH radical scavenging 77.3%. The results obtained by Paun et al. (2012) showed over 80% DPPH inhibition by the concentrated extracts of underground part of *Symphytum officinale*. Puertas-Mejia et al. (2012) determined in the ethanol extracts of leaves the antiradical activity 49.94%. According to Stef et al. (2010) the antioxidant

***Corresponding author:** Olena Vergun, M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine, ✉ en_vergun@ukr.net

activity of extracts of *Symphytum officinale* was 36.3%. From the leaves *Symphytum asperum* Lepech. and *Symphytum caucasicum* Bieb. identified high molecular weight fractions with anticomplement and antioxidant activity which might be used as anti-inflammatory and wound-healing agents (Barbakadze et al., 2011). Alkan et al. (2014) obtained data that percentage of inhibition of the DPPH radical was varying from 38.72 to 85.09% in ethanolic extracts and from 21.68 to 52.19% in aqueous extracts of leaves.

In present study we are interested to quantify the total antioxidant capacity of above-ground part of three species of genus of *Symphytum*.

Materials and methodology

Plant raw material collected from the experimental collections of Cultural Flora department of M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine. It were investigated dried above-ground part of plants of *Symphytum* species: *Symphytum officinale*, *Symphytum caucasicum*, *Symphytum × uplandicum* Nyman. Plant material was took at stage of spring vegetation, stem growth, budding, blossoming, fruitage. Investigation of total antioxidant activity (TAA) carried out in Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra (Slovak Republic). TAA of the methanolic, ethanolic and aqueous extracts was determined according to Brand-Williams et al. (1995) against DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Brand-Williams et al., 1995). The procedure of determination of optical density measured with spectrophotometer Genesis-20 at wavelength 515 nm. Dry mass (1 g) of investigated plants mixed with 25 mL of solvent. Extraction was carried out with methanol, ethanol and water during 12 hours with constant stirring on shaker. Antioxidant solution in solvent (0.1 mL) was added to 3.9 mL of methanol DPPH · solution (25 mg per 100 mL of methanol with further delution). Absorbance of radical solution was in range 0.700–0.800. Optical density of the solution was measured after adding sample immediately and after 10 min of incubation in the dark. Mean values of three replicates and standard deviations are given in Table 1–3.

Results and discussion

The antioxidant activity of plant extracts is of particular interest both of their beneficial physiological activity on human cells and the potential they have to replace synthetic antioxidants used in foodstuff (Amarowicz, 1999). Most of the methods of determination of total antioxidant activity characterize the ability of the tested compound or product to scavenge free radicals and to complex metal ions driving the oxidation process (Tirzitis and Bartosz, 2010). The DPPH method is rapid, simple, accurate and inexpensive assay for measuring the ability of different compounds to act as free radical scavengers (Marinova and Batchvarov, 2011).

For centuries, *Symphytum officinale* (comfrey) has been used as a traditional medicinal plant for the treatment of painful muscle and joint complaints. Comfrey has also been used in veterinary medicine. The therapeutic properties of comfrey are based on its anti-inflammatory and analgesic effect. These plants also stimulate granulation and tissue regeneration, and supports callus formation (Staiger, 2012). As shown in Table 1 methanol extracts of above-ground part of *Symphytum asperum* was in range from 73.59 to 79.65 depending on stage of growth.

Aqueous extracts had antiradical scavenging in range from 59.64 to 76.15%. The lowest result of inhibition shown ethanol extracts of investigated plants during vegetation 17.53–36.31%. Methanolic extract showed the most antioxidant activity at the period of fruitage, ethanolic – at spring vegetation, aqueous – at stem growth.

Table 1 Antioxidant activity of different extracts of *Symphytum asperum* Lepech. during the vegetation, % of inhibition

Phase of growing	Methanol extracts		Ethanol extracts		Aqueous extracts	
	m	σ	m	σ	m	σ
Spring vegetation	73.59	1.03	36.31	2.89	59.64	0.47
Stem growth	78.04	3.23	26.78	1.29	76.15	0.34
Budding	78.73	1.12	17.53	0.88	72.67	2.70
Blossoming	75.92	0.98	25.16	1.84	62.99	1.13
Fruitage	79.65	0.74	19.97	0.34	67.65	1.04

m – mean values, σ – standard deviation

According to Vergun et al. (2014) antioxidant activity of shoots in the end of vegetation in extracts of *Symphytum asperum* was 87.34% (methanolic extracts) and 50.83% (water extracts).

In Table 2 represented the TAA of different extracts of plant raw material of *Symphytum caucasicum*. Methanol extracts inhibited solution of radical in range from 75.48 to 80.81%, ethanol extracts – from 22.61 to 73.99% and aqueous extracts – from 67.46 to 74.45%.

Table 2 Antioxidant activity of different extracts of *Symphytum caucasicum* Bieb. during the vegetation, % of inhibition

Phase of growing	Methanol extracts		Ethanol extracts		Aqueous extracts	
	m	σ	m	σ	m	σ
Spring vegetation	80.81	0.19	73.99	1.48	73.94	0.98
Stem growth	78.08	1.88	53.64	0.60	68.91	1.58
Budding	75.48	2.23	33.28	0.92	67.46	1.84
Blossoming	79.28	1.24	22.61	1.46	74.45	3.03
Fruitage	78.38	0.24	36.19	1.48	69.59	1.52

m – mean values, σ – standard deviation

As reported Badridze et al. (2013), the total antioxidant activity of leaves extracts of *Symphytum caucasicum* in ethanol was 27.5%. In methanolic extracts of leaves of these plants in the end of vegetation, as reported Vergun et al. (2014), inhibition of free radical was 52.64%, in water extracts – 57.43%. Methanolic extracts of above-ground part of *Symphytum caucasicum* during vegetation showed antioxidant activity 75–80%, aqueous – 67–74%. It should be noted for ethanolic extracts different signs for different stages. From the start of vegetation to blossoming stage antiradical activity decreases from 73.99 to 22.61% and in the stage of fruitage increase to 36.19%.

Table 3 has demonstrated that antioxidant activity of the methanol extracts of *Symphytum uplandicum* during vegetation was in range from 16.24 to 79.18, ethanol extracts – from 5.64 to 21.06 and aqueous extracts – from 17.23 to 60.58%.

Table 3 Antioxidant activity of different extracts of *Symphytum* × *uplandicum* Nyman during the vegetation, % of inhibition

Phase of growing	Methanol extracts		Ethanol extracts		Aqueous extracts	
	m	σ	m	σ	m	σ
Spring vegetation	77.95	1.70	10.61	1.10	55.47	1.40
Stem growth	67.44	0.66	11.99	0.54	17.23	2.57
Budding	79.18	1.46	21.06	0.46	60.58	1.04
Blossoming	16.24	0.92	5.64	0.32	53.87	0.88
Fruitage	26.37	2.51	5.67	0.40	37.86	2.81

m – mean values, σ – standard deviation

As showed our previous data the antioxidant activity of leaves of *Symphytum* × *uplandicum* in the end of vegetation was 58.32% in methanolic extracts and 58.98% – in water extracts (Vergun et al., 2014).

It's should be noted that among investigated plants *Symphytum* × *uplandicum* showed the most variable result in different extracts during vegetation. In spring vegetation in methanolic extracts it was 4.7 times more comparing with blossoming stage. In ethanolic extracts its increases from spring vegetation to budding and from budding to blossoming decreases again. In aqueous extracts peak of inhibition was noted in the budding stage, from budding to fruitage its decreases. The lowest sign identified in steam growth period.

Conclusions

Thus, the different extracts of dry plant raw material of *Symphytum* L. species were investigated by DPPH-method to identify antiradical scavenging. The TAA of methanolic extracts was in range from 16.24% in blossoming stage (*Symphytum* × *uplandicum*) to 80.81% in stage of spring vegetation (*Symphytum caucasicum*). The ethanolic extracts demonstrated the TAA in range from 5.64% in blossoming stage (*Symphytum* × *uplandicum*) to 73.99% in spring vegetation stage (*Symphytum caucasicum*). In the aqueous extracts was identified the TAA in range from 17.23% in stage of stem growth (*Symphytum* × *uplandicum*) to 76.15% in stage of stem growth (*Symphytum asperum*). Summarizing the obtained data it should be noted that for investigated plants of genus of *Symphytum* the radical inhibition by DPPH-method was 5.64–80.81% depending on extract solution that allows use it as potential antioxidant source.

Acknowledgments

The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» and within the project ITEBIO (ITMS 26220220115).

References

- Alkan, F.U., Anlas, C., Ustiner, O., Bakirel, T., Sari, A.B. 2014. Antioxidant and proliferative effects of aqueous and ethanolic extracts of *Symphytum officinale* on 3T3 Swiss albino mouse fibroblast cell line. *Asian Journal of Plant Science and Research*, vol. 4, no. 4, p. 62–68.

- Amarowicz, R., Barl, B., Pegg, R.B. 1999. Potential natural antioxidants from Saskatchewan indigenous plants. *Journal of Food Lipids*, vol. 6, p. 317–329.
- Badridze, G., Kacharova, N., Chkhubianishvili, E., Rapava, L., Kikvidze, M., Chigladze, L., Chanishvili, S. 2013. Content of antioxidants in leaves of some plants of Tbilisi environs. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, vol. 7, no. 3, p. 106–111.
- Barbakdze, V.V., Mulkidzhanyan, K.G., Merlani, M.I., Gogilashvili, L.M., Amiranashvili, L.Sh., Shaburishvili, E.K. 2011. Extraction, composition, and the antioxidant and anticomplement activities of high molecular weight fractions from the leaves of *Symphytum asperum* and *S. caucasicum*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 44, no. 11, p. 604–607.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, vol. 28, p. 25–30.
- Castro, A.H.F., Young, M.C.M., Alvarenga, A.A., Alves, J.D. 2001. Influence of photoperiod on the accumulation of allantoin in comfrey plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, vol. 13, no. 1, p. 49–54.
- Marinova, G., Batchvarov, V. 2011. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol. 17, no. 1, p. 11–24.
- Paun, G., Neagu, E., Litescu, S.C., Rotinberg, P., Radu, G.L. 2012. Application of membrane processes for the concentration of *Symphytum officinale* and *Geranium robertianum* extracts to obtain compounds with high anti-oxidative activity. *Journal of the Serbian Chemical Society*, vol. 77, no. 9, p. 1191–1203. DOI: [10.2298/JSC120106021P](https://doi.org/10.2298/JSC120106021P)
- Puertas-Mejia, C.M.A., Zuleta-Montoya, L.J.F., Rivera-Echeverry, L.F. 2012. *In vitro* antioxidant capacity of comfrey (*Symphytum officinale* L.). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 17, no. 1, p. 30–36.
- Roman Paun, G., Neagu, E., Moroeanu, V., Radu, G.L. 2008. Concentration of *Symphytum officinale* extracts with cytostatic activity by tangential flow ultrafiltration. *Roumanian Biotechnological Letters*, vol. 13, no. 6, p. 4008–4013.
- Savic, V., Nikolic, V., Stanojevic, L., Ilic, D., Stankovic, B. 2012. Extraction kinetics and antioxidant activity of an aqueous extract from comfrey root (*Symphytum officinale* L.). *Advanced Technologies*, vol. 1, no. 2, p. 41–47.
- Staiger, C. 2012. Comfrey: a clinical overview. *Phytotherapy Research*, vol. 26, p. 1441–1448. DOI: [10.1002/ptr.4612](https://doi.org/10.1002/ptr.4612)
- Stef, D.-S., Gergen, I., Ioan-Trasca, T., Stef, L., Pop, C., Harmanescu, M., Biron, R., Pet, E. 2010. Evaluation of 33 medicinal plant extracts for the antioxidant capacity and total phenols. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, vol. 8, no. 3–4, p. 207–210.
- Stef, D.-S., Gergen, I., Stef, L., Harmanescu, M., Pop, C., Druga, M., Bujanca, G., Popa, M. 2010. Determination of the macro elements content of some medicinal herbs. *Animal Science and Biotechnologies*, vol. 43, no. 1, p. 122–126.
- Tirzitis, G., Grzegorz, B. 2010. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, vol. 57, no. 1, p. 139–142.
- Tahirovic, I., Kozljak, M., Toromanovic, J., Copra-Janicijevic, A., Klepo, L., Topcagic, A., Demirovic, H. 2014. Total phenolic content and antioxidant capacity in infusions of various herbal teas. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, vol. 42, p. 51–55.
- Vergun, O.M. 2008. The content of free amino acids and photosynthetic pigments of *Symphytum* L. species in Ukrainian Northern Forest-Steppe. *Scientific Bulletin of Chernivtsi University*, vol. 416, p. 156–161.
- Vergun, E.N., Rakhmetov, D.B. 2013. Total content of sugars and ascorbic acid in *Symphytum* L. species during flowering period. *Non-traditional, New and Forgotten Plant Species: Scientific and Practical Aspects of Cultivation*. Kyiv: Veles, p. 374–377.
- Vergun, E., Rakhmetov, D., Brindza, J. 2014. The biological aspects of investigation of genus *Symphytum* L. *Inovacie technologii specialnych vyrobkov biopotravin pre zdravu vyzivu l'udi: zbornik vedeckych prac a vysledkov*. Nitra, 2014, p. 269–277.



THE LIPID CONTENT IN THE SEEDS OF BRASSICACEAE BURNETT FAMILY

Vergun Olena*, Rakhmetov Djama, Fishchenko Valentyna, Rakhmetova Svitlana, Shymanska Oksana, Druz Nina, Bogatel Ludmyla

M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received 24. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

The goal of this paper is to demonstrate a potential of energetic value of seeds of oil plants collected in the M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine. In the present study lipid and caloric content of cultivars and varieties of *Brassica campestris* D.C., *Brassica juncea* (L.) Czern., *Brassica napus* D.C., *Brassica rapa* subsp. *rapifera* Metzger, *Camelina sativa* (L.) Crantz and *Sinapis alba* L. are described. Studing of seeds of 19 samples of investigated plants was carried out by method of extraction with petroleum ether equipped with Soxhlet extractor. Content of lipids was determined in range from 17.72% (*Brassica campestris* f. *annua* D.C., cv. Pioneer) to 37.61% (*Brassica napus* f. *annua* D.C., cv.s. Yamal). Comparing of *Brassica campestris* plants showed that winter varieties had higher level of lipids in seeds and was in range from 28.35 to 34.48%. In the spring varieties the same parameter was in range from 17.72 to 29.00%. Identification of energetic value was made by method of combustion in the oxygen and was determined in range from 5,039.33 Kcal/kg (*Brassica campestris* f. *annua*) to 6,108.00 Kcal/kg (*Brassica napus* f. *annua* D.C., cv.s. Yamal). Content of calories in the seeds of winter varieties of *Brassica campestris* was from 5,530.40 to 6,045.67 Kcal/kg and in spring varieties – from 5,381.33 to 5,659.11 Kcal/kg.

Keywords: oil plants; lipids; energetic value

Introduction

Among the important direction of biofuel production in Ukraine is finding plants with high content of oils. Brassicaceae Burnett is one of the most widespread families which members have provided substantial part of human needs in plant oil. These cultures have the high ecological plasticity, productive potential, resistance to pests etc. Among these plants species of genus of *Brassica* L., *Camelina* L., *Sinapis* L. should be noted (Chhokar et al., 2008; Baud and Lepiniec, 2010; Rakhmetov et al., 2014; Beniwal et al., 2015).

The cultivated *Brassica* species are the group of economically important crops for human health, nutrition as well as for non-edible uses. The oil of some species is a rich source of fatty acids which use nowadays (Dasgupta and Friend, 1973; Sharma et al., 2003; Qui et al., 2006; El-Beltagi and Mohamed, 2010; Pieretti et al., 2012). Many of them accumulate fatty acids in the form of triacylglycerols as major storage components in seeds (Li et al., 2006; Chhokar et al., 2008). High content of linoleic and linolenic acid was found in seeds of *Camelina sativa* L. (Shukla et al., 2002).

One of the most important purpose in the agricultural science is to find a new source of oil that is rich by fatty acids. Also, last time many investigations have connected with determination

*Corresponding author: Olena Vergun, M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, ✉ en_vergun@ukr.net

of energetic value of different parts of plants and influence of adding of mineral fertilization (Nurzynska-Wierdak, 2015). There are suggestions that waste vegetable oil would be the best source to produce biodiesel. Although it has economic benefits, it is even more profitable to convert waste oils into other products, such as soap (Hodur et al., 2012).

Our aim was to determine a content of lipids and energetic potential of seeds some oil plants.

Materials and methodology

Plant material was collected from the experimental collections of the Department of Cultural flora of M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine. The procedure of the determination of total lipid level was performed using Soxhlet extractor. Seeds were fixed in the filter paper packets with measured mass. The total lipids were extracted with petroleum ether (boiling temperature 40–60 °C) according to A.I. Yermakov. Total procedure of extraction was carried out for three days (Yermakov et al., 1972). To measure of caloric value of seeds was equipped with a calorimeter IKA C-200 (Germany). Dry seeds in a range from 0.1 to 0.2 g were put in the decomposition vessel (IKA C 5010/5012) that fills with medical oxygen. All operation of measuring of one sample is 15 minutes in the distilled water. Experimental data were evaluated by using Excel 2010.

Results and discussion

Lipids have many important biological functions, including storing energy, signaling and acting as structural components of cell membranes. These important biological macromolecules, occur in different forms such as waxes, sterols, fat-soluble vitamins, phospholipids etc. (Chen et al., 2015). Data given in table showed different oil content in the seeds of investigated plants (Table 1). Minimal level of lipids was found in the sample of *Brassica campestris* f. *annua* D.C., cv. Pioneer and maximal – in the *Brassica napus* f. *annua* D.C., cv.s. Yamal. *Brassica napus* is one of the most important edible oilseed crops in the world and produces considerable amounts of edible oil for human consumption (Chen et al., 2015).

It is noticed that samples of seeds of *Brassica campestris* had a total content of lipids from 17.72 to 34.48%. If consider different varieties of *Brassica campestris* it should be noted that lipid content in seeds of spring varieties was from 17.72 to 29.04% and in winter-annual varieties – from 28.35 to 34.48%. According to Blume et al. (2016) maximal oil content in seed was up to 45.1% for *Brassica campestris* f. *biennis* D.C. × *B. rapa* L. that showed results more than in our experiment for investigated cultivars (32.27–34.48%) (Blume et al., 2016).

Energetic value of seeds was from 5,039.33 to 5,659.11 Kcal/kg in summer varieties and from 5,530.40 to 6,045.67 Kcal/kg in winter-annual varieties of plants of *Brassica campestris*.

Seeds of *Brassica juncea* showed total lipid content from 21.48 to 25.45%, *Brassica napus* – from 27.69 to 37.61%, *Brassica rapa* – 22.39%, *Sinapis alba* – 31.80%. Previous data, for example, Goffman et al. (1999) found 27.7, 40.6, 31.4 and 19.4% of lipid content in these samples respectively.

Brassica napus is the third most important source of vegetable oil in the world, after soybean and palm oil. Rapeseed oil is an excellent feedstock for biodiesel production (Hodur et al., 2012). Jensen et al. (1996) identified content of lipids in the *Brassica napus* seeds in range from 39.9 to 46.5% (Jensen et al., 1996). Two our samples of *Brassica napus* showed lipid concentration 27.69–37.61%.

Table 1 The total content of lipids and energetic value of seeds Brassicaceae Burnett family

Name of sample	Lipids, %	Energetic value, Kcal/kg
<i>Brassica campestris</i> f. <i>annua</i> D.C.	20.81 ±0.64	5,039.33 ±115.44
<i>B. campestris</i> f. <i>annua</i> D.C., cv.s. Chanita-FLO	25.27 ±0.85	5,659.11 ±132.59
<i>B. campestris</i> f. <i>annua</i> D.C., cv. Pioneer	17.72 ±0.68	5,381.33 ±113.54
<i>B. campestris</i> f. <i>annua</i> D.C., f. EOSIAF-1	25.08 ±0.25	5,633.00 ±144.41
<i>B. campestris</i> f. <i>annua</i> D.C., f. EOSIAF-2	29.04 ±0.85	5,645.33 ±131.86
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C., cv. Oriana	33.26 ±0.09	6,045.67 ±96.62
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C., f. EOSOFHI	33.92 ±0.01	5,981.33 ±104.52
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C.× <i>B. rapa</i> L., cv. Fitopal	32.57 ±0.15	5,939.67 ±104.62
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C.× <i>B. rapa</i> L., cv. Obrii	32.27 ±0.12	5,944.00 ±88.07
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C.× <i>B. rapa</i> L., f. EOTFVS	34.48 ±0.58	5,971.67 ±111.29
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C.× <i>B. rapa</i> L. × <i>B. napus</i> f. <i>biennis</i> D.C., f. EOHBTRO-1	29.58 ±0.69	5,530.40 ±131.93
<i>B. campestris</i> f. <i>biennis</i> D.C. × <i>B. napus</i> f. <i>biennis</i> D.C., cv. Innovacia	28.35 ±1.12	5,761.33 ±122.39
<i>B. juncea</i> (L.) Czern. f. <i>biennis</i> , cv. Annushka	21.48 ±0.15	5,260.39 ±122.71
<i>B. juncea</i> (L.) Czern. f. <i>biennis</i> , cv. Venera	25.45 ±0.60	5,472.33 ±126.51
<i>B. napus</i> f. <i>annua</i> D.C., cv.s. Yamal	37.61 ±0.57	6,108.00 ±99.24
<i>B. napus</i> f. <i>biennis</i> D.C., f. EROF-5	27.69 ±1.73	5,411.67 ±102.03
<i>B. rapa</i> subsp. <i>rapifera</i> Metzger	22.39 ±2.17	5,653.00 ±82.93
<i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz f. <i>biennis</i>	31.55 ±1.14	5,381.67 ±113.18
<i>Sinapis alba</i> L., cv. Karolina-B	31.80 ±1.70	5,753.00 ±95.87

It was identified that lipid level in *Camelina sativa* was 31.55% that is similar to data obtained by Budin et al. (1995). In this report results determined in the range from 29.9 to 38.3% (Budin et al., 1995). According to data of Zubr (2003) this parameter was in range from 39.6 to 44.1% (Zubr, 2003). Basing on data obtained by Blume et al. (2016) the oil content of seeds of *Camelina sativa* identified in range from 42.6 to 43.9% that is 12% more approximately if compare with our results. Rakhmetov et al. (2014) reported that cultivars and varieties *Camelina sativa* seed had rich lipid value from 36.04 to 43.89% (Rakhmetov et al., 2014).

The average caloric value of all samples ranged from 5,039.33 Kcal/kg (*Brassica campestris* f. *annua*) to 6,108.00 Kcal/kg (*Brassica napus* f. *annua* D.C., cv.s. Yamal). Previous data obtained by Rakhmetov et al. (2014) showed high energy value of *Camelina sativa* seeds (5,678–5,965 Kcal/kg) (Rakhmetov et al., 2014). In our experiment, this parameter was 5,381.67 Kcal/kg.

Conclusions

In the conditions of M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine the total content of lipids in the seeds of 19 investigated plant samples oil plants of Brassicaceae species was

in range from 17.72 (*Brassica campestris* f. *annua* D.C., cv. Pioneer) to 37.61 (*Brassica napus* f. *annua* D.C., cv.s. Yamal) % per dry matter. Winter varieties of *Brassica campestris* had higher level of lipids than spring varieties. Also, was determined energetic value of seeds of these plants in range from 5,039.33 (*Brassica campestris* f. *annua*) to 6,108.00 (*Brassica napus* f. *annua* D.C., cv.s. Yamal). Our experimental data have showed that investigated species of plants and their cultivars and varieties are the rich source of lipids and caloric content for different directions of use.

References

- Baud, S., Lepiniec, L. 2010. Physiological and developmental regulation of seed oil production. *Progress in Lipid Research*, vol. 49, no. 3, p. 235–49. DOI: [10.1016/j.plipres.2010.01.001](https://doi.org/10.1016/j.plipres.2010.01.001)
- Beniwal, V., Aggarwal, H., Kumar, A., Chhokar, V. 2015. Lipid content and fatty acid change in the developing silique wall of mustard (*Brassica juncea* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 4, p. 122–125. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.10.001>
- Blum, R.Ya., Boychuk, Yu.M., Yemets, A.I., Rakhmetova, S.O., Blume, Ya.B., Rakhmetov, D.B. 2016. Comparative analysis of fatty acid composition for oils from seeds of tyfon, oil radish and camelina breeding forms and varieties as perspective source for biodiesel production. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*, vol. 18, p. 61–66.
- Budin, J.T., Breene, W.M., Putnam, D.H. 1995. Some compositional properties of camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz seeds and oils. *Journal of the American oil chemists' Society*, vol. 72, no. 3, p. 309–315. DOI: [10.1007/BF02541088](https://doi.org/10.1007/BF02541088)
- Chen, J., Tan, R.-K., Gou, X.-J., Fu, Z.-L., Wang, Z., Wang, Z., Zhang, Z.-Y., Tan, X.-L. 2015. Transcriptome analysis comparison of lipid biosynthesis in the leaves and developing seeds of *Brassica napus*. *Plos One*. DOI: [10.1371/journal.pone.0126250](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126250)
- Chhokar, V., Beniwal, V., Kumar, A., Rana, J.S. 2008. Lipid content and fatty acid composition of mustard (*Brassica juncea* L.) during seed development. *The Asian Journal of Experimental Chemistry*, vol. 3, no. 1–2, p. 6–9.
- Dasgupta, S.K., Friend, J. 1973. Changes in the lipid and fatty acid composition during maturation of seeds of white mustard (*Sinapis alba*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 24, p. 463–470. DOI: [10.1002/jsfa.2740240415](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740240415)
- El-Beltagi, H., Mohamed, A.A. 2010. Variations in fatty acid composition, glucosinolate profile and some phytochemical contents in selected oil seed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. *Grasas Y Aceites*, vol. 61, no. 2, p. 143–150. DOI: [10.3989/gya.087009](https://doi.org/10.3989/gya.087009)
- Goffman, F.D., Thies, W., Velasco, L. 1999. Chemotaxonomic value of tocoferols in Brassicaceae. *Phytochemistry*, vol. 50, p. 793–798.
- Hodur, C., Laszlo, Z., Tommaso, G. 2012. Food by-products for biofuels. McElhatton, A., Sobral, P.J.A. *Novel Technologies in Food Science*. Springer, vol. 7, p. 39–64. DOI: [10.1007/978-1-4419-7880-6](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7880-6)
- Jensen, C.R., Mogensen, V.O., Mortensen, G., Fieldsend, J.K., Milford, G.F.J., Andersen, M.N., Thage, J.H. 1996. Seed glucosinolate, oil and protein contents of field-grown rape (*Brassica napus* L.) affected by soil drying and evaporative demand. *Field Crops Research*, vol. 47, p. 93–105.
- Li, R.-J., Wang, H.-Z., Lu, H.M., Hua, W. 2006. Identification of differentially expressed genes in seeds of two near-isogenic *Brassica napus* lines with different oil content. *Planta*, vol. 224, p. 952–962.
- Nurzynska-Wierdak, R. 2015. Nutritional and energetic value of *Eruca sativa* Mill. leaves. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, vol. 14, no. 4, p. 191–199.
- Pieretti, P.G., Tassone, S., Gai, F. 2012. Nutritive quality and fatty acid profile of Ravizzone (*Brassica campestris* L. var. *Oleifera*) seeds and plant during growth. *Livestock Research for Rural Development*, vol. 24, no. 8, article 142. <http://www.lrrd.org/lrrd24/8/peir24142.htm>

- Rakhmetov, D.B., Blum, Ya. B., Yemets, A.I., Boychuk, Yu.N., Andrushchenko, O.L., Vergun, O.M., Rakhmetova, S.O. 2014. *Camelina sativa* (L.) Crantz – valuable oil plant. *Plant Introduction*, no. 2, p. 50–58.
- Rakhmetov, D.B., Korablova, O.A., Stadnichuk, N.O., Andruschenko, O.L., Kovtun-Vodjanytska, S.M., Revunova, L.G., Rakhmetova, S.O. 2015. *Katalog Roslyn viddilu novykh kultur*. Kijiv: Fitosociocentr, 112 p.
- Sharma, N., Phutela, A., Malhotra, S.P, Singh, R. 2003. Lipid composition of in vitro developing seeds of *Brassica campestris* L. *Biologia Plantarum*, vol. 47, no. 4, p. 581–584.
- Shukla, V.K.S., Dutta, P.C., Artz, W.E. 2002. *Camelina* oil and its unusual cholesterol content. *JAOCS*, vol. 79, no. 10, p. 965–969.
- Qui, D., Morgan, C., Shi, J., Long, Y. et al. 2006. A comparative linkage map of oilseed rape and its use for QTL analysis of seed oil and erucic acid content. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 114, p. 67–80. DOI: [10.1007/s00122-006-0411-2](https://doi.org/10.1007/s00122-006-0411-2)
- Zubr, J. 2003. Qualitative variation of *Camelina sativa* seed from different locations. *Industrial Crops and Products*, vol. 17, p. 161–169. [doi.org/10.1016/S0926-6690\(02\)00091-2](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(02)00091-2)
- Yermakov, A.I., Arasimovich, V.V., Smirnova-Ikonnikova, M.I., Yarosh, N.P. 1972. *The methods of biochemical investigations of plants*. Leningrad: Kolos, 456 p.



PROSPECTS FOR USING TWO ALIEN *SOLIDAGO* L. SPECIES, INVADED THE NATURAL COMMUNITIES OF THE HRON RIVER (SLOVAKIA)

Vinogradova Yulia*, Shelepova Olga

Main Botanical Garden, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ РОДА *SOLIDAGO* L., ВНЕДРЯЮЩИХСЯ В ЕСТЕСТВЕННЫЕ ЦЕНОЗЫ ДОЛИНЫ РЕКИ ГРОН (СЛОВАКИЯ)

Виноградова Юлия, Шелепова Ольга

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

Resettlement of alien species *Solidago canadensis* L. and *Solidago gigantea* Ait. in the valley of the river Hron (Slovakia) has been studied. Since in some European countries these alien species began to be used as medicinal raw materials, the authors estimated their resource potential. The content of essential oil in leaves and inflorescences of both species was determined. It is noted that in the valley of the Hron River from the middle to the mouth, the number of local populations of *Solidago canadensis* gradual decrease. At the same time the number of local populations of *Solidago gigantea* gradual increase, and alone Danube this species grows in mass. In points of joint sprouting, the species differ in relation to the degree of humidification of habitats. A few plants with uncharacteristic edge of the leaf blades are noted. Analysis of the content of essential oil in the generative and vegetative organs of plants showed that the leaves (there is only a vegetative part) of *Solidago gigantea* contains a minimum amount of essential oil – 0.1%. Several large levels of essential oil are found in inflorescences (vegetative and generative organs are present) of plants – 0.3%. A significantly higher content of essential oil is fixed in the leaves of *Solidago canadensis* (up to 0.7%), and the maximum amount of essential oil is produced in the inflorescences – up to 0.9%. Thus, leaves and inflorescences of *Solidago gigantea* contain less essential oil than *Solidago canadensis*. Maximum levels of essential oil was produced by *Solidago canadensis*, growing on fertile, well-moistened floodplain soils.

Keywords: *Solidago canadensis*; *Solidago gigantea*; invasion; prospects for using

Введение

Североамериканские виды Золотарников (*Solidago canadensis* L. и *S. gigantea* Ait.) из секции *Solidago* subsect. *Triplinerviae* входят в первую сотню наиболее агрессивных инвазионных видов Европы. Во вторичном ареале оба таксона представлены несколькими кариотипами с различным уровнем плоидности (Melville and Morton, 2011). Таксоны имеют довольно существенные отличия: у *Solidago canadensis* корневища короткие, побеги опушенные, листовые пластинки по краю крупнозубчатые с оттянутыми зубцами, корзинки мелкие, собранные в раскидистую метелку; у *Solidago gigantea* корневища

*Corresponding author: Yulia Vinogradova, Main Botanical Garden, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation, ✉ gbsad@mail.ru

длинные, побеги практически голые, листовые пластинки у основания цельнокрайние, а в верхней части мелкозубчатые, корзинки крупные, собраны в компактную метелку.

Во время наших предыдущих поездок по Словакии (2010, 2011, 2015) мы отметили, что по Дунаю распространена преимущественно *Solidago gigantea*, единичные экземпляры этого таксона найдены нами по берегу реки Ваги в г. Комарно и в г. Тренчин, а также в г. Банска Штявница. Однако более широко распространена в Словакии *Solidago canadensis* (Končeková et al., 2015). В 2010 – 2015 гг. мы собирали этот таксон в городах Зволена, Банска Штявница, Банска Быстрица и в г. Нитра.

Таким образом, получалось, что в среднем течении рек, впадающих в Дунай, произрастает один вид, а в нижнем – другой. В связи с этим представлялось интересным изучить расселение золотарников в долине крупнейшей в Словакии реки Грон и выяснить, в какой степени представлены здесь оба вида и какие экологические ниши они занимают в местах совместного произрастания.

В любом случае золотарники настолько широко расселились во вторичном ареале, что их можно расценивать как новые ресурсные виды. Во вторичном ареале эти активно натурализующиеся растения имеют большие, чем на родине, размеры и формируют мощные (обычно одновидовые) заросли. По площади занимаемой территории инвазионные виды, особенно в антропогенно нарушенных местообитаниях, практически не отличаются от аборигенных видов, и их ресурсный потенциал достаточно высок (Виноградова и Куклина, 2011). Основная проблема использования этих инвазионных видов состоит в практически полном отсутствии сведений об их биологических особенностях во вторичном ареале, в частности о динамике накопления химических веществ и ее зависимости от местообитания и фазы развития растений. Разрозненные литературные данные по биохимии этих видов в естественном ареале нельзя приложить к особям, произрастающим во вторичном ареале, в связи со значительными микроэволюционными изменениями растений в новых почвенно-климатических условиях.

Сырье *Solidago canadensis* в последнее время начали использовать в европейской фитотерапии как урологическое и противовоспалительное средство. Надземная часть растений содержит ряд действующих веществ: эфирное масло, дубильные вещества, горечи, сапонины и флавоноиды. Сушеные надземные побеги, собранные в фазе начала цветения, согласно Фамакопейной статье РФ на траву золотарника (ФС 42-2777-91) разрешены к применению в качестве сырья для получения сухого экстракта, а экстракт входит в состав ряда лечебных препаратов.

Государственная служба здравоохранения Германии рекомендует *Solidago canadensis* для промываний при воспалении мочевыводящих путей и мочекаменной болезни. Кроме того, *Solidago canadensis* может оказывать стимулирующее воздействие на обмен веществ; эффективен при кожных болезнях, а также при заболеваниях печени.

Флавоноиды, содержащиеся в золотарнике канадском, уменьшают проницаемость капилляров. Отвар надземной части влияет на азотистый обмен и функции почек (Соколова и др., 1981; Рабинович и др., 1987). Настойки из надземной части обладают гипоазотемическим и диуретическим действием (Blum, 1999; Matthew, 2001; Атлас..., 2006). Золотарник канадский содержит ценные аминокислоты, вследствие чего может использоваться в качестве биостимулятора, а также входит в состав тонизирующих напитков (Виноградова и Куклина, 2011).

Экстракт травы *Solidago canadensis* входит в состав препаратов «Марелин» и «Фитолизин», обладающих спазмолитическим, диуретическим и противовоспалительным действием и применяющихся при почечнокаменной и мочекаменной болезнях, при воспалительных заболеваниях мочевыводящих путей, а также в состав препарата «Простанорм», разработанного Всероссийским институтом лекарственных и ароматических

растений (ВИЛАР) для лечения заболеваний предстательной железы у мужчин (Атлас..., 2006; Гос. реестр..., 2006). Однако нельзя исключить возможность, что под названием «золотарник канадский» не используется и близкородственный золотарник гигантский. В связи с этим необходимо провести сравнительный фитохимический анализ обоих видов по набору различных действующих веществ.

Ресурсный потенциал золотарников включает, в том числе, и применение их в качестве медоносных растений. Благодаря обильному цветению с конца августа до начала октября, когда практически все аборигенные виды уже отцветают, они привлекают внимание пчеловодов как раннеосенние медоносы и пергоносы (Botta-Dukat and Dancza, 2008).

Материалы и методы

Обследовали популяции двух видов *Solidago* L. вдоль реки Грон (Hron) от г. Зволен (Zvolen) (среднее течение реки) до ее впадения в Дунай. Материал собирали в г. Zvolen (48.5696; 19.1228), Kalna nad Hronom (48.2050; 18.5242), Zelizovce (48.0549; 18.6673), Pohronsky Ruscov (47.9782; 18.6612), Kamenin (47.9009; 18.6418), Kamenny Most (47.8474; 18.6699), Sturovo (47.8162; 18.7373). В каждом пункте определяли плотность популяций, используя показатели проективного покрытия, и собирали не менее чем по 50 побегов растений в фазе начала цветения. Выявляли среднее значение и амплитуду изменчивости 12 признаков вегетативных органов (форма листьев нижней формации, длина и ширина листьев нижней, средней и верхней формации, число зубчиков по краю листовой пластинки, степень опушения стебля, степень опушения нижней и верхней стороны листьев, длина корневища) и 9 признаков генеративных органов (число веточек метелки, общее число корзинок в метелке, длина веточек метелки, длина «цветоножек» корзинок, длина корзинки, диаметр корзинки, соотношение длины обертки и длины корзинки, степень опушения оси соцветия (рахиса) и опушения обертки). Собирали листья и соцветия обоих видов для определения содержания в них эфирного масла. Эфирные масла получали методом гидродистилляции методом Гинзберга из измельченного воздушно-сухого сырья и последующим измерением его объема, выраженного в процентах по отношению к воздушно-сырому сырью.

Результаты и их обсуждение

В среднем течении Грона в г. Зволен в массе произрастает *Solidago canadensis*. Около уреза воды этот вид является доминантом, и проективное покрытие растений достигает 90 – 95 % при почти полном отсутствии сопутствующих видов. Аналогичную картину мы наблюдали и далее по течению реки вплоть до г. Нова Баня. Затем плотность популяций *Solidago canadensis* снижается: и в Kalna nad Hronom, и в Zelizovce, и в Pohronsky Ruscov мы обнаружили лишь единичные особи (не более 2 экземпляров на площадке 10 × 10 м). В окрестностях Kamenin плотность популяции *Solidago canadensis* составляет 40 %, а вдоль нижнего течения реки от Kamenny Most до Sturovo данный вид нами вовсе не отмечен (рис. 1).

Противоположная картина наблюдается у *Solidago gigantea*: мы не обнаружили этот вид в среднем течении Грона, единичные побеги начинают встречаться в Pohronsky Ruscov, где растения произрастают непосредственно по урезу воды и, по всей вероятности, появляются после весеннего разлива Грона и Дуная. В Kamenin мы наблюдали уже несколько одновидовых клоновых зарослей *Solidago gigantea*, на фоне которых изредка произрастают единичные экземпляры *Solidago canadensis*, а далее, в Kamenny Most и Sturovo, одновидовые заросли *Solidago gigantea* представлены в массе (рис. 1). В пунктах, где оба вида произрастают совместно, *Solidago gigantea* занимает более увлажненные местообитания.

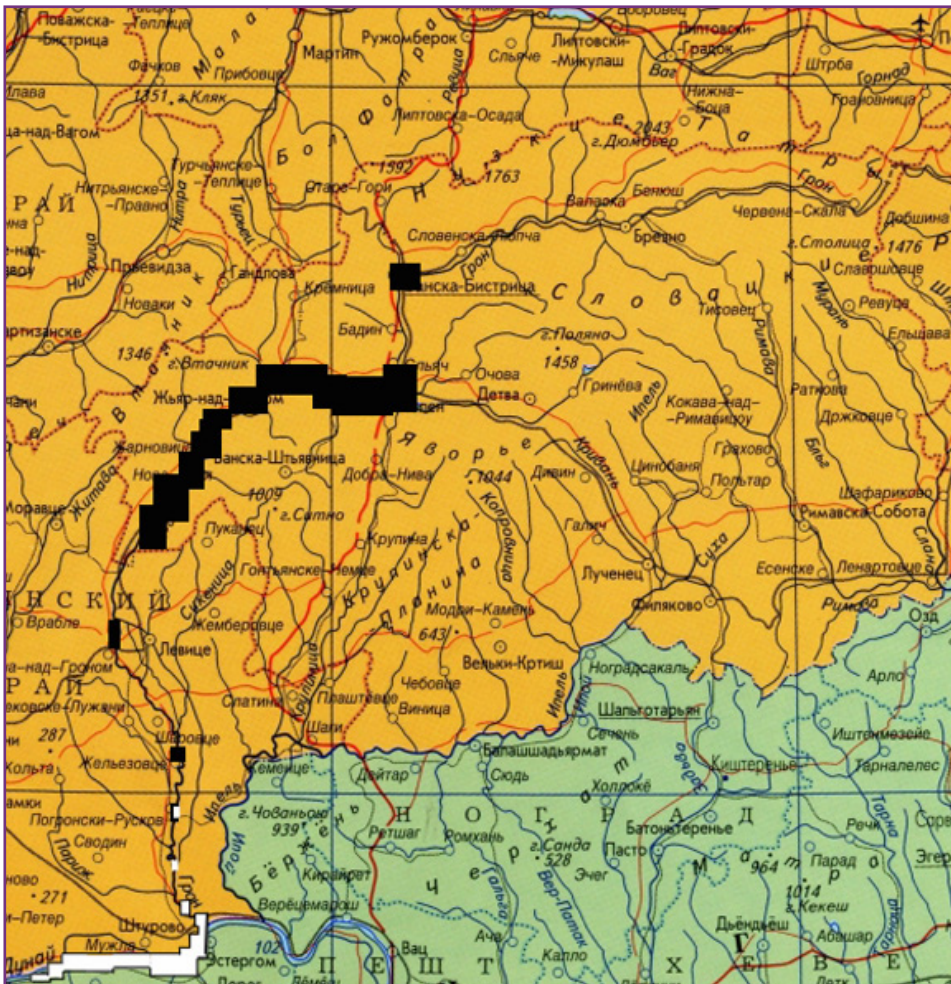


Рисунок 1 Схема расселения *Solidago canadensis* L. (черный цвет) и *Solidago gigantea* Ait. (белый цвет) в долине реки Грон

Figure 1 The scheme of settlements for *Solidago canadensis* L. (black color) and *Solidago gigantea* Ait. (white color) in the valley of the Hron river

В Pohronsky Ruscov и Kamenin мы наблюдали особи с нехарактерными листовыми пластинками (рис. 2). Некоторые растения *S. canadensis* имели опушенные, но цельнокрайные листья практически при полном отсутствии зубчиков по краю. И, наоборот, некоторые клоны *Solidago gigantea* отличались голыми листовыми пластинками с явно выраженными оттянутыми зубцами. Эти образцы собраны для дальнейшего кариологического и генетического анализа.

Анализ содержания эфирного масла в генеративных и вегетативных органах растений показал, что листья (присутствует только вегетативная часть) *Solidago gigantea* содержит минимальное количество эфирного масла – 0,1 % (табл. 1). Несколько большие уровни эфирного масла обнаружены в соцветиях (присутствуют вегетативные и генеративные органы) растений – 0,3 %. Значительно большее содержание эфирного масла зафиксированы в листьях *Solidago canadensis* (до 0,7 %), а в соцветиях продуцируется максимальное количество эфирного масла – до 0,9 %. Полученные результаты хорошо

согласуются с нашими данными по исследованию компонентного состава эфирного масла в растениях *Solidago gigantea* и *Solidago canadensis* популяций Московской области России: в листьях (0,03 %) и соцветиях (0,11 %) *Solidago gigantea* содержалось меньшее количество эфирного масла по сравнению с *Solidago canadensis* (0,10 и 0,40 %, соответственно) (Шелепова и Виноградова, 2017а). При этом следует отметить, что в северных популяциях обоих видов содержание эфирного масла в растениях значительно ниже по сравнению с растениями популяций, произрастающих в долине реки Грон.



Рисунок 2 Листовые пластинки некоторых образцов *Solidago* L.:
a – типичная *Solidago canadensis*; b – *Solidago canadensis* с незубчатыми листьями; c – *Solidago gigantea* с явно зубчатыми листьями; d – типичная *Solidago gigantea*

Figure 2 The leaf blades of some *Solidago* L. specimens
a – typical *Solidago canadensis*; b – *Solidago canadensis* with non-toothed leaves; c – *Solidago gigantea* with obviously toothed leaves; d – a typical *Solidago gigantea*

Таблица 1 Содержание эфирного масла у *Solidago gigantea* Ait. и *Solidago canadensis* L.
Table 1 Essential oil content in *Solidago gigantea* Ait. and *Solidago canadensis* L.

Вид	Место сбора	Орган	Содержание эфирного масла, %
<i>S. gigantea</i>	Sturovo	листья	0,10
		соцветия	0,29
<i>S. canadensis</i>	Kamenin	листья	0,50
		соцветия	0,77
<i>S. canadensis</i>	Kalna nad Hronom	листья	0,48
		соцветия	0,85
<i>S. canadensis</i>	Zvolen	листья	0,69
		соцветия	0,93

Еще одним параметром, влияющим на содержание эфирного масла растений, являются экологические условия их произрастания (Шелепова и Виноградова, 2017б). Так, максимальные уровни эфирного масла в листьях и соцветиях продуцируется в клонных зарослях *Solidago canadensis*, произрастающих на плодородных, хорошо увлажненных пойменных почвах – сбор в г. Zvolen. В растениях *Solidago canadensis*, произрастающих на луговых почвах с пониженной влагообеспеченностью (сборы в Kalna nad Hronom и Kamennin), содержание эфирного масла было несколько меньше (табл. 1).

Выводы

В долине реки Грон от среднего течения к устью наблюдается постепенное снижение численности локальных популяций *Solidago canadensis* с одновременным повышением численности локальных популяций *Solidago gigantea*. В пунктах совместного произрастания виды отличаются по отношению к степени увлажненности местообитаний и образуются формы с нехарактерными для вида признаками края листовых пластинок. Листья и соцветия *Solidago gigantea* содержат меньшее количество эфирного масла по сравнению с *Solidago canadensis*. Максимальные уровни эфирного масла продуцируют растения *Solidago canadensis*, произрастающие на плодородных, хорошо увлажненных пойменных почвах.

Благодарность

Работа выполнена при поддержке Visegrad fund Scholarship No. 51700340.

Литература

- Blum, H. 1999. Golgrute hat wachsende Bedeutung als Phytopharmakon. *Gemuse*, no. 7, p. 431–432.
- Botta-Dukat, Z., Dancza, I. 2008. Giant and canadian goldenrod. The most important invasive plants in Hungary. Ed. by Z. Botta-Ducat, L. Balogh. *Vacratot. Ins. Ecol. and Bot. Hung. Acad. Sci.*, p. 167–177.
- Končėková, L., Zahradníková, E., Pintér, E., Halmová, D. 2015. Assessment of an Impact of Mechanical Regulation on Selected Morphometric and Productive Parameters of Invasive Species *Solidago canadensis* Population in Agricultural Land. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, vol. 61, no. 4, p. 121–128. DOI: <https://doi.org/10.1515/agri-2015-0017>
- Matthew, A. 2001. *Edible & Medicinal Wild Plants of Minnesota & Wisconsin*. OTBH. 426 pp.
- Атлас лекарственных растений России. 2006. Под общ. ред. В.А. Быкова. М., с. 126–127.
- Виноградова, Ю.К., Куклина, А.Г. 2012. Ресурсный потенциал инвазионных видов растений. М. Геос. 185 с.
- Государственный реестр лекарственных средств. 2006. М. Т. 1. 1472 с.
- Рабинович, А.М., Журба, О.В., Терзиев, А.П. 1987. *Лекарственные растения СССР: Культивируемые и дикорастущие растения*. М.: Планета. 206 с.
- Соколова, В.Е., Васильченко, Е.А., Любарцева, Л.А. и др. 1981. К фармакологии лекарственных веществ, влияющих на функции почек. *Актуальные вопросы фармакологии и токсикологии*. Тернополь, с. 120.
- Шелепова, О.В., Виноградова, Ю.К. 2017а. Эфирные масла некоторых видов рода *Solidago* L. и возможность их использования в систематике. Проблемы изучения и сохранения растительного мира Евразии. *Сб. материалов II Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Леонида Владимировича Бардунова (1932 – 2008 гг.)*, с. 45–47.
- Шелепова, О.В., Виноградова, Ю.К. 2017б. Вариации компонентного состава эфирного масла *Solidago canadensis* L. в зависимости от условий произрастания. Экология биосистем: проблемы изучения, индикации и прогнозирования. *Сб. материалов III Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Астраханского государственного университета*, с. 243–246.



GENETIC VARIATION OF MAIZE GENOTYPES (*ZEA MAYS* L.) DETECTED USING SDS-PAGE

Vivodík Martin*, Petrovičová Lenka, Balážová Želmíra, Gálová Zdenka

Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Department of Biochemistry and Biotechnology

Received 17. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 30. 11. 2017

In the present study 20 old genotypes of maize from Hungary, Union of Soviet Socialist Republics, Poland, Czech Republic and Slovak Republic were evaluated for the total seed storage proteins using sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) through vertical slab unit. The number of total scorable protein bands was twentythree as a result of SDS-PAGE technique but those that were not consistent in reproducibility and showed occasional variation in sharpness and density were not considered. Out of twenty three polypeptide bands, 6 (31%) were commonly present in all accessions and considered as monomorphic, while 17 (65%) showed variations and considered as polymorphic. On the basis of banding profiles of proteins of different kDa, gel was divided into zones A, B and C. The major protein bands were lied in zones A and B, while minor bands were present in zones C. In zone A out of 10 protein bands, 1 were monomorphic and 9 were polymorphic. In zone B out of 8 protein bands, 3 was monomorphic and 5 was polymorphic and in zone C out of 5 protein bands, 2 were monomorphic whereas 3 polymorphic. The dendrogram tree demonstrated the relationship among the twenty registered old maize genotypes according to the similarity index, using UPGMA cluster analysis. The dendrogram was divided into three main clusters. The first one contained one genotype from maize, the second cluster contained one genotype of maize and third cluster contained 18 genotypes of maize. Similarly the present study of genetic variability in the seed storage polypeptide determined by SDS-PAGE technique proved that it is fruitful to identify genetic diversity among accessions of maize.

Keywords: maize; dendrogram; SDS-PAGE; genetic diversity

Introduction

Maize (*Zea mays* L.) is an annual, cross-pollinated by wind and the only monoecious among cereal crops which has male and female inflorescences on separate branches of the same plant. It belongs to grass family Poaceae (Gramineae) which is leading in importance in the order *Poales* (Bremer et al., 2003). This family contributes to the world economy, food and industry through valuable crops i.e. wheat, rice and maize (Mabberley, 2008). Being most domesticated with controversy in origin and evolution, there is one school of thoughts that maize is the nearest descendant of Mexican teosinte (Dowswell et al., 1996). There is no doubt that human beings directly or indirectly depend on plants for various purposes for which they domesticated these with the passage of time and flourished with spreading communities, undergone through evolution, passing through various cultivating methodologies throughout the world (Larik, 1994).

*Corresponding author: Martin Vivodík, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Biochemistry and Biotechnology,
✉ vivodikmartin@gmail.com

Maize seed consists of two types of protein i.e., zein and non-zein protein. The term zein is used for prolamins in maize which is alcohol soluble protein and could be extracted with ethanol (Lawton, 2006). Zein is major seed storage protein of maize (Freitas et al., 2005) and consists of one major and three minor classes and these four classes constitute approximately 50–70% of maize endosperm (Vasal, 1999).

The non-zein protein consists of globulins (3%), glutelins (34%) and albumins (3%). Zein is specific to maize endosperm (Prasanna et al., 2001) and not present in any other part of plant.

Proteins are primary gene products of active structural genes; their size and amino acids sequence are the direct results of nucleotide sequences of the genes; hence, any observed variation in protein systems induced by any mutagen is considered a mirror for genetic variations (Hamoud et al., 2005). Variation in the DNA coding sequences frequently causes variation in the primary conformation of the proteins. Determination of protein molecular weight (MW) via polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) is a universally used method in biomedical research; (Ranjan et al., 2013) concluded that electrophoresis (SDS-PAGE) of proteins can be economically used to assess genetic variation and relation in germplasm and also to differentiate mutants from their parent genotypes. Some studies used SDS-PAGE for detection of alterations in protein profiles occurring during exposure to electric field (Hanafy et al., 2006; Dymek et al., 2012). So far, several investigations on the discrimination between crop genotypes using SDS-PAGE have been carried out by Yoon et al. (2010), Osman et al. (2013), Iqbal et al. (2014), Iqbal et al. (2014), Khan et al., (2014), AL-Huqail et al. (2015), Gregova et al. (2015), Kačmárová et al. (2016), Socha et al. (2016).

The objectives were to find out the level of genetic variability present in 20 maize germplasm by using the electrophoretic profiles of total seed proteins with different molecular weights through SDS-PAGE.

Materials and methodology

Maize genotypes (20) were obtained from the Gene Bank VURV Praha-Ruzine (Czech Republic) and from the GeneBank in Piešťany, the Slovak Republic. SDS-PAGE was carried out according to the standard reference ISTA method (Wrightley, 1992). Storage proteins were extracted from individually ground seeds using extracting using a buffer composed of 6.25 mL Tris (1.0 mol/L, pH = 6.8), 10 mL glycerol, 12.05 mL H₂O and 2.0 g SDS, diluted with mercaptoethanol and H₂O in a 17 : 3 : 40 (v/v) proportion. The buffer was added to flour in a 1 : 25 (w/v) proportion. Extraction was performed at room temperature overnight and heating in boiled water for 5 minutes, centrifugation at 5,000 × g for 5 min. 10 µL of extracts were applied to the sample wells. The gel (1.0 mm thick) consists of two parts: stacking gel (3.5% acrylamide, pH = 6.8 acrylamide) and resolution gel (10% acrylamide, pH = 6.8). Staining of gels was performed in a solution of Coomassie Brilliant Blue R250 dissolved in acetic acid and methanol solution. Gel was scanned with densitometer GS 800 (Bio-Rad) and evaluated with Quantity One-1D Analysis Software.

Results and discussion

The number of total scorable protein bands was twentythree as a result of SDS-PAGE technique but those that were not consistent in reproducibility and showed occasional variation in sharpness and density were not considered. Based on these bands twenty accessions of maize were screened. Out of twentythree polypeptide bands, 6 (31%) were commonly present in all

accessions and considered as monomorphic, while 17 (65%) showed variations and considered as polymorphic. The size of the protein bands obtained through SDS-PAGE ranged from 20 to 140 kDa.

On the basis of banding profiles of proteins of different kDa, gel was divided into zones A, B and C. The major protein bands were lied in zones A and B, while minor bands were present in zones C. It was noted that different accessions of maize showed more diversity in seed storage proteins in minor bands in comparison to major bands. In zone A out of 10 protein bands, 1 were monomorphic and 9 were polymorphic. In zone B out of 8 protein bands, 3 was monomorphic and 5 was polymorphic and in zone C out of 5 protein bands, 2 were monomorphic whereas 3 polymorphic. By considering these facts zone A and B were more polymorphic.

The dendrogram tree (Figure 1) demonstrated the relationship among the twenty registered old maize genotypes according to the similarity index, using UPGMA cluster analysis. The dendrogram was divided into three main clusters. The first one contained one genotype of maize (Mikulicka), second cluster contained one genotype of maize (Celchovicka ADQ). Third cluster contained 18 maize genotypes and was divided into subcluster 3a, 3b and 3c. Subcluster 3a contained one Czech genotype Manalta and subcluster 3b was divided into subcluster 3ba and 3bb. Subcluster 3c contained 2 genotypes Zlota gorecka and Dnepropetrovskaja (Figure 1).

Similarly the present study of genetic variability in the seed storage polypeptide determined by SDS-PAGE technique proved that it is fruitful to identify genetic diversity among accessions of maize.

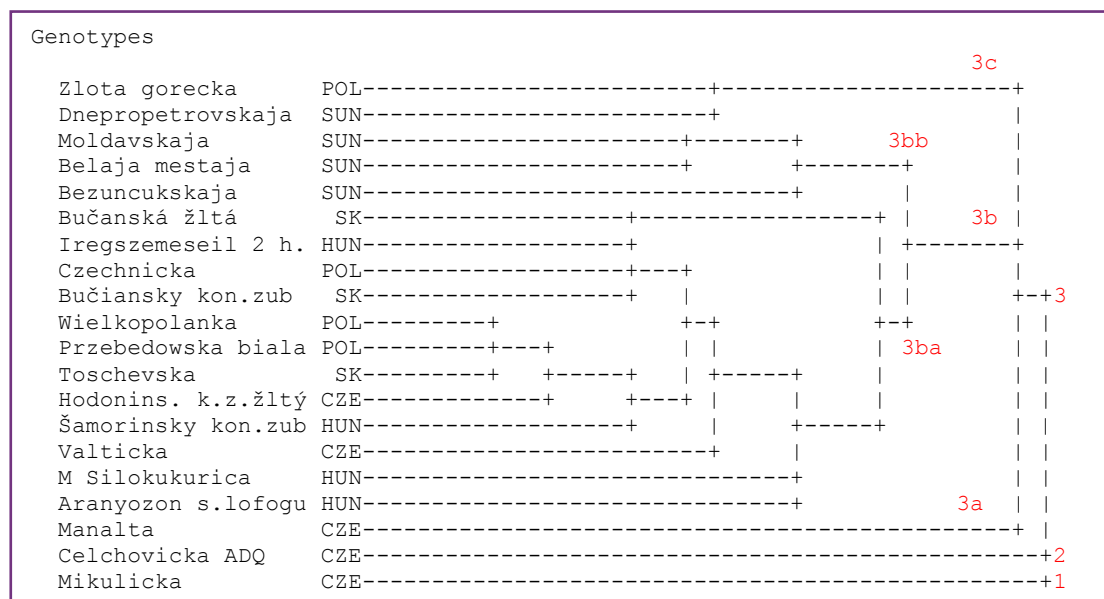


Figure 1 Dendrogram of 20 maize genotypes prepared based on SDS-PAGE
CZE – Czech Republic, HUN – Hungary, POL – Poland, SUN – Union of Soviet Socialist Republics, SK – Slovak Republic

Conclusions

SDS-PAGE techniques may provide useful information on the level of polymorphism and diversity in old maize genotypes. Twenty maize genotypes originated from the Gene Bank VURV Praha-Ruzine (Czech Republic) and from the Gene Bank in Piešťany, the Slovak Republic were very closely related. The dendrogram was divided into three main clusters. The first one contained one genotype of maize (Mikulicka), second cluster contained the one genotype of maize (Celchovicka ADQ) and third contained 18 maize genotypes. Result from this study show that protein markers are powerful and efficient in characterising and identifying of old maize genotypes in addition to their usefulness in phylogenetic studies.

Acknowledgments

This work was funded by European Community under project ITMS 26220220180: Building Research Centre “AgroBioTech” (50%) and KEGA project No 021SPU-4/2015 (50%).

References

- AL-Huqail, A.A., Abdelhaliem, E. 2015. Evaluation of Genetic Variations in maize Seedlings Exposed to Electric Field Based on Protein and DNA Markers. *BioMed Research International*, vol. 2015, p. 1–15. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/874906>
- Bremer, K., Bremer, B., Thulin, M. 2003. Introduction of Phylogeny and Systematic of Flowering Plants. *Symbolae Botanicae Upsalienses*, vol. 33, no. 2, p. 64–73.
- Dymek, K., Dejmek, P., Panarese, V., Vincente, A.A., Wadsö, L., Finnie, C., Galindo, F.G. 2012. Effect of pulsed electric field on the germination of barley seeds. *LWT-Food Science and Technology*, vol. 47, no. 1, p. 161–166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.019>
- Dowswell, C.R., Paliwal, R.L., Cantrell, R.P. 1996. *Maize in the Third World*. Michigan : University of Michigan. ISBN 978-0813389639.
- Freitas, I.R.A., Gananca, F., Santos, T.M., Carvalho, M.A.A., Motto, M., Vieira, M.C. 2005. Evaluation of maize germplasm based on zein polymorphism from the archipelago of Madeira. *Maydica*, vol. 50, p. 105–112.
- Gregova, E., Šliková, S., Hozlár, P. 2015. Seed protein electrophoresis for identification of oat registered cultivars. *Potravinárstvo*, vol. 9, no. 1, p. 411–416. <http://dx.doi.org/10.5219/513>
- Hamoud, M.A., El-Shanshory, A.R., Al-Sodany, Y.M., El-Karim, M.S.G. 2005. Genetic diversity among Ipomoea carnea jacq. Populations from different habitats types in Nile-Delta region of Egypt. *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, vol. 1, p. 1–9.
- Hanafy, M.S., Mohamed, H.A., Abd El-Hady, E.A. 2006. Effect of low frequency electric field on growth characteristics and protein molecular structure of wheat plant. *Romanian Journal of Biophysics*, vol. 16, no. 4, p. 253–271.
- Iqbal, J., Shinwari, Z.K., Rabbani, M.A., Khan, S.A. 2014. Genetic variability assessment of maize (*Zea mays* L.) germplasm based on total seed storage proteins banding pattern using SDS-PAGE. *European academic research*, vol. 2, no. 2, p. 2144–2160.
- Iqbal, J., Shinwari, Z.K., Rabbani, M.A. 2014. Investigation of total seed storage proteins of Pakistani and Japanese maize (*Zea mays* L.) through SDS-PAGE markers. *Pakistan Journal of Botany*, vol. 46, no. 3, p. 817–822.
- Kačmárová, K., Lavová, B., Socha, P., Urmínská, D. 2016. Characterization of protein fractions and antioxidant activity of Chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Potravinárstvo*, vol. 10, no. 1, p. 78–82. <http://dx.doi.org/10.5219/563>
- Khan, A.H., Khan, N., Minhas, N.M., Ghafoor, A., Rabbani, M.A. 2014. Diversity in seed storage proteins in maize genetic resources: I. variation in alcohol soluble zein protein fraction. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, vol. 16, p. 1015–1018.

- Larik, A.S. 1994. Genetic resources and their conservation in crop plants. *Plant breeding*. (Eds.) National Book Foundation, Islamabad, p. 235–254.
- Lawton, J.W. 2006. Isolation of zein using 100% ethanol. *Cereal Chemistry*, vol. 83, no. 5, p. 565–568. <http://dx.doi.org/10.1094/CC-83-0565>
- Mabberely, D. J. 2008. *Mabberleys Plant-Book: A portable dictionary of plants, their classifications, and uses*. 3rd edition. Cambridge: Cambridge Univ. Press, p. 1–1021.
- Osman, G., Munshi, A., Alt, F. and Mutawie, H. 2013. Genetic variation and relationships of *Zea mays* and *Sorghum* species using RAPD-PCR and SDS-PAGE of seed proteins. *African Journal of Biotechnology*, vol. 12, no. 27, p. 4269–4276. <http://dx.doi.org/10.5897/ajb12.2644>
- Prasanna, B., Vasal, S., Kashun, B., Singh, N.N. 2001. Quality protein maize. *Current Science*, vol. 81, no. 10, p. 1308–1319.
- Ranjan, S., Poosapati, A., Vardhan, H. et al., 2013. Seed storage protein profile of few leguminous grains grown in india using SDS-PAGE. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, vol. 4, no. 4, p. 505–510.
- Socha, P., Tomka, M., Kačmárová, K., Lavová, B., Ivanišová, E., Mickowska, B., Urminská, D. 2016. Comparable efficiency of different extraction protocols for wheat and rye prolamins. *Potravinárstvo*, vol. 10, no. 1, p. 139–144. <http://dx.doi.org/10.5219/540>
- Vasal, S.K. 1999. *Quality protein maize story. Proceedings of workshop on improving human nutrition through agriculture: the role of international agricultural research*, IRRI, Los Banos, Philippines, p. 1–16.
- Yoon, J.W., Jung, J.Y., Chung, H.J., Kim, M.R., Kim, Ch.W., Lim, S.T. 2010. Identification of botanical origin of starches by SDS-PAGE analysis of starch granule-associated proteins. *Journal of Cereal Science*, vol. 52, no. 2, p. 321–326. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2010.06.015>
- Wrigley, C.W. 1992. *Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins*. Heidelberg: Springer – Verlag, p. 17–41. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-01639-8_2



CHARACTERIZATION OF SLOVAK CASTOR GENOTYPES (*RICINUS COMMUNIS* L.) USING MOLECULAR MARKERS

Vivodík Martin*, Petrovičová Lenka, Balážová Želmíra, Gálová Zdenka

Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Department of Biochemistry and Biotechnology

Received 17. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 30. 11. 2017

The aim of this work was to detect genetic variability among the set of 30 castor genotypes using 6 RAPD markers. Amplification of genomic DNA of 30 genotypes, using RAPD analysis, yielded 42 fragments, with an average of 7.00 polymorphic fragments per primer. Number of amplified fragments ranged from 5 to 9, with the size of amplicons ranging from 100 to 1,200 bp. The polymorphic information content (PIC) value ranged from 0.662 to 0.855 with an average of 0.780 and diversity index (DI) value ranged from 0.669 to 0.857 with an average of 0.785. The dendrogram based on hierarchical cluster analysis using UPGMA algorithm was prepared. Knowledge on the genetic diversity of castor can be used for future breeding programs for increased oil production to meet the ever increasing demand of castor oil for industrial uses as well as for biodiesel production.

Keywords: castor; genetic diversity; molecular markers; RAPD technique

Introduction

Castor (*Ricinus communis* L., $2n = 2x = 20$, Euphorbiaceae Juss.), is industrially important non-edible oilseed crop widely cultivated in the arid and semi-arid regions of the world (Govaerts et al., 2000). The seeds of castor contain more than 45% oil and this oil is rich (80–90%) in an unusual hydroxyl fatty acid, ricinoleic acid (Jeong and Park, 2009). Castor oil is the only vegetable oil soluble in alcohol, presenting high viscosity, and requiring less heating than others oils during the production of biodiesel (Jeong and Park, 2009). Due to its unique chemical and physical properties, the oil from castor seed is used as raw material for numerous and varied industrial applications, such as: manufacture of polymers, coatings, lubricants for aircrafts, cosmetics, etc, and for the production of biodiesel (Jeong and Park, 2009). With more than 95% of the world's castor production concentrated in limited parts of India, China, and Brazil (Sailaja et al., 2008), and because of the ever increasing world-wide demand of castor for industrial use, there is a pressing need to increase the hectareage and productivity of castor. Castor is a cross pollinated crop and is usually cultivated as a hybrid in India, as hybrids give significantly greater yields than pure lines or varieties (Birchler et al., 2003; Reif et al., 2007). Higher magnitude of heterosis and genetically superior hybrids can be obtained by combining diverse parents in hybrid development. Conventional diversity analysis methods, in the field, are time consuming, laborious, resource intensive and drastically affected by environmental factors, therefore, a technique that is

*Corresponding author: Martin Vivodík, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Biochemistry and Biotechnology,
✉ vivodikmartin@gmail.com

rapid and not affected by environment is needed for assessment of genetic diversity and selection of parental lines for use in hybrid development programmes (Santalla et al., 1998).

Genetic diversity assessment prior to developing hybrids can aid in better exploitation of heterosis. Assessment of genetic variation using molecular markers appears to be an attractive alternative to the conventional diversity analyses and can also aid in management and conservation of biodiversity. A large number of polymorphic markers are required to measure genetic relationships and genetic diversity in a reliable manner (Santalla et al., 1998).

The aim of this study was to detect genetic variability among the set of 30 castor genotypes using 6 RAPD markers.

Materials and methodology

Plant material and DNA extraction

Ricin lines (30) were obtained from the breeding station Zeainvent Trnava Ltd. (Slovakia). DNA of 30 genotypes of castor was extracted from 10 day old leaves using the Gene JET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit.

RAPD amplification

Amplification of RAPD fragments was performed according to Gajeraa et al. (2010) (Table 1) using decamer arbitrary primers (Operon technologies Inc, USA; SIGMA-D, USA). Amplifications were performed in a 25 µl reaction volume containing 5 µl DNA (100 ng), 12.5 µl Master Mix (Genei, Bangalore, India), and 1 µl of 10 pmol of primer. Amplification was performed in a programmed thermocycler (Biometra, Germany) with initial denaturation at 94 °C for 5 min, 42 cycles of denaturation at 94 °C for 1 min, primer annealing at 38 °C for 1 min, extension at 72 °C for 1 min, and final extension at 72 °C for 5 min. Amplified products were separated in 1.5% agarose in 1×TBE buffer. The gels were stained with ethidium bromide and documented using gel documentation system Grab-It 1D pre Windows.

Table 1 List of RAPD primers

RAPD primers	Primer sequence (5´-3´)	Molecular weight range, bp
OPA-02	TGCCGAGCTG	400–2,800
OPB-08	GTCCACACGG	530–1,550
OPD-07	TTGGCACGGG	360–1,440
OPE-07	AGATGCAGCC	300–1,940
SIGMA-D-01	AAACGCCGCC	280–1,350
SIGMA-D-P	TGGACCGGTG	300–3,000

Data analysis

The RAPD bands were scored as present (1) or absent (0), each of which was treated as an independent character regardless of its intensity. A dendrogram based on hierarchical cluster analysis using the unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) with the SPSS professional statistics version 17 software package was constructed. For the assessment of the polymorphism between genotypes ricin and usability RAPD markers in their differentiation we used diversity index (DI), the probability of identity (PI) and polymorphic information content (PIC).

Results and discussion

PCR amplifications using 6 RAPD primers produced 42 DNA fragments that could be scored in all genotypes. The selected primers amplified DNA fragments across the 30 genotypes studied, with the number of amplified fragments varying from 5 (OPE-07) to 9 (OPD-07), and the amplicon size varying from 100 to 1,200 bp. Of the 42 amplified bands, all 42 were polymorphic, with an average of 7.00 polymorphic bands per primer. The polymorphisc information content (PIC) value varied from 0.662 (OPE-07) to 0.855 (OPD-07), with an average of 0.780 and index diversity (DI) value varied from 0.669 (OPE-07) to 0.857 (OPD-07) with an average of 0.785 (Table 2).

Table 2 The statistical characteristics of the RAPD markers used in castor

Primers	Number of alleles	DI	PIC	PI
OPA-02	8	0.778	0.776	0.016
OPB-08	7	0.805	0.794	0.010
OPD-07	9	0.857	0.855	0.009
OPE-07	5	0.669	0.662	0.071
SIGMA-D-01	6	0.817	0.811	0.019
SIGMA-D-P	7	0.785	0.780	0.025
Average	7.00	0.785	0.780	0.025

DI – diversity index; PIC – polymorphic information content; PI – probability of identity

The dendrogram based on UPGMA analysis separated 30 genotypes into two groups. One ricin genotype RM-62 (cluster I) separated from others. Second group of 29 ricin genotypes (II) was divided into 3 main clusters (1, 2, 3). Cluster 1 contained 11 ricin genotypes, cluster 2 contained 4 ricin genotypes (RM-61, RM-63, RM-71 and RM-57) and cluster 3 contained 14 ricin genotypes. We could not distinguish two genotypes, RM-65 and RM-66, which can be caused due the same genetic background (Figure 1).

Gajeraa et al. (2010) used 30 RAPD polymorphic primers for the analysis of 22 castor bean genotypes. RAPD analysis yielded 256 fragments, of which 205 were polymorphic, with an average of 6.83 polymorphic fragments per primer. Genetic diversity of 37 ricin genotypes grown in China using RAPD markers was studied by Li et al. (2012). Using RAPD markers, together they detected 122 alleles, of which 71 were polymorphic, representing the percentage of polymorphism alleles 58.20%. In the study Machado et al. (2013) used 58 RAPD primers for the analysis of 15 castor bean cultivars. The genetic dissimilarity between cultivars was calculated by Jaccard's index, using the unweighted pairgroup method with arithmetic mean (UPGMA). Pecina-Quintero et al. (2013) study the diversity and genetic relationships among accessions of *R. communis* from the state of Chiapas, México using AFLP (amplified fragment length polymorphism) and SSR (simple sequence repeat) markers. Tomar Rukam et al. (2014) investigated the fingerprinting and phenotyping of 25 castor genotypes available in Gujarat and other States of India using RAPD and ISSR markers. One hundred thirty decamer RAPD primers from Operon series (OPA to OPZ – five from each series) were screened with the DNA of the 2 castor genotypes. Some researchers have considered RAPD markers to represent segments of DNA with noncoding regions and to be selectively neutral (Lander Gott et al., 2001), and some studies have shown that RAPD markers are

distributed throughout the genome and may be associated with functionally important loci (Penner, 1996).

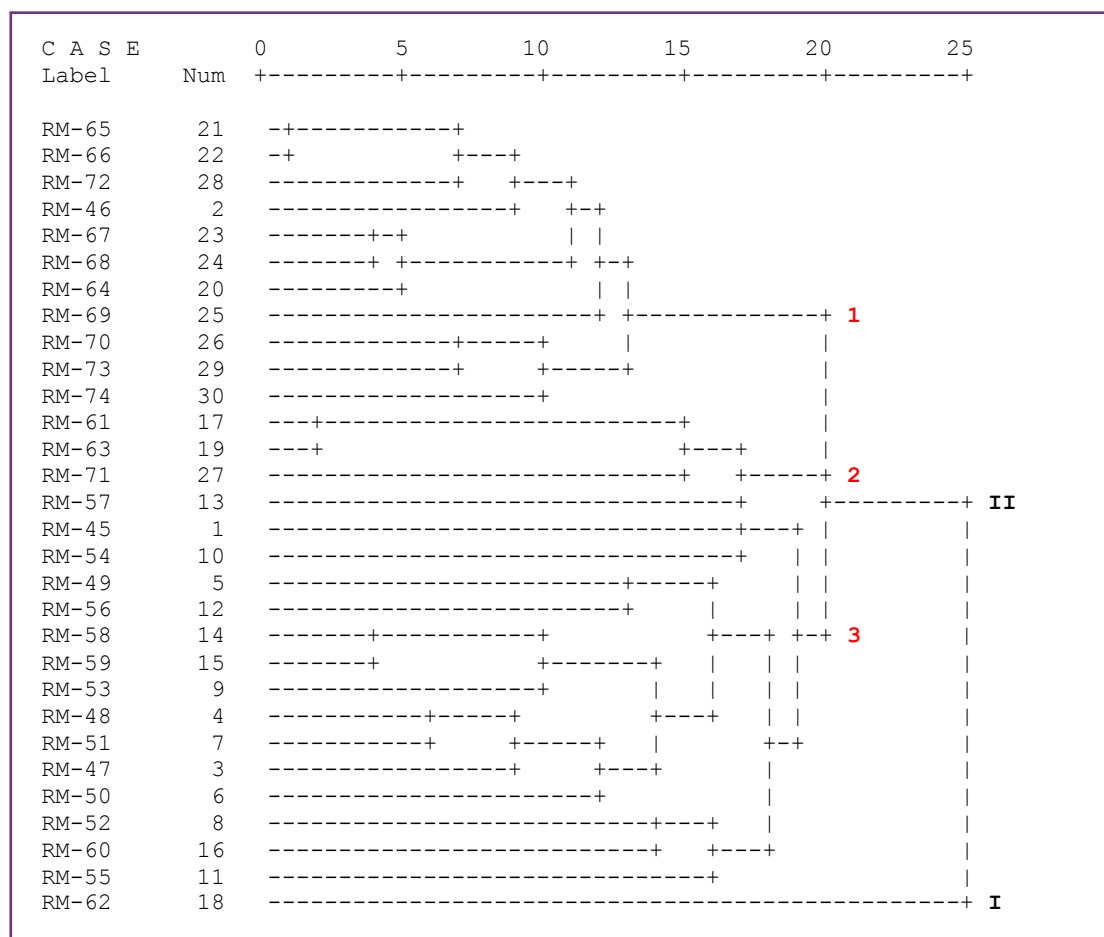


Figure 1 Dendrogram of 30 castor genotypes prepared based on 6 RAPD markers

Conclusions

The analysis showed that the RAPD markers are very effective molecular markers for the assessment of the genetic diversity in castor bean. The dendrogram prepared based on UPGMA algorithm separated unique genotype RM-62 from others and rest (29) of ricin genotypes divided into three main groups. Using 6 RAPD markers only two castor bean genotypes have not been distinguished. Our analysis proved utilization of RAPD markers for differentiation of used set of castor genotypes. For better discrimination of the analyzed ricin genotypes, it is necessary to use a higher number of RAPD markers.

Acknowledgments

This work was funded by European Community under project ITMS 26220220180: Building Research Centre "AgroBioTech" (50%) and KEGA project No 021SPU-4/2015 (50%).

References

- Birchler, J.A., Auger, D.L., Riddle, N.C. 2003. Search of the molecular basis of heterosis. *Plant Cell*, vol. 15, p. 2236–2239. DOI: [10.1105/tpc.151030](https://doi.org/10.1105/tpc.151030)
- Gajeraa, B.B., Kumara, N., Singha, A.S., Punvara, B.S., Ravikirana, R., Subhasha, N., Jadejab, G.C. 2010. Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus communis* L.) using RAPD and ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, vol. 32, p. 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.06.021>
- Govaerts, R., Frodin, D.G., Radcliffe-Smith, A. 2000. *World Checklist and Bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae)*. Trowbridge, Wiltshire. ISBN 9781900347839
- Jeong, G.T., Park, D.H. 2009. Optimization of biodiesel production from castor oil using response surface methodology. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 156, p. 431–441. DOI: [10.1007/s12010-008-8468-9](https://doi.org/10.1007/s12010-008-8468-9)
- Landergott, U., Holderegger, R., Kozłowski, G., Schneller, J.J. 2001. Historical bottlenecks decrease genetic diversity in natural populations of *Dryopteris cristata*. *Heredity*, vol. 87, p. 344–355. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11737281>
- Li, F.J., Wang, C.L., He, D., Liu, Z.Q., Chen, M.H., Wang, Y.R., Li, F.J., Yang, Z.H., Chen, G. 2012. Evaluation of genetic diversity in Castor (*Ricinus communis* L.) using RAPD markers. *Advanced materials research*, vol. 343–344, p. 981–987. DOI: [10.4028/www.scientific.net/AMR.343-344.981](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.343-344.981)
- Machado, E.L., Silva, S.A., Santos, A.S., Bastos, L.A., Pestana, C.N., Dos Santos K.S., Ferreira, C.F., Diamantino, M.S.A.S. 2013. Genetic dissimilarity between castor bean cultivars using RAPD markers. *Pesq. agropec. bras.*, vol. 48, no. 3, p. 342–345. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000300014>
- Pecina-Quintero, V., Anaya-López, J.L., Núñez-Colina, C.A., Zamarripa-Colmenero, A., Montes-García, N., Solís-Bonilla, J.L., Aguilar-Rangel, M.R. 2013. Assessing the genetic diversity of castor bean from Chiapas, México using SSR and AFLP markers. *Industrial Crops and Product.*, vol. 41, p. 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.033>
- Penner, G.A. 1996. *RAPD analysis of plant genomes*. Methods of Genome Analysis in Plants. CRC Boca Raton, p. 251–268.
- Reif, J.C., Gumpert, F.M., Fischer, S., Melchinger, A.E. 2007. Impact of interpopulation divergence on additive and dominance variance in hybrid populations. *Genetics*, vol. 176, p. 1931–1934. DOI: [10.1534/genetics.107.074146](https://doi.org/10.1534/genetics.107.074146)
- Sailaja, M., Tarakeswari, M., Sujatha, M. 2008. Stable genetic transformation of castor (*Ricinus communis* L.) via particle gun-mediated gene transfer using embryo axes from mature seeds. *Plant Cell Rep.*, vol. 27, p. 1509–1519. DOI: [10.1007/s00299-008-0580-3](https://doi.org/10.1007/s00299-008-0580-3)
- Santalla, M., Power, J.B., Davey, M.R. 1998. Genetic diversity in mung bean germplasm revealed by RAPD markers. *Plant Breed.*, vol. 117, p. 473–478. DOI: [10.1111/j.1439-0523.1998.tb01976.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1998.tb01976.x)
- Tomar Rukam, S., Parakhia, M.V., Kavani, R.H., Dobariya, K.L., Thakkar, J.R., Rathod, V.M., Dhingani, R.M. And Golakiya, B.A. 2014. Characterization of castor (*Ricinus communis* L.) genotypes using different markers. *Res. J. Biotech*, vol. 9, no. 2, p. 6–13. <file:///C:/Users/Acer/AppData/Local/Temp/castor.pdf>



ASSESSMENT OF RAPD POLYMORPHISM IN MAIZE (*ZEA MAYS* L.) GENOTYPES

Vivodík Martin*, Petrovičová Lenka, Balážová Želmíra, Gálová Zdenka

Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Department of Biochemistry and Biotechnology

Received 17. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 30. 11. 2017

Maize or corn is a plant belonging to the family Poaceae and is one of the most important cereal crops worldwide as human nutrient, a basic element of animal feed and raw material for manufacture of many industrial products. Maize is the oldest plant to have a fully established gene map with the basic genome consisting of 10 chromosomes and is an excellent plant for the detection of genotoxins, mutagenic and clastogenic substances in the environment. In the present study, random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used to assess genetic diversity of the maize genotypes. Five arbitrary random primers were used to determine RAPD polymorphism in the set of twenty maize genotypes. Amplification of genomic DNA of 20 genotypes, using RAPD analysis, yielded 35 fragments, with an average of 7.00 polymorphic fragments per primer. Number of amplified fragments ranged from 5 (OPD-07) to 8 (OPF-14 and SIGMA-D-01), with the size of amplicons ranging from 150 to 2500 bp. The polymorphic information content (PIC) value ranged from 0.723 (OPD-07) to 0.862 (OPF-14), with an average of 0.799 and index diversity (DI) value varied from 0.725 (OPD-07) to 0.865 (OPF-14) with an average of 0.805. The dendrogram based on hierarchical cluster analysis using UPGMA algorithm was prepared. First cluster contained two maize genotypes Bučiansky Kónský Zub (SK) and Moldavská (SUN). Cluster two was divided into two main cluster 2a and 2b. Main cluster 2a contained genotype Dnepropetrovská (SUN) and main cluster 2b was divided into two subclusters 2ba and 2bb. RAPD markers are useful in the assessment of maize diversity, the detection of duplicate sample in genotypes collection, and the selection of a core collection to enhance the efficiency of genotypes management for use in maize breeding and conservation.

Keywords: maize; genetic diversity; Random amplified polymorphic DNA (RAPD); dendrogram; PIC

Introduction

Maize (*Zea mays* L.) is one of the world's most important crop plants after wheat and rice, which provides staple food to large number of human population in the world (Ahmad et al., 2011). It belongs to the family Poaceae. In developing countries maize is a major source of income to many farmers (Tagne et al., 2008). Maize has greater nutritional value as it contains about 72% starch, 10% proteins, 8.5% fiber, 4.8% oil, 3% sugar and 1.7% ash. It is not only an important human nutrient, but also a basic element of animal feed and raw material for manufacture of many industrial products (Farhad et al., 2009). In addition to its agronomic importance, maize has been a keystone model organism for basic research for nearly a century. It is the most thoroughly researched genetic

*Corresponding author: Martin Vivodík, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Biochemistry and Biotechnology,
✉ vivodikmartin@gmail.com

system. Several attributes of the maize plant, including a vast collection of mutant stocks, large heterochromatic chromosomes, extensive nucleotide diversity, and genic colinearity within related grasses, have positioned this species as a centerpiece for genetic, cytogenetic, and genomic research (Yim et al., 2007). As a model organism, it is the subject of such far-ranging biological investigations as plant domestication, genome evolution, epigenetics, heterosis, quantitative inheritance, and comparative genomics (Strable et al., 2009).

The genetic diversity observed across landraces is the most important part of maize biodiversity, and local races represent an important fraction of the genetic variability exhibited by this genus. However, few agronomic and genetic data exist for such collections, and this scarcity has limited the use, management, and conservation of this germplasm. In addition, a few improved genotypes with narrower genetic variability are quickly replacing maize landraces (Pollack, 2003).

With the beginning of studies that led to the development of polymerase chain reaction (PCR) technology (Mullis et al., 1987), there were amazing advances in the refinement of techniques to obtain specific or non-specific DNA fragments, relevant mainly to research in genetic diversity. The following techniques are those mostly used and are listed in chronological order: simple sequence repeats or just microsatellites (SSR) (Tautz, 1989), randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) (Williams et al., 1990) or arbitrarily primed PCR (AP-PCR) (Welsh et al., 1990), inter-simple sequence repeats (ISSR) (Zietkiewicz et al., 1994), amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Vos et al., 1995), single nucleotide polymorphisms (SNPs) (Chen et al., 2003) and, more recently, diversity array technology (DarT) (Kilian et al., 2005; Schulman, 2007). RAPD technique requires only small amounts of DNA sample without involving radioactive labels and are simpler as well as faster. Random amplified polymorphic DNA has proven to be quite efficient in detecting genetic variations and used for diversity assessment and for identifying germplasm in a number of plant species (Gajeraa et al., 2010; Srivashtav et al., 2013; Žiarovská et al., 2013; Omalsaad et al., 2014; Vivodík et al., 2014).

The aim of this study was to detect genetic variability among the set of 20 old maize genotypes using 5 RAPD markers.

Materials and methodology

Maize lines (20) were obtained from the Gene Bank VURV Praha-Ruzine (Czech Republic) and from the Gene Bank in Piešťany (Slovakia). Maize genotypes were grown in a growth chamber on humus soil. Genomic dna was isolated from the 14 days leaves with GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit according to the manufacturer's instructions. The maize DNA was stored in a freezer at -70 °C.

Amplification of RAPD fragments was performed according to Gajeraa et al. (2010) using decamer arbitrary primers (Operon technologies Inc, USA; SIGMA-D, USA). Polymerase chain reactions (PCR) were carried out in 25 µl of following mixture: 10.25 µl deionized water, 12.5 µl Master Mix (Genei, Bangalore, India), 1.25 µl of genomic DNA, 1 µl of 10 pmol of primer. Amplification was performed in a programmed thermocycler (Biometra, Germany) with initial denaturation at 94 °C for 5 min, 42 cycles of denaturation at 94 °C for 1 min, primer annealing at 38 °C for 1 min, extension at 72 °C for 1 min, and final extension at 72 °C for 5 min. Amplified products were separated in 1.5% agarose in 1× TBE buffer. The gels were stained with ethidium bromide and documented using gel documentation system Grab-It 1D pre Windows.

The RAPD bands were scored as present (1) or absent (0), each of which was treated as an independent character regardless of its intensity. A dendrogram based on hierarchical cluster analysis using the

unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) with the SPSS professional statistics version 17 software package was constructed. For the assessment of the polymorphism between genotypes ricin and usability RAPD markers in their differentiation we used diversity index (DI) (Weir, 1990), the probability of identity (PI) (Paetkau et al., 1995) and polymorphic information content (PIC) (Weber, 1990).

Results and discussion

Our study dealt with detection of genetic polymorphism in maize cultivars using RAPD markers. For the differentiation of twenty maize genotypes, five RAPD markers were chosen, as Gajeraa et al. (2010). PCR amplifications using 5 RAPD primers produced 35 DNA fragments, which could be scored in all genotypes. The selected primers amplified DNA fragments across the 20 genotypes studied, with the number of amplified fragments varying from 5 (OPD-07) to 8 (OPF-14 and SIGMA-D-01), with the size of amplicons ranging from 150 to 2500 bp. Of the 35 amplified bands, all 35 were polymorphic, with an average of 7.00 polymorphic bands per primer.

The polymorphic information content (PIC) value ranged from 0.723 (OPD-07) to 0.862 (OPF-14), with an average of 0.799 and index diversity (DI) value varied from 0.725 (OPD-07) to 0.865 (OPF-14) with an average of 0.805 (Table 1).

Table 1 Statistical characteristics of RAPD markers used in maize

Primers	Number of alleles	DI	PIC	PI
OPD-07	5	0.725	0.723	0.026
OPF-14	8	0.865	0.862	0.003
SIGMA-D-01	8	0.854	0.849	0.004
SIGMA-D-14	7	0.741	0.728	0.023
SIGMA-D-P	7	0.839	0.833	0.005
Average	7.00	0.805	0.799	0.012

DI – diversity index; PIC – polymorphic information content; PI – probability of identity

A dendrogram based on UPGMA analysis separated 20 maize genotypes into two clusters. First cluster contained two maize genotypes Bučiansky Kanský Zub (SK) and Moldavskaja (SUN). Cluster two was divided into two main cluster 2a and 2b. Main cluster 2a contained genotype Dnepropetrovskaja (SUN) and main cluster 2b was divided into two subclustrov 2ba and 2bb. Subcluster 2ba contained three genotypes- Iregszemeseil 2 hetes (HUN), Aranyozon sarga lofogu (HUN) and Mikulická (CZE) and subcluster 2bb contained other 14 genotypes of maize. We could not distinguish two genotypes, M Silokukurica (HUN) and Bezuncukskaja (SUN) (subcluster 2bb), which can be caused due to close genetic background (Figure 1).

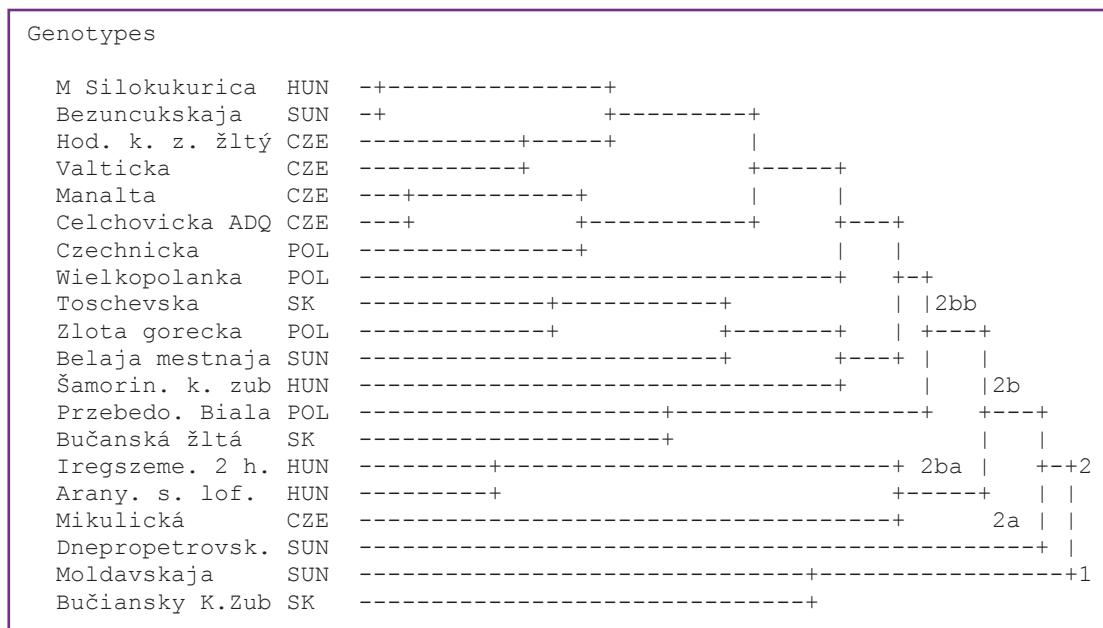


Figure 1 Dendrogram of 20 maize genotypes prepared based on 5 RAPD markers
CZE – Czechoslovakia, HUN – Hungary, POL – Poland, SUN – Union of Soviet Socialist Republics, SK – Slovakia

Conclusions

The analysis showed that RAPD markers present effective molecular markers for assessment of the genetic diversity in maize. A dendrogram based on UPGMA analysis separated 20 maize genotypes into two clusters. First cluster contained two maize genotypes Bučiansky Kónský Zub (SK) and Moldavská (SUN). Cluster two was divided into two main cluster 2a and 2b. Main cluster 2a contained genotype Dnepropetrovská (SUN) and main cluster 2b was divided into two subclustrov 2ba and 2bb. We could not distinguish two genotypes, M Silokukurica (HUN) and Bezuncukská (SUN), which can be caused due to close genetic background.

Acknowledgments

This work was funded by European Community under project ITMS 26220220180: Building Research Centre “AgroBioTech” (50%) and KEGA project No 021SPU-4/2015 (50%).

References

- Ahmad, S., Khan, S., Ghaffar, M., Ahmad, F. 2011. Genetic diversity analysis for yield and other parameters in maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Asian Journal Agriculture Science*, vol. 3, no. 5, p. 385–388. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012067576>
- Farhad, W., Saleem, M.F., Cheema, M.A., Hammad, H.M. 2009. Effect of poultry manure levels on the productivity of spring maize (*Zea mays* L.). *The Journal of Animal and Plant Sciences*, vol. 19, no. 3, p. 122–125. <http://www.thejaps.org.pk/docs/19-no-3-2009/09-961.pdf>
- Gajeraa, B.B., Kumara, N., Singha, A.S., Punvara, B.S., Ravikirana, R., Subhasha, N., Jadejab, G.C. 2010. Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus communis* L.) using RAPD and ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, vol. 32, p. 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.06.021>

- Chen, X., Sullivan, P.F. 2003. Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput. *Pharmacogenomics J.*, vol. 3, p. 77–96. DOI: [10.1038/sj.tpj.6500167](https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500167)
- Kilian, A., Huttner, E., Wenzl, P., Jaccoud, D., Carling, J. 2005. The Fast and the Cheap: SNP and DArT-based Whole Genome Profiling for Crop Improvement. Tuberosa, R., R. L. Phillips, M. Gale, (Eds.) *Proceedings of the International Congress in the Wake of the Double Helix: From the Green Revolution to the Gene Revolution*. Bologna, 27–31, p. 443–461.
- Mullis, K.B., Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.*, vol. 155, p. 335–350. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3431465>
- Omalsaad, A.K.M., Islam, A., Jahan, M.A., Yaakob, Z., Osman, M. 2014. Genetic relationship between roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) accessions through optimization of PCR based RAPD method. *Emir. J. Food Agric.*, vol. 26, no. 3, p. 247–258. <http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.v26i3.16498>
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I., Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.*, vol. 4, p. 347–354. DOI: [10.1111/j.1365-294X.1995.tb00227.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1995.tb00227.x)
- Pollack, L.M. 2003. The history and success of the public-private project on germplasm enhancement of maize (GEM). *Adv. Agron.*, vol. 78, p. 45–87.
- Schulman, A.H. 2007. Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, vol. 158, p. 313–321. DOI: [10.1007/s10681-006-9282-5](https://doi.org/10.1007/s10681-006-9282-5)
- Srivastav, V.S., Kapadia, C.V., Mahatma, M.K., Jha, S.K., Jha, S. and Ahmad, T. 2013. Genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in the Kutch region of India using RAPD and ISSR markers. *Emir. J. Food Agric.*, vol. 25, no. 11, p. 907–915. <http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.v25i11.14325>
- Strable, J., Scanlon, M.J. 2009. Maize (*Zea mays*): A model organism for basic and applied research in plant biology. *Emerging Model Organisms*, vol. 2, p. 33–41. DOI: [10.1101/pdb.emo132](https://doi.org/10.1101/pdb.emo132)
- Tagne, A., Feujoy, T.P., Sonna, C. 2008. Essential oil and plant extracts as potential substitutes to synthetic fungicides in the control of fungi. *International Conference Diversifying Crop Protection*, La Grande-Motte, France, October 12–15.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.*, vol. 17, p. 6463–6471. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2780284>
- Yim, Y.S., Moak, P., Sanchez-Villeda, H., Musket, T.A., Close, P. 2007. A BAC pooling strategy combined with PCR-based screenings in a large, highly repetitive genome enables integration of the maize genetic and physical maps. *B.M.C. Genomics*, vol. 8, p. 47–55. DOI: [10.1186/1471-2164-8-47](https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-47)
- Žiarovská, J., Ražná, K., Labajová, M. 2013. Using of Inter Microsatellite Polymorphism to evaluate gamma-irradiated *Amaranth* mutants. *Emir. J. Food Agric.*, vol. 25, no. 9, p. 673–681. <http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.v25i9.15879>
- Vivodík, M., Balážová, Ž., Gálová, Z. 2014. DNA analysis of ricin using RAPD technique. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 3, no. 2, p. 181–183. <http://dx.doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.special2.125-127>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T.V.D. 1995. Hornes AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, vol. 23, p. 4407–4414.
- Weber, J.L. 1990. Informativeveness of human (dC-dA)n x (dG-dT)n polymorphism. *Genomics*, vol. 7, p. 524–530.
- Weir, B.S. 1990. *Genetic data analysis*. Methods for discrete population genetic data. 1990 p. ISBN 0-87893-872-9.
- Welsh, J., McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.*, vol. 18, p. 7213–7218.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, vol. 18, p. 6531–6535.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, vol. 20, p. 176–183.



DETECTION GENETIC VARIABILITY OF CASTOR GENOTYPES (*RICINUS COMMUNIS* L.) USING SSR MARKERS

Vivodík Martin*, Petrovičová Lenka, Balážová Želmíra, Gálová Zdenka

Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Department of Biochemistry and Biotechnology

Received 17. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 30. 11. 2017

Knowledge of genetic variability is important for breeding programs to provide the basis for developing desirable genotypes. The aim of this study was to assess genetic diversity within the set of 60 ricin genotypes using 5 SSR primers. Five SSR primers revealed a total of 38 alleles ranging from 5 to 10 alleles per locus with a mean value of 7.60 alleles per locus. The PIC values ranged from 0.776 (Rco40) to 0.872 (Rco33) with an average value of 0.843 and the DI value ranged from 0.786 (Rco40) to 0.876 (Rco33) with an average value of 0.849. The dendrogram of genetic similarity was constructed, based on UPGMA algorithm. The hierarchical cluster analysis divided castor genotypes into five main clusters. In this experiment, SSRs markers proved to be a high informative and usefull tool in genetic diversity research for the distinguishing and characterization of close related varieties.

Keywords: castor; genetic diversity; molecular markers; simple sequence repeat; SSR

Introduction

Castor (*Ricinus communis* L.) is a cross-pollinated diploid ($2n = 2x = 20$) species belonging to the family Euphorbiaceae and genus *Ricinus*. Castor is an important industrial oilseed crop. Its seed oil has multifarious applications in production of wide industrial products ranging from medicines to lower molecular weight aviation fuels, fuel additives, biopolymers and biodiesel (Ogunniyi, 2006). Castor seeds contain around 50–55% oil which is rich in an unusual hydroxy fatty acid, ricinoleic acid which constitutes about 80–90% of the total fatty acids (Jeong and Park, 2009).

Knowledge of genetic variability is important for breeding programs to provide the basis for developing desirable genotypes. Genetic variability in castor bean has been studied using molecular techniques, including amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Pecina-Quintero et al., 2013), random amplified polymorphism DNA (RAPD) (Vivodík et al., 2014), single nucleotide polymorphism (SNP) markers (Foster et al., 2010), simple sequence repeat (SSR) (Tan et al., 2014), start codon targeted polymorphism (SCoT) and inter simple sequencerepeat (ISSR) (Kallamadi et al., 2015). Pecina-Quintero et al. (2013) used four different AFLP primer pairs. In total, the four combinations of selective primers amplified 430 products, of which 228 were polymorphic. Vivodík et al. (2014) used 8 RAPD markers to detect genetic variability among the set of 40 castor genotypes. Foster et al. (2010) analyzed the population genetics of *R. communis* in a worldwide collection of plants from

*Corresponding author: Martin Vivodík, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Biochemistry and Biotechnology,
✉ vivodikmartin@gmail.com

germplasm and determined the population genetic structure of 676 samples using single nucleotide polymorphisms (SNPs) at 48 loci.

The goal of Tan et al. (2014) was to develop a more complete panel of SSR markers that can be used to construct a genetic map of castor bean and to examine genetic variation in this plant. The present investigation of Kallamadi et al. (2015) has been undertaken to assess the extent of genetic diversity in 31 accessions of castor using ISSR and SCoT primers. Among the DNA markers, SSR markers have been used intensively to analyse genetic diversity. So far, several investigations on the discrimination between crop genotypes using SSR markers have been carried out by Fayyaz et al. (2014), Kanwal et al. (2014), Polat et al. (2015).

The goals of this study were to examine the effectiveness of SSR markers for analysis of genetic diversity of castor and to study genetic relationships among 60 castor accessions using 5 SSR markers.

Materials and methodology

Plant material and DNA extraction

A total 60 castor genotypes (called RM-45 – RM-105) obtained from the breeding station Zeainvent Trnava Ltd. (Slovakia), were used in this study. DNA of 60 genotypes of castor was extracted from leaves of 10 day old seedlings using the Gene JET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit. Each sample was diluted to 20 ng with TE buffer (10 mM Tris–HCl, pH 8.0 and 0.1 mM EDTA, pH 8.0), stored at -20 °C and resolved on agarose gel with the standard lambda DNA for determining the DNA concentration.

SSR amplification

Amplification of SSR fragments was performed according to Bajay et al. (2009, 2011) (Table 1.). Polymerase chain reaction (PCR) were performed in 25 µl of a mixture containing 10.5 µl H₂O, 12.0 µl Master Mix (Genei, Bangalore, India), 0.75 µl of each primer (10 pmol) and 1 µl DNA (100 ng). Amplification was performed in a programmed thermocycler (Biometra, Germany) and amplification program consisted of an initial denaturing step at 94 °C for 1 min, followed by 35 cycles of amplification [94 °C (1 min), 1 min at the specific annealing temperature of each primer pair (Table 1), 72 °C (1 min)] and a final elongation step at 72 °C for 10 min. Amplification products were confirmed by electrophoresis in 7% denaturing polyacrylamide gels and silver stained and documented using gel documentation system Grab-It 1D for Windows.

Table 1 List of SSR primers

Marker name	Ta, °C	Repeat motif	Sequence of the primer (5'-3')
Rco33	60	(TCT)11	F: ACATACATGCAGGGAGACCA R: TCTGCTTTAATGGCTGATCG
Rco34	60	(GT)11	F: TCGGTTAAGGGTATGGGTTG R: CACACTTCATTCGCAGACC
Rco35	60	(AG)16	F: GGAAGAATTGGGTTGGAAGT R: AACAAACACAGGTGCATCAT
Rco40	60	(TC)5(CT)7	F: AACTGGATAAAGGGGTATTTGG R: GCTTTTTGGTAGCAGGTTTGA
Rco41	60	(CT)17(CA)11	F: CATGTTGTTTTTGGCAGCTC R: CGTTCACACTCATCAATCCA

Source: Bajay et al., 2009, 2011

Data analysis

The SSR bands were scored as present (1) or absent (0), each of which was treated as an independent character regardless of its intensity.

A dendrogram based on hierarchical cluster analysis using the unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) with the SPSS professional statistics version 17 software package was constructed. For the assessment of the polymorphism between genotypes ricin and usability SSR markers in their differentiation we used diversity index (DI), the probability of identity (PI) and polymorphic information content (PIC).

Results and discussion

The development of molecular markers has opened up numerous possibilities for their application in plant breeding. Five specific microsatellite primer pairs revealed a total of 38 alleles ranging from 5 (Rco40) to 10 (Rco33) alleles per locus with a mean value of 7.60 alleles per locus (Table 2). Resulting from the number and frequency of alleles, diversity index (DI), polymorphic information content (PIC) and probabilities of identity (PI) were calculated (Table 2). The PIC values ranged from 0.776 (Rco40) to 0.872 (Rco33) with an average value of 0.843 and the DI value ranged from 0.786 (Rco40) to 0.876 (Rco33) with an average value of 0.849 (Table 2).

Table 2 The statistical characteristics of the SSR markers used in castor

Marker name	Number of alleles	DI	PIC	PI
Rco33	10	0.876	0.872	0.004
Rco34	7	0.842	0.835	0.005
Rco35	8	0.871	0.867	0.002
Rco40	5	0.786	0.776	0.012
Rco41	8	0.870	0.866	0.002
Average	7.60	0.849	0.843	0.005

DI – diversity index, PIC – polymorphic information content, PI – probability of identity

The dendrogram of genetic relationships among 60 castor cultivars based on SSR markers is presented in Figure 1. The hierarchical cluster analysis showed that the castor genotypes were divided into five main clusters. Cluster 1 contained 10 genotypes, cluster 2 included 10 genotypes of ricin and cluster 3 contained 6 genotypes of ricin. Cluster 4 included 17 genotypes and cluster 5 contained 17 genotypes (Figure 1). We could not distinguish 4 genotypes grouped in cluster 1, RM-63 – RM-64 and RM-50 – RM-51 and 2 genotypes grouped in cluster 5, RM-45 – RM-46, which are genetically the closest. We can assume that they have close genetic background (Figure 1).

Genotypes

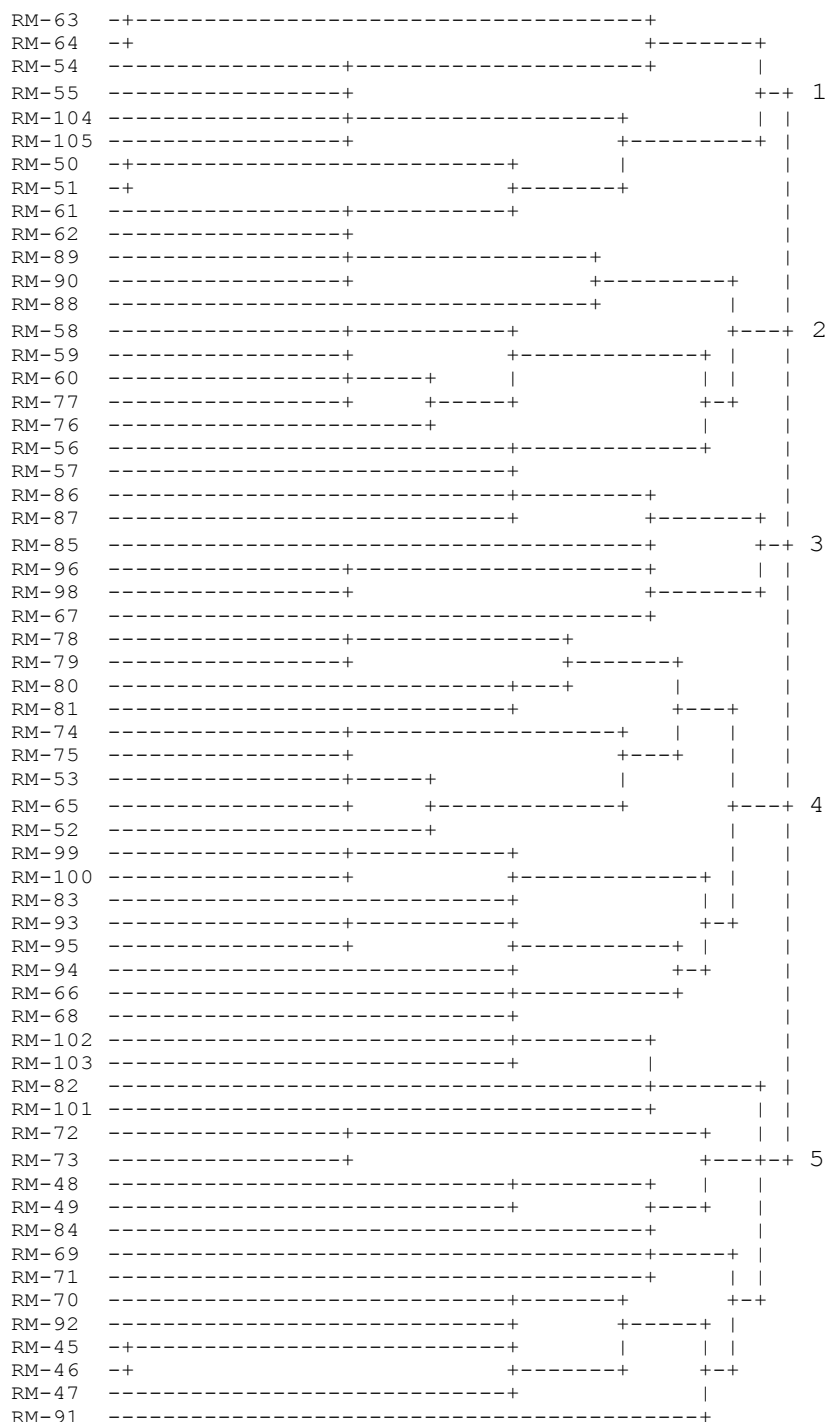


Figure 1 Dendrogram of 60 castor genotypes prepared based on 5 SSR markers

Conclusions

In conclusion, a high level of genetic diversity exists among the castor accessions were analyzed. According to analysis, the collection of 60 diverse accessions of castor bean was clustered into five clusters. We could not distinguish 6 genotypes grouped in cluster 1 and 5 which are genetically the closest. A SSR marker system is a rapid and reliable method for cultivar identification that might also be used in quality control in certified seed production programs, to identify sources of seed contamination, and to maintain pure germplasm collections.

Acknowledgments

This work was funded by European Community under project ITMS 26220220180: Building Research Centre “AgroBioTech” (50%) and KEGA project No 021SPU-4/2015 (50%).

References

- Bajay, M.M., Pinheiro, J.B., Batista, C.E.A., Nobrega, M.B.M., Zucchi, M.I. 2009. Development and characterization of microsatellite markers for castor (*Ricinus communis* L.), an important oleaginous species for biodiesel production. *Conserv. Genet.*, vol. 1, p. 237–239. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.1000395>
- Bajay, M.M., Zucchi, M.I., Kiihl, T.A.M., Batista, C.E.A., Monteiro, M., Pinheiro, J.B. 2011. Development of a novel set of microsatellite markers for Castor bean, *Ricinus communis* (Euphorbiaceae). *Am. J. Bot.*, vol. 98, p. 87–89. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.1000395>
- Fayyaz, L., Farhatullah-Rabbani, M.A., Iqbal, S., Kanwal, M., Nawaz, I. 2014. Genetic diversity analysis of *Brassica napus/Brassica campestris* progenies using microsatellite markers. *Pak. J. Bot.*, vol. 46, no. 3, p. 779–787.
- Jeong, G.T., Park, D.H. 2009. Optimization of biodiesel production from castor oil using response surface methodology. *Appl. Biochem. Biotech.*, vol. 156, p. 1–11. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-008-8468-9> PMID:19089650
- Kallamadi, P.R., Ganga Rao Nadigatla, V.P.R., Mulpuri, S. 2015. Molecular diversity in castor (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products*, vol. 66, p. 271–281. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.061>
- Kanwal, M., Farhatullah-Rabbani, M.A., Iqbal, S., Fayyaz, L., Nawaz, I. 2014. The assessment of genetic diversity between and within *Brassica* species and their wild relative (*Eruca sativa*) using SSR markers. *Pak. J. Bot.*, vol. 46, no. 4, p. 1515–1520.
- Ogunniyi, D.S. 2006. Castor oil: a vital industrial raw material. *Bioresour. technol.*, vol. 97, p. 1086–1091.
- Pecina-Quintero, V., Anaya-López, J.L., Núñez-Colín, C.A., Zamarripa-Colmenero, A., Montes-García, N., Solís-Bonilla, J.L., Aguilar-Rangel, M.R. 2013. Assessing the genetic diversity of castor bean from Chiapas, México using SSR and AFLP markers. *Industrial Crops and Products*, vol. 41, p. 134–143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.033>
- Polat, I., Turgutoglu, E., Kurt, S. 2015. Determination of genomic diversity within mutant lemon (*Citrus limon* L.) and mandarin (*Citrus reticulata*) using molecular markers. *Pak. J. Bot.*, vol. 47, no. 3, p. 1095–1102.
- Tan, M., Wu, K., Wang, L., Yan, M., Zhao, Z., Xu, J., Zeng, Y., Zhang, X., Fu, Ch., Xue, J., Wang, L., Yan, X. 2014. Developing and characterising *Ricinus communis* SSR markers by data mining of whole-genome sequences. *Mol Breeding*, vol. 34, p. 893–904. <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-014-0083-6>
- Vivodík, M., Balážová, Ž., Gálová, Z. 2014. RAPD analysis of the genetic diversity of castor bean. *International journal of biological, veterinary, agricultural and food engineering*, vol. 8, no. 7, p. 583–586.



GENETIC DIVERSITY OF MAIZE ACCESSIONS (*ZEA MAYS* L.) CULTIVATED FROM EUROPE USING MICROSATELLITES MARKERS

Vivodík Martin*, Petrovičová Lenka, Balážová Želmíra, Gálová Zdenka

Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,
Department of Biochemistry and Biotechnology

Received 17. 5. 2017

Revised 22. 5. 2017

Published 30. 11. 2017

Maize (*Zea mays* L.) or corn is a plant belonging to the family Poaceae and is one of the most important cereal crops worldwide as human nutrient, a basic element of animal feed and raw material for manufacture of many industrial products. Maize is the oldest plant to have a fully established gene map with the basic genome consisting of 10 chromosomes and is an excellent plant for the detection of genotoxins, mutagenic and clastogenic substances in the environment. The SSR molecular markers were used to assess genetic diversity in 20 old European maize genotypes. Five SSR primers revealed a total of 33 alleles ranging from 5 (UMC1962) to 8 (UMC1370) alleles per locus with a mean value of 6.60 alleles per locus. Variations in DNA sequences lead to polymorphism. Greater polymorphism is indicative of greater genetic diversity. The PIC values ranged from 0.780 (UMC1962) to 0.842 (UMC1370) with an average value of 0.814 and the DI value ranged from 0.794 (UMC1962) to 0.848 (UMC1370) with an average value of 0.823. 100% of used SSR markers had PIC and DI values higher than 0.7 that means high polymorphism of chosen markers used for analysis. Probability of identity (PI) was low ranged from 0.005 (UMC1241 and UMC1370) to 0.011 (UMC1859) with an average of 0.007. A dendrogram based on UPGMA analysis separated 20 maize genotypes into two clusters. First cluster contained two maize genotypes Bučiansky Kónský Zub (SK) and Moldavská (SUN). Cluster two was divided into two main cluster 2a and 2b. SSR markers are useful in the assessment of maize diversity, the detection of duplicate sample in genotypes collection, and the selection of a core collection to enhance the efficiency of genotypes management for use in maize breeding and conservation.

Keywords: old maize; genetic diversity; SSR markers; dendrogram; PIC

Introduction

With the advent of the first maize hybrids, in 1933 in the US and around 1950 in Europe, maize cultivation has undergone a complete change. Numerous open-pollinated landraces adapted to specific regions were substituted by a limited number of hybrids bred from a large genetic basis (Gay, 1984). Today, the main maize hybrids cultivated in the world involve a restricted number of key inbred lines. Therefore, genetic diversity of those cultivars is almost certainly limited, in comparison to the large genetic diversity available in genebanks (Gay, 1984). A few years ago, the threat of genetic erosion led to a significant interest in the assessment of genetic diversity in germplasm collections and a huge number of studies on various crops (Dubreuil and Charcosset, 1998).

*Corresponding author: Martin Vivodík, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Biochemistry and Biotechnology,
✉ vivodikmartin@gmail.com

Molecular markers based on polymerase chain reaction (PCR) methods, such as simple sequence repeats (SSRs) or microsatellites, have become important genetic markers in a wide range of crop species, including maize (Elçi and Hançer, 2015).

SSRs markers have many advantages over other types of molecular markers, such as co-dominance, abundant in genomes, highly polymorphisms, locus specificity, good reproducibility and random distribution throughout the genome (Sun et al., 2011). These features, coupled with their ease of detection, make them ideal for identifying and distinguishing between accessions that are genetically very similar (Saker et al., 2005).

For the analysis of genetic diversity of maize genotypes were used several dominant molecular markers: amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Roy and Kim, 2016), random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Balážová et al., 2016), start codon targeted (SCoT) (Vivodík et al., 2016), inter-simple sequence repeat (ISSR) (Idris et al., 2012; Žiarovská et al., 2013) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) (Abd El-Azeem et al., 2015). And codominant molecular markers were also used for the analysis of maize genotypes: simple sequence repeat (SSR) (Shiri et al., 2014), expressed sequence tag (EST)-SSR (Galvão et al., 2015), single nucleotide polymorphism (SNP) (Sa et al., 2012) and using protein markers (SDS-PAGE) (Vivodík et al., 2016). Suitability of SSR markers for the construction of genetic maps, fingerprinting and phylogenetic studies has been proved by many authors in many crops, such as castor (Gálová et al., 2015), rye (Balážová et al., 2015), wheat (Han et al., 2015), barley (Maniruzzaman et al., 2014), triticale (Vyhnánek et al., 2009), maize (Salami et al., 2016) and many other crops.

The present study aimed to examine the genetic variability within and among old maize genotypes cultivated in the Europe, using 5 SSR markers. The data collected will contribute to identification, rational exploitation and conservation of germplasms of maize genotypes.

Materials and methodology

Maize genotypes (20) were obtained from the Gene Bank VURV Praha-Ruzine (Czech Republic) and from the Gene Bank in Piešťany, the Slovak Republic. DNA of 20 genotypes of maize was extracted from leaves of 10 day old seedlings using the Gene JET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit. Maize genotypes were grown in a growth chamber on humus soil.

SSR analysis

Amplification of SSR fragments was performed according to (Elçi and Hançer, 2015). Polymerase chain reaction (PCR) were performed in 20 µl of a mixture containing 7.5 µl H₂O, 10.0 µl Master Mix (Genei, Bangalore, India), 0.75 µl of each primer (10 pmol) and 1 µl DNA (100 ng). Amplification was performed in a programmed thermocycler (Biometra, Germany) and amplification program consisted of an initial denaturing step at 94 °C for 2 min, followed by 35 cycles of amplification [95 °C (30 s), 1 min at the 55 °C, 72 °C (30 s)] and a final elongation step at 72 °C for 10 min. Amplification products were confirmed by electrophoresis in 7% denaturing polyacrylamide gels and silver stained and documented using gel documentation system Grab-It 1D for Windows.

Data analysis

For the assessment of the polymorphism between castor genotypes and usability of SSR markers in their differentiation diversity index (DI) (Weir, 1990), the probability of identity (PI) (Paetkau et al., 1995) and polymorphic information content (PIC) (Weber, 1990) were used.

Results and discussion

Five maize SSR primers were used for identification and estimation of the genetic relations among 20 old European maize genotypes. All 5 SSR primers generated clear banding patterns with high polymorphism. Five SSR primers revealed a total of 33 alleles ranging from 5 (UMC1962) to 8 (UMC1370) alleles per locus with a mean value of 6.60 alleles per locus (Table 1). Variations in DNA sequences lead to polymorphism. Greater polymorphism is indicative of greater genetic diversity. The PIC values ranged from 0.780 (UMC1962) to 0.842 (UMC1370) with an average value of 0.814 and the DI value ranged from 0.794 (UMC1962) to 0.848 (UMC1370) with an average value of 0.823 (Table 1). 100% of used SSR markers had PIC and DI values higher than 0.7 that means high polymorphism of chosen markers used for analysis. Probability of identity (PI) was low ranged from 0.005 (UMC1241 and UMC1370) to 0.011 (UMC1859) with an average of 0.007 (Table 1). A dendrogram based on UPGMA analysis separated 20 maize genotypes into two clusters (Figure 1). First cluster contained two maize genotypes Bučiansky Kónský Zub (SK) and Moldavská (SUN). Cluster two was divided into two main cluster 2a and 2b.

Table 1 List of SSR primers, total number of bands and the statistical characteristics of the SSR markers used in maize

Marker name	Number of alleles	DI	PIC	PI
UMC1859	7	0.808	0.799	0.011
UMC1241	6	0.830	0.823	0.005
UMC1370	8	0.848	0.842	0.005
UMC1962	5	0.794	0.780	0.010
UMC1380	7	0.835	0.827	0.006
Average	6.60	0.823	0.814	0.007

DI – diversity index; PIC – polymorphic information content; PI – probability of identity

Main cluster 2a contained genotype Dnepropetrovská (SUN) and main cluster 2b was divided into two subclustrov 2ba and 2bb. Subcluster 2ba contained three genotypes- Iregszemesel 2 hetes (HUN), Aranyozon sarga lofogu (HUN) and Mikulická (CZE) and subcluster 2bb contained other 14 genotypes of maize. We could not distinguish two genotypes, M Silokukurica (HUN) and Bezuncukská (SUN) (subcluster 2bb), which can be caused due to close genetic background (Figure 1).

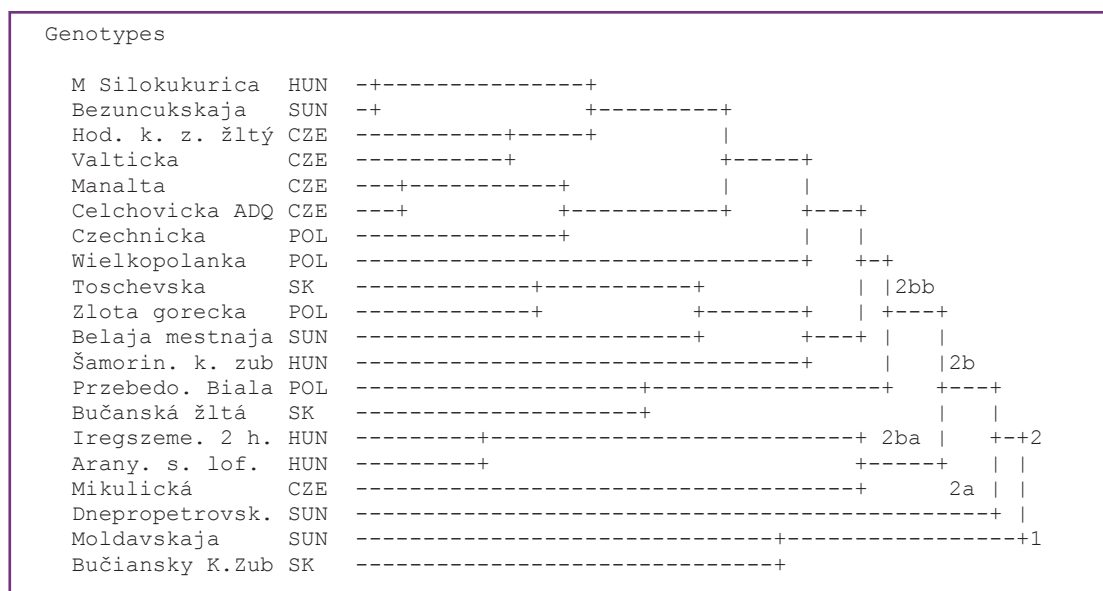


Figure 1 Dendrogram of 20 old maize genotypes prepared based on 5 SSR markers
CZE – Czechoslovakia, HUN – Hungary, POL – Poland, SUN – Union of Soviet Socialist Republics, SK – Slovakia

Conclusions

In conclusion, a high level of genetic diversity exists among the old maize accessions analyzed. According to analysis, the collection of 20 diverse accessions of maize was clustered into two clusters. First cluster contained two maize genotypes Bučiansky Kanský Zub (SK) and Moldavskaja (SUN). Cluster two was divided into two main cluster 2a and 2b. Main cluster 2a contained genotype Dnepropetrovskaja (SUN) and main cluster 2b was divided into two subclustrov 2ba and 2bb. Subcluster 2ba contained three genotypes- Iregszemeseil 2 hetes (HUN), Aranyozon sarga lofogu (HUN) and Mikulická (CZE) and subcluster 2bb contained other 14 genotypes of maize. We could not distinguish two genotypes, M Silokukurica (HUN) and Bezuncukskaja (SUN) (subcluster 2bb), which can be caused due to close genetic background. A SSR marker system is a rapid and reliable method for cultivar identification that might also be used in quality control in certified seed production programs, to identify sources of seed contamination, and to maintain pure germplasm collections.

Acknowledgments

This work was funded by European Community under project ITMS 26220220180: Building Research Centre “AgroBioTech” (50%) and KEGA project No 021SPU-4/2015 (50%).

References

- Abd El-Azeem, R.M., Hashem, M.H., Abd-El-Haleem, S.H.M. 2015. Detection of genetic variability in *Zea mays* inbred lines using SSRs and SRAP markers. *Egypt. J. Genet. Cytol.*, vol. 44, p. 291–307.
- Balážová, Ž., Petrovičová, L., Gálová, Z., Vivodík, M. 2015. Molecular characterization of rye cultivars. *Potravinárstvo*, vol. 9, no. 1, p. 54–58. <http://dx.doi.org/10.5219/522>
- Balážová, Ž., Vivodík, M., Gálová, Z. 2016. Evaluation of molecular diversity of central European maize cultivars. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, vol. 28, no. 2, p. 93–98. <http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.2015-05-204>

- Dubreuil, P., Charcosset, A. 1998. Genetic diversity within and among maize populations: a comparison between isozyme and nuclear RFLP loci. *Theor Appl Genet.*, vol. 96, p. 577–587.
- Elçi, E., Hançer, T. 2015. Genetic analysis of maize (*Zea mays* L.) hybrids using microsatellite markers. *Tarim Bilimleri Dergisi – Journal of Agricultural Sciences*, vol. 21, p. 192–198.
- Galvão, K.S., Ramos, H.C., Santos, P.H., Entringer, G.C., Vettorazzi, J.C., Pereira, M.G. 2015. Functional molecular markers (EST-SSR) in the full-sib reciprocal recurrent selection program of maize (*Zea mays* L.). *Genet Mol Res.*, vol. 14, no. 3, p. 7344–7355. <http://dx.doi.org/10.4238/2015.july.3.10>
- Gay J.P. 1984. Fabuleux mais – Histoire et avenir d'une plante. *AGPM, Pau*, p. 295.
- Gálová, Z., Vivodík, M., Balážová, Ž., Kuťka Hložáková, T. 2015. Identification and differentiation of *Ricinus communis* L. using SSR markers. *Potravinárstvo*, vol. 9, no. 1, p. 556–561. <http://dx.doi.org/10.5219/516>
- Han, B., Wang, C., Tang, Z., Ren, Y., Li, Y., Zhang, D., et al. 2015. Genome-Wide Analysis of Microsatellite Markers Based on Sequenced Database in Chinese Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS ONE*, vol. 10, no. 11, e0141540. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0141540>
- Idris, A.E., Hamza, N.B., Yagoub, S.O., Ibrahim, A.I.A., El-Amin, H.K.A. 2012. Maize (*Zea mays* L.) genotypes diversity study by utilization of Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 6, no. 10, p. 42–47.
- Maniruzzaman, A., Talukder, Z.A., Rohman, S., Begum, F., Amiruzzaman, M. 2014. Polymorphism study in barley (*Hordeum vulgare*) genotypes using microsatellite (SSR) markers. *Bangladesh J. Agril. Res.*, vol. 39, no. 1, p. 33–45.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I., Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.*, vol. 4, p. 347–354.
- Roy, N.S., Kim, N.S. 2016. Genetic diversity analysis of maize lines using AFLP and TE-based molecular marker systems. *Genes Genom*, vol. 38, p. 1005–1010. <http://dx.doi.org/10.1007/s13258-016-0461-z>
- Sa, K.J., Park, J.Y., Park, K.C. et al. 2012. Analysis of genetic mapping in a waxy/dent maize RIL population using SSR and SNP markers. *Genes Genom*, vol. 34, p. 157–164. <http://dx.doi.org/10.1007/s13258-011-0208-9>
- Saker, M., Naghtigall, M., Kuehne, T.A. 2005. Comparative assessment of DNA fingerprinting by RAPD, SSR and AFLP in genetic analysis of some barley genotypes. *Egypt J Genet Cytol*, vol. 34, p. 81–97.
- Salami, H.A., Sika, K.C., Padonou, W., Aly, D., Yallou, C., Adjanohoun, A., Kotchoni, S., Baba-Moussa, L. 2016. Genetic diversity of maize accessions (*Zea mays* L.) cultivated from Benin using microsatellites markers. *American Journal of Molecular Biology*, vol. 6, p. 12–24. <http://dx.doi.org/10.4236/ajmb.2016.61002>
- Shiri, M.R., Choukan, R., Aliyev, R.T. 2014. Study of genetic diversity among maize hybrids using SSR markers and morphological traits under two different irrigation conditions. *Crop Breeding Journal*, vol. 4, no. 1, p. 65–72.
- Sun, D.F., Ren, W.B., Sun, G.L., Peng, J.H. 2011. Molecular diversity and association mapping of quantitative traits in Tibetan wild and worldwide originated barley. *Euphytica*, vol. 178, p. 31–43. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-010-0260-6>
- Vivodík, M., Gálová, Z., Balážová, Ž., Petrovičová, L. 2016. Start codon targeted (SCoT) polymorphism reveals genetic diversity in European old maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Potravinárstvo*, vol. 10, no. 1, p. 563–569. <http://dx.doi.org/10.5219/660>
- Vivodík, M., Gálová, Z., Balážová, Ž., Petrovičová, L., Kuťka Hložáková, T. 2016. Genetic variation and relationships of old maize genotypes (*Zea mays* L.) detected using SDS-PAGE. *Potravinárstvo*, vol. 10, no. 1, p. 532–536. <http://dx.doi.org/10.5219/661>
- Vyhnánek, T., Nevrtalová, E., Slezáková, K. 2009. Detection of the genetic variability of triticale using wheat and rye SSR markers. *Cereal Research Communications*, vol. 37, no. 1, p. 23–29.
- Žiarovská, J., Senková, S., Bežo, M., Ražná, K., Masnica, M., Labajová, M. 2013. ISSR markers as a tool to distinguish Idt and SSS populations of *Zea mays* L. *Journal of Central European Agriculture*, vol. 14, no. 2, p. 489–499. <http://dx.doi.org/10.5513/jcea01/14.2.1227>
- Weber, J.L. 1990. Informativeveness of human (dC-dA)n x (dG-dT)n polymorphism. *Genomics*, vol. 7, p. 524–530.
- Weir, B.S. 1990. *Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data.* 1990 pp. ISBN 0-87893-872-9.



EVALUATION OF MORPHOLOGICAL DIVERSITY OF *LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L. DEPENDING ON GROWTH STAGES

Vlasova Elena

SSI All-Russian Breeding and Agrotechnological Institute of Horticulture and Nursery, Moscow, Russia

Received 26. 6 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

Based on the results of long-term description of VIR collection of *Lupinus angustifolius* L. it was found that the intensity of phenotypic expression of the some morphological features depends on the growth stage of plant. Meanwhile, the intraspecific classification is based on a visual assessment of morphological signs. The corolla coloring and the painting on the seed testa characterize the species. The color of cotyledon and vegetative organs and the presence or absence of anthocyanin on the keel petal are the diagnostic signs of the subspecies. In addition to the diagnostic characters of the classification, there are also a number of features of intraspecific diversity, some of which are very useful in crop breeding. These are the type of branching, the color of endocarp and the width of leaf. In this regard the available numeral system of lupin growth stages was complemented with data of the estimated morphological traits of *Lupinus angustifolius* by growth stages. These data are presented in a tabular format. Also, data on the regularity of manifestation of the features during the growing season are presented in that Table. The presented Table would contribute to the unification of monitoring of the morphological descriptions at a time of subjective visual perception. It can also help newcomers to correctly assess the intraspecific diversity of *Lupinus angustifolius*.

Keywords: blue lupine; morphological signs; growth stages; diversity; phenotyping

Introduction

A VIR collection of *Lupinus angustifolius* L. includes over 840 samples. The samples of *Lupinus angustifolius* are characterized by a wide phenotypic diversity. All above-ground vegetative and reproductive organs of plants (the cotyledons, stem, leaves, buds, flowers, pods, seeds) have a variety of morphological markers, which make up the individual characteristics of each sample. Intraspecific diversity of species based on morphological features presented in the existing intraspecific classification (Kurlovich and Stankevich, 1990; Kurlovich, 2002; Kuptsov and Takunov, 2006) which however requires incorporation of a number supplements (Vlasova, 2012, 2015). The present taxonomy of *Lupinus angustifolius* includes 29 species, 16 subspecies, 25 determinant and 2 fasciated forms. The taxonomically important features are divided into basic and additional. The both basic signs: the corolla coloring and the painting on the seed testa characterize the species. The additional features such as the color of cotyledon and vegetative organs, the presence or absence of anthocyanin on the keel petal are the diagnostic signs of the subspecies.

***Corresponding author:** Elena Vlasova, SSI All-Russian Breeding and Agrotechnological Institute of Horticulture and Nursery, Moscow, Russia, ✉ stevlas@yandex.ru

An important feature, loosely covered the existing intraspecific taxonomy, is the type of branching. Only determinant and fasciated morphotypes isolated in the rank of form, despite the fact that Kuptsov N.S. proposed 7 model types of the diverse habit: wild, pseudo-wild, quasi-wild, corymbose, paniculate, palm-like, spike-like. The formation of these model types is associated with the reduction of branching of the first, second and subsequent orders (Kuptsov, 2001).

There are signs which are not taxonomically important, but are also useful in crop breeding as well as in genetic, botanical, physiological researches. Among the signs visible to the human eye these are the presence or absence of anthocyanin on the peduncle of the flower raceme and around the edges of leaflets, the color of endocarp, the width of leaflets, the abundance of trichomes on leaves and pods. The color of endocarp of the pod, for example, is a breeding sign, because its red-brown color is a marker of the presence of gene *le* (the resistance to the pod cracking) (Gladstones, 1967).

The intensity of phenotypic expression of the some morphological features depends on the growth stage of plant. In this regard, it would be useful to establish a schedule for phenotyping of *Lupinus angustifolius* stocks.

Materials and methodology

The 840 samples of *Lupinus angustifolius* of VIR collection were grown in field trial in climatic conditions of the Moscow region (Russia) from 2000 to 2016. Since the expression of the morphological traits in the varying degrees influenced by the external conditions, each sample was grown until maturation at least three times during this period. The descriptors for the genus *Lupinus* L. (Stepanova et al., 1985), the intraspecific classification (Kurlovich and Stankevich, 1990; Kurlovich, 2002; Kuptsov and Takunov, 2006; Vlasova, 2015), the information about genetics of morphological signs (Kuptsov, Takunov, 2006) were used to characterize of the samples. The numeral system of the lupin growth stages (Dracup and Kirby, 1996) with modifications (Walker et al., 2011) was used.

Results and discussion

The lupin is a dicotyledonous plant that characterized by epigeal emergence above the soil surface. The cotyledons are green from bright to dark, yellow-green or purple at the abaxial side. The cotyledons are as a rule dark-green and can be covered in purple spots at the adaxial side. Different shades of green color are also characteristic for leaves. The leaves turn purple at the adaxial side in the presence of anthocyanin. It is often the anthocyan is present around the edges of leaflets.

There are four main colors of the corolla, which are the diagnostic features in the intraspecific classification: the white, the blue, the pink, the pale violet. There are different shades of a main colors. In addition, the color spots complement the main color. The intensity of the stains and shades depends on the weather conditions. The color of the corolla can vary during the inflorescence grows.

As a rule, the one-year observations are insufficient to estimate the habitus of plants. Overcoming of further growth and branching occurs under arid conditions and therefore very often does not allow us to establish the possibility of branching of the third and subsequent orders (Vlasova, 2013).

Data on the stability of morphological signs during the growing season are presented in the Table 1.

Table 1 The evaluation of the morphological diversity of *Lupinus angustifolius* L. by growth stages

Decimal score	Growth stages	Morphological signs	Remarks about the features of sign expression
0.9	– part of the seeding protruding through the soil	– color of cotyledons (abaxial side)	– the most contrasting at this stage
1.0	– first pair of leaves protruding beyond upright cotyledons	– color of cotyledons (adaxial side)	
1.10	– 10 leaves emerged from bud	– presence or absence of anthocyanin around the edges of leaflets	– irregularly distinct at a later stage
2.3	– bases of some basal leaves clearly separated	– stem color, the presence or absence of the anthocyanin on the stem	– the most contrasting at this stage
2.5	– bases of several leaves clearly separated from each other	– leaf color, width of leaflets	– the most contrasting at this stage
3.3	– diverging standard petal stage (anthesis)	– main color of corolla	–
3.5	– coloured corolla stage	– color of corolla	– maybe the appearance of new stains or change of corolla color (discolor type)
3.3–3.5	– from Diverging standard petal stage (anthesis) to Coloured corolla stage	– presence or absence of anthocyanin on peduncle of flower raceme	–
4.4	– green pod, clear seed bulges in pod walls, seeds filling all space between septa	– abundance of trichomes on pods	– the most contrasting at this stage
4.9	– pod turning khaki-coloured	– color of pod surface, color of endocarp	– the most contrasting at this stage
5.9	– seeds hard and harvest ripe	– color of seeds	–
	–	– habit of plants	– unlimited growth of plants is fixed only in cool and wet conditions

Conclusions

As a result, the available numeral system of lupin growth stages (Dracup and Kirby, 1996; Walker et al., 2011) was complemented with data of the estimated morphological traits and the peculiarities of their manifestation by growth stages in the above table.

We hope that the presented table would contribute to unification of monitoring of the morphological descriptions at a time of subjective visual perception. It can also help newcomers to properly assess the intraspecific diversity of *Lupinus angustifolius* L.

References

Dracup, M., Kirby, E.J., 1996. *Lupin Development Guide*. Nedlands WA: University of Western Australia Press, 97 p. ISBN 1-875560-66-1.

- Gladstones, J.S. 1967. Selection for economic characters in *Lupinus angustifolius* and *L. digitatus*. 1. Non-shattering pods. *Australian J. of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, vol. 7, p. 360–366. ISSN 0045-060X.
- Kurlovich, B.S. 2002. *Lupins. Geography, Classification, Genetic Researches and Breeding*. St. Petersburg: Publishing house "Intan". 468 p. <http://lupindiversity.blogspot.nl/>
- Stepanova, S., Nazarova, N., Korneichuk, V., Lehmann, Chr., Micolaichik, Ya. 1985. *The international comecon list of descriptors for the genus Lupinus L.* Leningrad, USSR, VIR, 46 p.
- Vlasova, E.V. 2012. Problems to systematizations of *Lupinus angustifolius* L. spikelike types into VIR collection. *NI Vavilov's ideas in the modern world*. Abstracts. III Vavilov Int. Conf. 6-9 Nov. 2012, p. 53. ISBN 978-5-905954-04-7.
- Vlasova, E.V. 2013. Problems of categorization of *Lupinus angustifolius* L. VIR-collection by type branching. *Генофонд и селекция растений Том 1.: Полевые культуры: доклады и сообщения I межд. научно-практ. конф.*, Краснообск, 9–13 апреля 2013 г. СибНИИРС Россельхозакадемии, с. 108–114. ISBN 978-5-906143-25-9.
- Vlasova, E.V. 2015. Morphological and taxonomic description of *Lupinus angustifolius* L. spikelike samples into VIR collection. *Revista Botanică*, vol. 1, no. 10, p. 88–91. ISSN 1857-095X.
- Walker, J., Hertel, K., Parker, P., Edwards, J. 2011. *Procrop Lupin Growth & Development*. Australia, State of New South Wales through NSW Department of Industry and Investment (Industry & Investment NSW). District Agronomists. 84 p. ISBN 978 1 74256 059 5.
- Купцов, Н.С. 2001. *Стратегия и тактика селекции люпина*. Кормопроизводство, № 1, с. 8–12. ISSN 0235-2540
- Купцов, Н.С., Такунов, И.П. 2006. *Люпин: генетика, селекция, гетерогенные посевы*. Брянск, Клиницы «Белый город». 575 с. ISBN 5-88898-299-7.
- Курлович, Б.С., Станкевич, А.К. 1990. Внутривидовое разнообразие трех однолетних видов люпина (*Lupinus* L.). *Сборник научных трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции*, т. 135, с. 19–34. ISSN 0202-3628.



STABILIZATION BY SILICON COMPOUNDS OF THE ALLELOPATHIC SOIL REGIME UNDER PERENNIAL FRUIT PLANTATIONS

Zaimenko Nataliia, Pavliuchenko Nataliia*, Klymenko Svitlana, Dobroskok Vitaliy, Krupa Sergiy

M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

Received 25. 6. 2017

Revised 29. 6. 2017

Published 30. 11. 2017

To optimize the allelopathic soil regime under perennial fruit plantations of M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine the effect of silicon compounds on phytotoxic and biochemical properties of rhizosphere was examined. The organo-mineral mixture with nanoparticles of the natural siliceous mineral analcite was added (the norm of 500 kg/ha) in dark gray podzolized soil under 30-year-old fruit plantations from orchard areas. Soil samples were taken at a depth of 0–20, 20–40, 40–60 cm. Control for each fruit plant was soil without the silicon compounds. The biochemical state of the soil was evaluated by the redox potential (Eh) values. As a result of the addition of siliceous mixture to the soil its Eh increased in total 1.1–1.4 times, indicating a slowdown in the rate of accumulation of labile organic compounds involved in the phenomena of allelopathic interaction and post-action under the fruit plants. The lowest values of soil Eh were in the most enriched with organic matter upper horizon (0–20 cm) both in control and in the presence of silicon compounds. Phenolic allelochemicals concentration decreased in 1.1–3.1 times compared with the control in the soil with the addition of the mixture. The phenolic compounds content was the highest in the upper horizons and gradually decreased in the direction to the lower, which coincided with the revealed general course of redox processes for the investigated soil profiles. At the siliceous mixture influence, the ammoniac nitrogen amount increased, especially in the soil under the cornel, which may inhibit the synthesis of phenols and prevent phytotoxicity on condition of calcium accumulation. The allelopathic properties of the soil changed due to the improvement its biochemical characteristics by the siliceous mixture action. The growth-stimulatory effect in relation to acceptor plants at 8–55% in comparison with the control was observed. The obtained data showed the efficacy of the silicon compounds use for the reduction of soil sickness in orchards, which is resulted from a decrease in phenolic allelochemicals concentration and phytotoxicity, optimization of redox and nutrient regimes.

Keywords: siliceous mixture; soil sickness; perennial fruit plantations; allelopathic activity; phenolic compounds; redox potential

Introduction

The allelopathic soil regime is formed by the accumulation of plant exometabolites and products their transformation (Matveev, 1994). It is known that long-term cultivation of single-species fruit plantations can lead to soil sickness. This is especially true for allelopathically active plants that react negatively to their own products of vital functions in rhizosphere soil, in particular for apple, peach and Chinese magnolia vine (Мороз, 1995; Осипова, 2000).

***Corresponding author:** Nataliia Pavliuchenko, M.M. Gryshko National Botanical Garden of Ukraine of National Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine, ✉ npavliuch@gmail.com

One of the ways to solve the problem may be the use of silicon compounds, which improve the physical and chemical soil properties, also increase the plants resistance to adverse environmental factors (Guntzer et al., 2012; Заїменко та ін., 2015; Козлов и др., 2015).

The purpose of our work was to study the effect of the siliceous mixture on the phytotoxicity and biochemical processes on the horizons of the soil profile under perennial fruit plantations to optimize the allelopathic regime.

Materials and methodology

The organo-mineral mixture (nanoparticles of the natural siliceous mineral analcite and humus – 1 : 10) was added (the norm of 500 kg/ha) in dark gray podzolized soil under 30-year-old plantations of apple (*Malus domestica* Borkh.), peach (*Prunus persica* (L.) Batsch), cornelian cherry (*Cornus mas* L.) and Chinese magnolia vine (*Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill.) from orchard areas of M.M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine.

During the growing season, the allelopathic and biochemical analysis of the rhizosphere soil was conducted. Soil samples were collected in the following terms: I – for 2 months, II – 5 months after application of the siliceous mixture. Soil samples were taken at a depth of 0–20, 20–40, 40–60 cm. Control for each fruit culture was soil without the silicon compounds.

Allelopathic activity of the soil was studied by direct bioassay method on cress (*Lepidium sativum* L.) root growth (Гродзинский и др., 1990). The redox potential (Eh) and phenolic compounds content in the soil were determined (Гродзинский и др., 1988). Phenols were isolated from soil by ion exchange method (desorption) using ion exchanger KU-2-8 (H⁺). The mineral nutrients content was investigated using a modified method (Ринькис и Ноллендорф, 1982).

Experimental data were statistically analyzed using the software package Microsoft Excel.

Results and discussion

The biochemical state of the soil was evaluated by the redox potential (Eh) values. As a result of the addition of siliceous mixture to the soil its Eh increased in total 1.1–1.4 times, indicating a slowdown in the rate of accumulation of labile organic compounds involved in the phenomena of allelopathic interaction and post-action under the fruit plants. The lowest values of soil Eh were in the most enriched with organic matter upper horizon (0–20 cm) both in control and in the presence of silicon compounds. The direction of the redox processes remained unchanged in the soil under *Prunus persica* and *Cornus mas*: moderately and mainly weakly reduced accordingly. Silicon compounds changed the nature of the redox processes under *Schizandra chinensis* and *Malus domestica* from a moderately reduced to weakly reduced. This is more favorable for the course of humification, as well as the nutritional regime, the growth and development of plants (Husson, 2013).

Phenolic compounds determine the degree of humification, but at a certain stage, being in a mobile form, they can act as an allelochemicals and cause soil sickness, replanting problems in orchards (Li et al., 2010; Blum, 2014; Yin et al., 2016). It was found that the concentration of phenolic compounds decreased in 1.1–3.1 times compared with the control in the soil with the addition of the mixture. The same trend was observed when analcite was added to the soil of fruit plants in model experiment conditions (Кудренко та ін., 2011). The phenolic allelochemicals content was the highest in the upper soil horizons and gradually decreased in the direction to the lower, which coincided with the revealed general course of redox processes for the investigated soil profiles.

The anisotropy of the allocation of mineral nutrients in the vertical projection under the fruit cultures was investigated. The calcium concentration under *Cornus mas* was higher at 1.8–3.7 times in the control and in 1.3–5.0 times in the presence of the silicon compounds compared to other plant species. The mixture raised the calcium content under *Schizandra chinensis* in the 2nd term sampling in the horizons 0–20, 20–40 cm. At the siliceous mixture influence, the ammoniac nitrogen amount increased, especially in the soil under the *Cornus mas*, which may inhibit the synthesis of phenolic compounds and prevent phytotoxicity on condition of calcium accumulation.

The allelopathic properties of the soil changed due to the improvement its biochemical characteristics by the siliceous mixture action. The growth-stimulatory effect in relation to acceptor plants at 8–55% in comparison with the control was observed (Figure1).

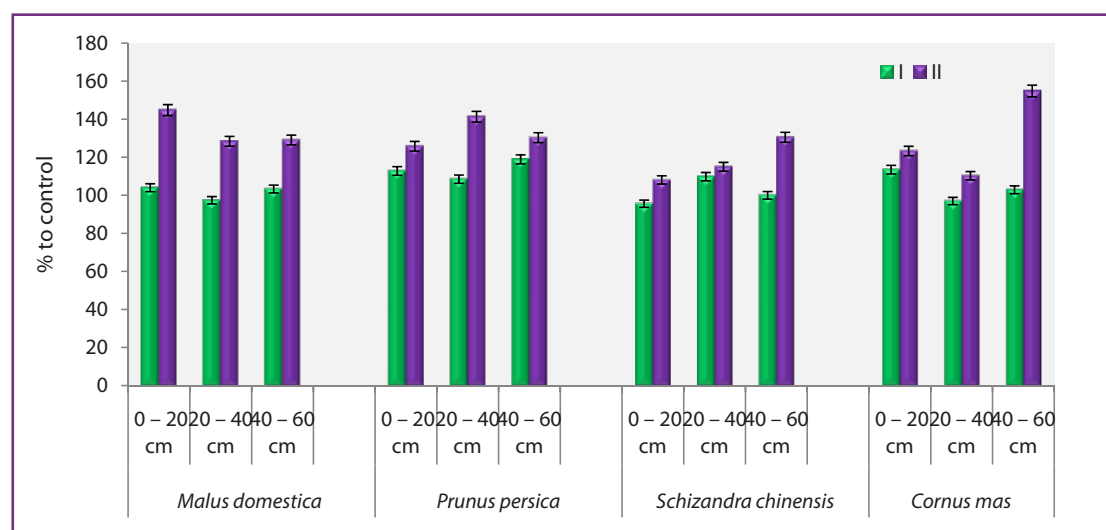


Figure 1 Allelopathic activity on the horizons of the soil profile under perennial fruit plantations, % to control: I – for 2 months; II – 5 months after addition of the siliceous mixture

This was more characteristic for the soil under the *Cornus mas* as an autotolerant culture than for autointolerant *Prunus persica*, *Malus domestica* and *Schizandra chinensis*. Among the last mentioned plant species, the use of the silicon compounds was more effective for optimization the allelopathic soil state under *Malus domestica* and *Prunus persica*.

Conclusions

The obtained data showed the efficacy of the siliceous mixture use for the reduction of soil sickness in orchards, which is resulted from a decrease in the phenolic allelochemicals concentration and phytotoxicity, optimization of redox and nutrient regimes. Further research should be aimed at searching secure, effective compositions based on silicon compounds to improve the allelopathic and biochemical characteristics of depleted soils in monoculture conditions. An alternative ways of improving the allelopathic soil regime in the orchards are multicomponent plantations and implementation schemes of crop rotation in horticulture.

References

- Blum, U. 2014. *Plant – Plant Allelopathic Interactions II. Laboratory Bioassays for Water-Soluble Compounds with an Emphasis on Phenolic Acids*. Springer International Publishing Switzerland. 322 p. DOI: [10.1007/978-3-319-04732-4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-04732-4)
- Guntzer, F., Keller, C., Meunier, J. 2012. Benefits of plant silicon for crops: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, vol. 32, no. 1, p. 201–213. DOI: [10.1007/s13593-011-0039-8](https://doi.org/10.1007/s13593-011-0039-8)
- Husson, O. 2013. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganisms systems: a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil*, 362, p. 389–417. DOI: [10.1007/s11104-012-1429-7](https://doi.org/10.1007/s11104-012-1429-7)
- Li, Z.-H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C.-D., Jiang, D.-A. 2010. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, vol. 12, no. 15, p. 8933–8952. DOI: [10.3390/molecules15128933](https://doi.org/10.3390/molecules15128933)
- Yin, C, Xiang, L, Wang, G, Wang, Y, Shen, X, Chen, X, Mao, Z. 2016. How to Plant Apple Trees to Reduce Replant Disease in Apple Orchard: A Study on the Phenolic Acid of the Replanted Apple Orchard. *PLoS ONE*, 11(12): e0167347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167347>
- Гродзинский, А.М., Горобец, С.А., Крупа, Л.И. 1988. *Руководство по применению биохимических методов в аллелопатических исследованиях почв*. Киев. 18с.
- Гродзинский, А.М., Кострома, Е.Ю., Шроль, Т.С., Хохлова, И.Г. 1990. Прямые методы биотестирования почвы и метаболитов микроорганизмов. *Аллелопатия и продуктивность растений*. Киев: Наук. думка, с. 121–124.
- Заїменко, Н.В., Дідик, Н.П., Іваницька, Б.О., Павлюченко, Н.А., Харитонова, І.П. 2015. Вплив кремнієвмісних сумішей на ріст проростків кукурудзи, алелопатичні та фізико-хімічні властивості субстрату за різного рівня його закислення. *Фізіологія рослин і генетика*, т. 47, № 4, с. 347–353.
- Козлов, А.В., Куликова, А.Х., Яшин, Е.А. 2015. Роль и значение кремния и кремнийсодержащих веществ в агроэкосистемах. *Вестник Мининского университета*, № 2. <http://vestnik.mininuniver.ru/reader/search/rol-i-znachenie-kremniya-i-kremniysoderzhashchikh/>
- Кудренко, І.К., Левон, В.Ф., Заїменко, Н.В., Мороз, П.А. 2011. Використання анальциму для зниження вмісту фенольних речовин у ґрунті під плодовими рослинами. *Інтродукція рослин*, № 3, с. 93–97.
- Матвеев, Н.М. 1994. *Аллелопатия как фактор экологической среды*. Самара: Книж. изд-во. 206с.
- Мороз, П.А. 1995. Екологічні аспекти алелопатичної післядії едификаторів садових фітоценозів: автореф. дис. ... докт. біол. наук. Дніпропетровськ. 51 с.
- Осипова, І.Ю. 2000. Алелопатичні особливості нових плодових культур: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Київ: Знання. 17 с.
- Ринькис, Г.Я., Ноллендорф, В.Ф. 1982. *Сбалансированное питание растений макро- и микроэлементами*. Рига: Зинатне. 304 с.