

ISSN 2450 – 8640

ACTA CARPATHICA

24

Rzeszów – Drohobycz, 2015

Redaktorzy: Jan Gąsior
Svitlana Voloshanska
Vasyl Lopushniak
Bernadeta Alvarez
Weronika Janowska-Kurdziel
Dorota Grabek-Lejko
Grygoriy Konyk
Grygoriy Sediło
Vasyl Stachiv
Vitalii Fil
Mariia Fedoriak
Volodymyr Nikorych
Nataliia Hoivanovych

Opracowanie redakcyjne i korekta: Zespół Projektowy

Wydawca: Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii
Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego
ul. M. Ćwiklińskiej 2
35-601 Rzeszów
Polska

wspólnie z Wydział Biologia i Przyrodniczych Nauk Uniwersytetu
Pedagogicznego w Drohobyczu
ul. T. Szewczenka 23
82-100 Drohobycz
Ukraina

ISSN 2450-8640
ISBN 978-617-7401-49-9

Skład, łamanie, druk i oprawa: PP «Posvit», ul. I. Mazepy, 5
82-100 Drohobycz

Nakład 100 egz.

CONTENS / ЗМІСТ

Galyna Krechkivska, Svitlana Voloshanska, Angelika Ivasivka

| | |
|--|----|
| The researches of soil microorganisms on the dumps of Borislav ozokeryt field | 7 |
| Дослідження ґрунтових мікроорганізмів відвалів Бориславського озокеритового родовища | 13 |

Vasyl Lopushniak, Mariia Avhustynovych

| | |
|--|----|
| Effect of humic fertilizers on nitrogen content in plants and productivity of spring triticale in the western forest-steppe of Ukraine | 15 |
| Вплив гумінових добрив на вміст азоту в рослинах та продуктивність тритикале ярого в західному лісостепу України | 23 |

Galyna Panakhyd, Grygoriy Konyk

| | |
|---|----|
| The role of weather conditions on productivity and biodiversity of grassland in the Western Ukraine | 25 |
| Вплив погодних умов на продуктивність та біорізноманіття травостоїв в Західній Україні | 37 |

Małgorzata Nazarkiewicz, Janina Kaniuczak, Edmund Hajduk

| | |
|---|----|
| Occurrence of geothermal resources and using them in Poland and in Podkarpacie region | 39 |
| Występowanie zasobów geotermalnych i ich wykorzystanie w Polsce i na Podkarpaciu | 44 |

Andrii Dziubailo, Mariia Holovchuk, Viktor Senkiv

| | |
|--|----|
| Dynamics of photosynthesis for soybean depending on the cultivation technology | 45 |
| Динаміка фотосинтезу сої залежно від технології вирощування | 51 |

Taras Kavetsky, Rovshan Khalilov, Aygun Nasibova, Vladimir Serezhnikov, Svitlana Voloshanska

| | |
|--|----|
| EPR spectroscopy study of <i>juniperus communis</i> of carpathian region of Ukraine | 53 |
| Дослідження ялівцю звичайного карпатського регіону України методом спектроскопії ЕПР | 58 |

Halyna Viniarska, Oksana Bodnar, Vasyl Grubinko

| | |
|---|----|
| Effects of selenite on photosynthetic activity and energy metabolism of <i>Chlorella Vulgaris</i> beij. (chlorophyta) | 59 |
| Вплив селеніту на фотосинтезну активність та енергетичний обмін у <i>Chlorella Vulgaris</i> beijer | 67 |

Vasyl Grubinko, Anzela Lutsiv, Kateryna Kostyuk

- Structural reconstruction of membrane at absorption of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} by unicellular green algae *Chlorella vulgaris* Beijerinck 69
- Структурна перебудова мембрани при поглинанні Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} одноклітинною зеленою водорістю *Ch. vulgaris* Beijerinck 79

Olena Barabash

- Combination of approaches of management for effective introduction and functioning of the environmental management system 81
- Поєднання підходів управління для результативного впровадження і функціонування системи екологічного менеджменту 88

Marcin Dziura, Bernadeta Alvarez

- Permanent grassland in the Polish Carpathians 89
- Trwałe użytki zielone w Polskich Karpatach 95

Інна Грод, Любов Шевчик

- Оцінка таксономічного різноманіття колекції ряду горобцеподібні (*Passeriformes*) фондів кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка ... 97
- Evaluation of taxonomic diversity of the bird collection of the order *passeriformes* of zoological funds of the department of botany and zoology of Ternopil Volodymyr Hnatiuk national pedagogical university 105

Mateusz Rybak, Anita Pajczek, Łukasz Peszek, Natalia Kochman-Kędziora, Teresa Noga, Jadwiga Stanek-Tarkowska

- The occurrence of *fallacia lenzi* (hust.) Lange-Bert. in south-eastern Poland . 107
- Występowanie *fallacia lenzii* (hust.) Lange-Bert. w południowo-wschodniej Polsce 111

Ірина Суходольська

- The role of *tupha angustifolia* L. in the change of ammonium content in the rivers with different anthropogenic pressure levels 113
- Роль *tupha angustifolia* L. у зміні вмісту амонію у річках з різним рівнем антропогенного навантаження 118

Olena Prokopchuk, Vasyl Grubinko

- The content of phosphorus in the hydroecosystem of small river and its relationship with phytoplankton growth 119
- Вміст фосфору в гідроєкосистемі малої річки і його зв'язок з розвитком фітопланктону 126

Iryna Bryndzia

- Role of bryophytes in the metabolism of nitrogen 127
- Роль мохоподібних у метаболізмі нітрогену 133

Olha Demkiv, Halyna Klepach, Galina Gayda, Mykhailo Gonchar

| | |
|---|-----|
| Methods of formaldehyde assay in vaccines | 135 |
| Методи аналізу формальдегіду у вакцинах | 145 |

Зоя Селюніна

| | |
|---|-----|
| Динаміка чисельності малої білозубки (<i>Crocidura suaveolens</i>) на ділянках чорноморського біосферного заповідника | 147 |
| Dynamics of lesser white-toothed shrew (<i>Crocidura suaveolens</i>) in areas of the black sea biosphere reserve | 151 |

Andriy-Taras Bashta, Markus Dietz, Ivan Grizyuk, Nelya Koval, Ivan Koliadzyn, Andriy Kotubey, Yuriy Petrychuk, Vasyl Pryndak, Zina Riznychenko, Yiruy Tiukh

| | |
|--|-----|
| Results of the 1st year of ultrasound monitoring of bats (<i>Chiroptera, Vespertilionidae</i>) in National Nature Parks of the Ukrainian Carpathians ... | 153 |
| Результати 1-го року моніторингу рукокрилих (<i>Chiroptera, Vespertilionidae</i>) в НПП Українських Карпат | 158 |

Наталія Голуб, Ярослава Черник

| | |
|--|-----|
| Дослідження комплексного впливу рентгенівського опромінення та кофеїну на частоту мутування у <i>Drosophila melanogaster</i> | 159 |
| Study of the combined effect of x-rays and caffeine on mutation rate in <i>Drosophila melanogaster</i> | 165 |

Людмила Пісоцька, Наталія Глухова, Наталія Евдокименко, Людмила Сабліна

| | |
|--|-----|
| Використання методу кірліанофотографії в оцінці неспецифічних реакцій адаптації організму людини | 167 |
| The use of the method of kirlian photography in the evaluation of nonspecific adaptation reactions of the human body | 176 |

Юрій Похилько, Наталія Кравченко

| | |
|--|-----|
| Бактерії роду <i>Lactobacillus</i> , виділені зі шлунково-кишкового тракту кроля, як основа пробіотичного препарату для лікування та профілактики сальмонельозних інфекцій | 177 |
| Bacteria of the genus <i>Lactobacillus</i> , isolated from the gastrointestinal tract of rabbits, as the basis of probiotic for prevention and treatment salmonella infections | 183 |

Vasyl Stakhiv, Roman Kravtsiv, Grygoriy Kossak, Mykola Shpek

| | |
|---|-----|
| Biological features and harmfulness of <i>Heracleum Sosnowskyi</i> | 185 |
| Біологічні особливості та шкідливість борщівника сосновського (<i>Heracleum Sosnowskyi</i>) | 190 |

Святослав Фарафонов

- Вплив щільності постановки тварин на особливості формування, етологічних чинників та біохімічних показників крові телят на підсисі волинської м'ясної породи **191**
- Influence of the density of production animals on peculiarities of formation, ethological factors and biochemical parameters of blood of calves at pdsi volyn meat **196**

Людмила Слободян

- Порівняльний аналіз синантропної флори України та техногенних екотопів на прикладі відвалів озокеритовидобутку в м. Бориславі **197**
- Comparative analysis for the synanthropic flora in Ukraine and at technogenic ecotopes using the example of ozokerite mining dumps in Boryslav **203**

Oksana Protsyshyn, Anna Voloshanska

- Formation of competitive environment and competition development in tourist and recreation area of Truskavets **205**
- Формування конкурентного середовища та розвиток конкуренції у туристично-рекреаційному секторі курорту Трускавець **212**

Lesya Koltok

- Teaching of ecological culture of pupils in primary school through technology health safety **213**
- Формування екологічної культури молодшого школяра через здоров'язбережувальні технології **216**

Nadiia Stetsula, Svitlana Pavliukh

- Through ecological education to the ecological culture **217**
- До екологічної культури через екологічну освіту **222**

Małgorzata Bąk, Weronika Janowska-Kurdziel

- Forms of support for the foster families on the actions taken by team for the organization of the foster care system by social welfare centre in Rzeszów . **223**
- Formy wsparcia dla rodzin zastępczych w zakresie działań podejmowanych przez zespół do spraw organizacji systemu opieki foster od miejskiego ośrodka pomocy społecznej w Rzeszowie **229**

Galyna Krechkivska, Svitlana Voloshanska, Angelika Ivasivka
 Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University
 e-mail: bioddpu@ukr.net

THE RESEARCH OF SOIL MICROORGANISMS ON THE TERRITORY OF BORYSLAV OZOKERITE DEPOSIT DUMPS

Abstract. Authors investigated bacteriological state of mine dumps of Boryslav ozokerite deposits. Research investigations have shown that bacteriological state of dumps is unsatisfactory. Boryslav ozokerite dump soils are various bacteria depot. Special microbial cenosis are formed on each specific area. These cenosis have their own well-defined structure.

Different bacteria groups, such as saprophytes, microscopic fungi, nitrifying bacteria, oligonitrophilic bacteria, sulfate-reducing bacteria, colorless sulphide-oxidizing bacteria, were extracted from seven soil samples. The article examines morphological, physiological and biochemical characteristics of mentioned bacteria group. Germ cultures are represented by *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, and *Cytophaga*, which were extracted basing on their morphophysiological and biochemical characteristics.

Key words: Boryslav, soils, microorganisms.

INTRODUCTION

The soil is the habitat of many microorganisms [10]. Vital activity of microorganisms in the soil provides the complex of physical, chemical and biological factors [1] that shape certain soil conditions. Microorganisms react to the changes of abiotic factors, such as temperature, humidity, pH of soil solution, composition of soil air, content of chemical elements.

In particular, the draining inhibits the mineralization of organic residues, reduces the amount of biologically active compounds, suppresses the activity of nitrogen [19]. Boggy soil inhibits the vital activity of aerobic microorganisms [6], and is dominated by anaerobic processes [20]. Such anaerobic processes as denitrification have negative outcomes and lead to the loss of nitrogen compounds and sulfate reduction, and, consequently, toxic hydrogen sulfide accumulates in the soil [3, 8]. At the same time, in anaerobic conditions, such toxic products as volatile fatty acids, ethylene, ammonia, ferrous iron, and methane accumulate in the soil [18.].

Heterogeneity is considered a significant feature of the soil as a habitat of microorganisms. Soil ground is divided on zonules and has many microbial niches. Mikrozonalnost is determined by the local ingress of organic residues, placing of the root hairs, various pH value [14,15]. Different and sometimes incompatible processes – aerobic and anaerobic, autotrophic and heterotrophic, which occur at low and high pH meanings – happen due to soil zonules. Any process that occurs in the soil, is the cyclic process, and is implemented by different forms of microorganisms [13]. It is important to note that the principle about two species that cannot occupy the same ecological niche in the ecosystem is not typical for the soil.

The aim of the article is to study soil microorganisms on the dumps of Boryslav ozokerite deposits.

MATERIALS AND METHODS

The research on the soil microfauna peculiarities was held on the territory of Boryslav town. Authors have selected four areas (I, II, III, IV), which were distinguished by the time period and vegetation cover. There had been 7 test zones selected at these areas. Test zone 1 had been chosen as a reference area. It was characterized by high enough aeration of the soils, good hydrological regime, swelling and thick vegetation cover. Various conventional bacteriological methods of investigation were used to identify the soil micro fauna [17].

The article examines floral and faunal complexes of seven tested dump zones with various level of anthropogenic load and different environmental conditions [12].

The age of some dumps ranges from 70 to 155 years. They are the oldest dumps of ozokerite field (area number 1).

Area number 1. It is characterized by high enough aeration of the soil and good hydrological regime. The process of soil formation is still continuing. Long-rooted species (representatives of such families as family *Poaceae*, *Fabaceae*, *Cyperaceae*) occupy a significant place in the plant communities of the first rashes. They form groups of plants on the large areas as a result of breeding. Invertebrate species are represented by the following: *Nicodrilus roseus*, *Allolobophora caliginosa caliginosa*, *A. Rosea rosea*, *Dendrobaena octaedra*, *Lumbricus rubellus*, *Apis mellifera*, *Formica rufa*, *Lasius niger*, *Coccinella septempunctata*, *Carrabus cancelatus*, *Lacerta agilis* [11].

On the second layer, formed during the 1920 – 1950s, authors studied two sections. It was found that the soil-creating processes occurred in two ways: the first – natural growing (area number 2), the second – agricultural use (area number 3).

Area number 2. Characterized by potassium-podzolic, gley, argil sand, middle-stoned soils. Vegetative cover is formed by the groups of *Achillea millefolium L.*, *Calamagrostis epigeios L.*, *Trifolium pratense L.*, *Dactylis glomerata L.*, *Taraxacum officinale Wigg.*, *Tussilago farfara L.* The number of ecotopes – earthworms – is small (32 animal units in 1 m²), but there are more types of worms, such as *Lumbricus terrestris*, *Nicodrilus roseus*, *Helicella obvia L.*, *Dolomedes fimbriatus*, *Decticus verrucivorus*, *Aphrophora alni*, on dryer zones of the soil. These ecotopes are dominated by meadow ants (*Formica pratensis Retz.*), whose number sometimes reaches 84 animal units in 1 m². Units of this species are an important component of meadow communities [11, 12].

Area number 3. 80% of this area consists of cultural phytocenoses. Soil cover is loose (crumbly), light-stoned. Vegetation is characterized by crops. Main species are presented in four categories (58 animal units in 1 m²): *Lumbricus terrestris*, *L. rubellus*, *L. castaneus*, *A. rosea*.

The third layer was formed during 1951 – 1982. The humidity (area number 4) and the presence of trash (area number 5) is typical for it.

Area number 4. The presence of hydrophytic species is growing : *Carex distans L.*, *Juncus articulatus L.*, *Phragmites australis L.* and others among them. There is one type of rain worms present, *Eiseniella tetraedra*, whose number is small. In such ecotopes dominate meadow ants (*Formica pratensis Retz.*), their number sometimes reaches 108 animal units in 1 m² [11, 12].

Area number 5. The greatest diversity of invertebrates. Besides the two kinds of rain worms, such species as *Eiseniella tetraedra*, *Eisenia foetida*, insects, arachnids, crustaceans, mollusks and others live on the trash lang. In this area there is a rare vegetation of the *Cyperaceae* and *Poaceae* families.

The fourth soil layer (1983 – 1990), age ranges from 20 to 27 years, is characterized by the presence of different ecotopes, thin grass cover, *Hippophae rhamnoides* (area number 6) and bare substrate (area number 7).

Area number 6. Vegetative cover is represented by the *Hippophae rhamnoides*. Loamy soil water regime is fickle, soil moisture and aeration is unstable, an accumulation of organic matter is pure. All this factors does not lead to the spread of rain worms population. On this layer rain worms are not found, rarely *Araneus diadematus*, *Lasius niger*, *Formica rufa* are found.

Area number 7. The territory of this area is characterized by a substrate, not represent by flora and fauna. Soil cover is formed by stoned-loamy, water-holding and salted soils with parts of wood.

RESULTS AND DISCUSSION

Different groups of microorganisms were selected from seven soil samples. Results of the study are represented in the Table 1.

Table 1. The main physiological groups of microorganisms in investigated areas

| Microorganism groups | Number of microorganisms and colony forming units per 1g of the soil | | | | | | |
|--------------------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Sample number | | | | | | |
| | area №1 | area №2 | area №3 | area №4 | area №5 | area №6 | area №7 |
| Saprophytes | 98,6±0,8 | 113,5±1,4 | 314,9±2,3 | 13,7±0,2 | 445,8±3,9 | 87,7±1,2 | 15,5±0,2 |
| Microscopic fungi | 12,02±0,8 | 8,3±0,5 | 4,6±0,2 | 11,5±0,4 | 26,3±0,2 | 16,1±0,4 | 8,8±0,2 |
| Cellulosolytic microorganisms | 0,0005±0,00009 | 0,0006±0,00007 | 0,0005±0,00006 | 0,0004±0,00002 | 0,0003±0,00004 | 0,0005±0,00001 | 0,0002±0,00005 |
| Nitrification bacteria | 10,3±0,6 | 12,2±0,3 | 14,4±0,4 | 11,7±0,2 | 15,1±0,7 | 12,1±0,5 | 5,1±0,3 |
| Oligonitrification bacteria | 28,2±0,9 | 21,1±0,8 | 48,3±0,6 | 29,3±0,7 | 39,9±0,4 | 31,3±0,2 | 18,3±0,6 |
| Sulfate-reducing bacteria | 1,6±0,01 | 2,2±0,05 | 2,5±0,02 | 2,3±0,03 | 2,9±0,03 | 1,8±0,06 | 1,3±0,04 |
| Colorless sulfur bacteria | 1,5±0,05 | 1,7±0,02 | 1,9±0,04 | 1,2±0,03 | 1,8±0,04 | 1,6±0,03 | 1,3±0,02 |

The most of saprophyte micro flora is found in soils of the area №5 and agricultural area №3. Almost the same number of saprophytes in the soil was highlighted in areas № 1, № 2, № 6, which are characterized by thick grassy and woody vegetation. The lowest number of saprophytic micro flora had been examined in areas №4 and №7. These are the types of water-holding and salty soils. The number of microscopic fungi in the studied soils varied within $4,6 \pm 0,2 - 26,3 \pm 0,2$ mln cells per 1g of the soil. The number of nitrification bacteria was the highest in areas №5 and №3 and presented $15,1 \pm 0,7$ and $14,4 \pm 0,4$ mln cells per 1g of the soil.

A number of selected oligo-nitrophiles bacteria was higher. So, in the soil on the area number 3 were found $48,3 \pm 0,6$ mln cells per 1g of the soil. Colorless and sulphate-reducing bacteria were at the same level.

Morphological characteristics of selected colonies are presented in the Table 2.

Table 2. Morphological characteristics of colonies of the selected microorganism cultures

| Number of colony | Environment | Form of colonies | Edges of colonies | Color of colonies | Structure of colonies | Diameter of colonies | Appearance under the microscope |
|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|----------------------|---------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 1 | Meat peptone agar | round | equal | white transparent | slime | 1-2 | sticks, coca |
| 2 | Meat peptone agar | round | equal | yellow | homogeneous | 1-2 | coca |
| 3 | Meat peptone agar | round, convex | equal | white matt | homogeneous | 0,2-0,5 | sticks |
| 4 | Meat peptone agar | lange | not equal | matt | homogeneous | 10-12 | large bacilli |
| 5 | Serum agar | round, oval | not equal | light-cream | slime | 2-5 | large rounded |

| | | | | | | | |
|----|-------------------|---------------|----------------------|-------------------------------|-----------------|-----|-------------------------------|
| 6 | Serum agar | large, convex | wavy | white matt with darker centre | homogeneous | 3-7 | long sticks |
| 7 | Ashby medium | round | equal | white | homogeneous | 1 | small sticks |
| 8 | Ashby medium | round | equal | matt | finely-granular | 1-2 | sticks |
| 9 | Vinogradsky | convex | round | transparent | slime | 2-4 | sticks |
| 10 | Vinogradsky | round, convex | equal, slightly wavy | bright yellow | homogeneous | 2-5 | sticks with exacerbated ends |
| 11 | Vinogradsky | round | equal | white brilliant | finely-granular | 2-4 | small sticks, placed in pairs |
| 12 | Hetchenson pepton | convex | equal | yellow | homogeneous | 2-3 | thin sticks |

The next stage of research was to study morphological and physiological properties of isolated microorganisms.

The main morphological and physiological characteristics of bacteria are: the cell mobility, the presence of spores, the presence of capsules, reaction to oxygen, Gram's stain, growth on the potato medium, growth in liquid medium, pigment formation, temperature optimum.

The results of the studies are listed in the Table 3.

For descriptions and identification of microorganisms authors used some features of their metabolism, manifested in the ability of the investigational organism to grow on the diagnostic environment media, thus causing a certain transformation of substances and components.

Table 3. Morphological and physiological characteristics of certain microorganisms

| Number of culture crop | Mobility of cells | Availability of spores | Availability of capsules | Reaction to oxygen | Gram's stain | Growth on the potato medium | Growth in liquid medium | Pigment formation | Temperature optimum, °C |
|------------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|--------------------|--------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | + | - | - | + | + | + | thin layer | - | 20-30 |
| 2 | - | - | - | + | + | - | clouding | yellow-brown | 25 |
| 3 | + | + | - | + | + | + | clouding | - | 30 |
| 4 | + | + | - | + | + | + | clouding | - | 20 |
| 5 | - | - | - | + | + | + | clouding | - | 20-27 |
| 6 | + | + | - | + | + | + | clouding | - | 25 |
| 7 | + | - | - | + | + | - | thin layer | - | 20-30 |
| 8 | + | - | - | + | - | + | thin layer | yellow | 4-43 |
| 9 | - | + | - | + | + | - | thin layer, clouding | - | 20 |
| 10 | + | - | - | + | - | + | clouding | yellow | 20-35 |
| 11 | - | + | - | + | + | + | clouding | yellow | 25 |
| 12 | + | - | - | + | + | - | clouding | yellow | 30 |

Authors analyzed: growth on the glucose medium (controlling the character of the growth, gas formation and changes in pH environment), dilution of gelatin, formation of ammonia (for microorganisms deaminizing amino acids), formation of hydrogen sulfide (for microorganisms, that in the metabolism process use amino acids), recovery of nitrates (nitrate to nitrite restore the microorganisms that synthesize nitrite reductase and use nitrates as a source of nitrogen supply), effect on a milk (the growth of microorganisms in milk is caused by digestion of lactose, casein proteolysis, or this two processes together), catalase activity (for aerobic microorganisms).

The results of the research are presented in the Table 4.

Table 4. Physiological and biochemical characteristics of studied culture crops

| Number of culture crops | Grown in the medium with glucose | Dilution of gelatin | Formation of ammonia | Formation of hydrogen sulphide | Recovery of nitrates | Action on milk | Catalase activity |
|-------------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 1 | acidic | + | - | + | - | coagulation, pH sour | + |
| 2 | acidic | + | - | + | + | peptonization | - |
| 3 | acidic | + | - | + | - | peptonization | + |
| 4 | acidic | + | - | + | + | peptonization | + |
| 5 | acidic | - | - | - | - | peptonization | + |
| 6 | acidic | - | - | + | - | coagulation | + |
| 7 | acidic | + | + | - | + | coagulation | + |
| 8 | acidic | + | + | - | + | coagulation | + |
| 9 | acidic | + | + | + | - | coagulation, pH sour | + |
| 10 | acidic | - | + | - | - | peptonization | - |
| 11 | acidic | - | - | - | - | peptonization | - |
| 12 | acidic | + | - | - | + | coagulation | + |

The study of physiological and biochemical properties of bacterial culture crops was conducted within seven days including a check every 24 hours .

Using Berdzhik key [7] selected bacterial cultures were assigned to these genera (Table 5).

Table 5. Systematic position of selected bacterial culture crops

| Number of culture | Genus |
|-------------------|------------------------|
| 1 | <i>Arthrobacter</i> |
| 2 | <i>Micrococcus</i> |
| 3 | <i>Bacillus</i> |
| 4 | <i>Pseudomonas</i> |
| 5 | <i>Azotobacter</i> |
| 6 | <i>Corynebacterium</i> |
| 7 | <i>Cytophaga</i> |
| 8 | <i>Nitrobacter</i> |
| 9 | <i>Cellulomonas</i> |

So, the studied soils it were classified into 9 genera of bacteria.

CONCLUSIONS

Distribution and development of microorganisms in the studied areas of the dumps of Borislav ozokeryt deposited is characterized by the following features:

1. Saprophytic micro flora dominates in areas №5 (natural landscape) and №3 (agricultural lands used by people). The lowest number of units was fixed in the areas №4 and №7 with water-holding and salty soils.

2. Among the saprophytic micro flora of the investigated samples the most numerous are oligo ntyrophilic bacteria ($48,3 \pm 0,6$ mln cells per 1g of the soil).

3. Bacterial culture groups of the samples are represented by such genera as *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Nitrobacteria*, *Cytophaga*.

REFERENCES

1. Aandow DA, Hilbeck A, Van Tuat Nguyen, (Eds). 2008: Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms, Volume 4, Challenges and Opportunities with Bt Cotton in Vietnam Wallingford: CABI Publishing.
2. Araújo S. F., Santos V. B., Monteiro R. T. R. 2008. Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in Piauí state, Brazil. Eur. J. Soil Biol. 44, (2), 225.
3. Chowdhury N., Burns R. G., Marschner P. 2011. Recovery of soil respiration after drying. Plant Soil 348, (1–2), 269.
4. Dunn, P.H., Barro, S.C., Poth, M. 1985. Soil moisture affects survival of microorganisms in heated Chaparral soil. Soil Biology and Biochemistry 17, 143–148.
5. Harper Y.J. 1939. The effect of natural gas the growth of microflora / Y. J. Harper. Soil Sci., V. 48, 54–56.
6. Harwood C. S. 1999. Mega roles of microorganisms / C. S. Harwood, E. P. Greenberg // Science. – V. 286, № 5442. 1096.
7. Holt J. 1997. The determinant of bacteria Burgi. Vol. 2 / J. Holt, N. Krill, P. Cinta. Moscow: Mir, – 800 p.
8. Kallenbach C., Grandy A. S. 2011. Controls over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems: A meta-analysis. Agr. Ecosyst. Environ. 144, (1), 241.

9. Kennedy A.C. 1997. Soil microbial diversity: Present and future considerations / A. C. Kennedy, V. L. Gewin // *Soil Sci.* 162, № 9. 607–617.
10. Koinig H., Varma A. 2006. *Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 475s.
11. Krechkivska G. 2007. Garbages earthworms of Borislav ozokerit source (Lviv region) // *Herald of Lviv university. Biology.* Vol. 44, 52 – 56.
12. Krechkivska G. 2009. Role of rain worms and microorganism in recultivation of soil which is muddy by oil its derivatives / G. Krechkivska // *Materialy Jubileuszowej V Ogolnopolskiej Mlodziejowej Konferencii Naukowej. Mlodzi naukowcy – praktyce rolniczej. «Nauki rolnicze w rzeczywistosci spoleczno-gospodarczej w wspolczesnych obszarow wiejskich».* – Uniwersytet Rzeszowski, 21 – 23 kwietnia. 94–97.
13. Lyuta V.A, Kononov O.V. 2006. *Microbiology of microbiological research techniques and fundamentals of Immunology.* – Kyiv: Zdoroviya, 65 – 103.
14. Onant R. T., Dalla-Betta P., Klopatek C. C., Klopatek J. M. 2004. Controls on soil respiration in semiarid soils. *Soil Biol. Biochem.* 36, 945.
15. Rockett B. F. T., Prescott C. E., Grayston S. J. 2011. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol. Biochem.* 44, (1), 9.
16. Rudavska G. B. 2005. *Mikrobiologiya / GB Rudavska, L. I. Demkevich // Pidruchnik.* Kiev: The natsionalny torgovelnno-ekonomichny University, 113–120.
17. Rudenko S.S., Kostyshyn S.S., Morozova T.V. 2008. *General Ecology. Practical Course: Manual. Urboekosystemy.* Chernivtsi, 342 .
18. Vekirchik K. M. 2001. *Microbiology of the basics of virology. Textbook.* Kyiv: Lybid, 312.
19. Jaworska G.V., Hudz' S.P., Hnatush S.O. 2008. *Industrial microbiology.* Lviv, 256.
20. Ziadowiec H. 1993. Ecological role of soil humus. *Z. Pr.Post. N. Roln.* 411, 269. [In Polish].

АНОТАЦІЯ

ДОСЛІДЖЕННЯ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА ВІДВАЛАХ БОРИСЛАВСЬКОГО ОЗОКЕРИТОВОГО РОДОВИЩА

Ґрунт є середовищем існування численних мікроорганізмів. Життєдіяльність мікроорганізмів у ґрунті зумовлена комплексом фізичних, хімічних, біологічних факторів, які формують певні едафічні умови. Мікроорганізми чутливо реагують на зміни абіотичних факторів, основними з яких є температура, вологість, рН ґрунтового розчину, склад ґрунтового повітря, вміст хімічних елементів.

Перезволоження ґрунту пригнічує життєдіяльність аеробних мікроорганізмів, внаслідок чого переважають анаеробні процеси. Негативні наслідки мають такі анаеробні процеси, як денітрифікація, що веде до втрат азотних сполук, а також сульфатредукція, внаслідок якої у ґрунті нагромаджується токсичний сірководень.

Дослідження особливостей ґрунтової мікрофауни проводились на території міста Борислав. Для дослідів були відібрані чотири пробні площі (I, II, III, IV висипи), які різняться за віком та рослинним покривом на них. На цих пробних площах досліджено 7 ділянок. Контрольною була ділянка №1, що характеризується достатньо високою аерацією ґрунтів, добрим гідрологічним режимом, розпушеністю та густим рослинним покривом.

Із семи зразків ґрунту були виділені різні групи мікроорганізмів, а саме: сапрофіти, мікроскопічні гриби, целюлозорозкладаючі мікроорганізми, нітрифікатори, олігонітрофіли, сульфатвідновлюючі та безбарвні сіркоокислюючі бактерії.

Найбільше сапрофітної мікрофлори виявлено у ґрунтах на місці вивозу сміття (ділянка № 5) та сільськогосподарській ділянці (№ 3). Практично на одному рівні була виділена кількість сапрофітів у ґрунтах на ділянках № 1, № 2, № 6, що характеризуються густою трав'янистою та дерев'янистою рослинністю. Найнижча кількість сапрофітної мікрофлори була на ділянках № 4 та № 7. Це перезволожені та засолені типи ґрунтів. Кількість мікроскопічних грибів у досліджуваних ґрунтах коливалась в межах $4,6 \pm 0,2$ – $26,3 \pm 0,2$ млн. клітин/г ґрунту. На такому ж рівні виділялися з досліджуваних ґрунтів нітрифікатори. Найбільша їхня кількість була у ґрунтах на ділянках № 5 та № 3 і становила відповідно $15,1 \pm 0,7$ та $14,4 \pm 0,4$ млн. клітин/г ґрунту.

Значно більше було виділено олігонітрофільних бактерій. Так у ґрунті на ділянці № 3 виявлено $48,3 \pm 0,6$ млн. клітин/г ґрунту. Безбарвні сіркоокиснюючі та сульфатвідновлюючі бактерії були на однаковому рівні.

Вивчено біохімічні властивості виділених бактерій. На основі фізіо-біохімічних ознак було виділено бактеріальні культури, що представлені такими родами: *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, *Cytophaga*.

Досліджено бактеріологічний стан шахтних відвалів Бориславського озокеритового родовища. У результаті досліджень з'ясовано, що бактеріологічний стан відвалів є незадовільним. Ґрунтовий покрив відвалів Бориславського озокеритового родовища є депом різноманітних бактерій. На кожній конкретній ділянці формуються своєрідні мікробні ценози. Ці біоценози завжди мають визначену структуру.

Vasyl Lopushniak¹, Mariia Avhustynovych²

¹Lviv National Agrarian University,

²Lutsk Biotechnical Institute of PHEE “International Scientific-Technical University named after Yuriy Buhai”

e-mail: Vasyl2016@i.ua

EFFECT OF HUMIC FERTILIZERS ON NITROGEN CONTENT IN PLANTS AND PRODUCTIVITY OF SPRING TRITICALE IN THE WESTERN FOREST-STEPPE OF UKRAINE

Abstract. The article reveals aspects of effect, made by application of humic fertilizers, on absorption of nitrogen by plants, protein content in grain and productivity of spring triticale agrocoenosis.

Under conditions of the Western Forest-steppe of Ukraine, on grey forest soils, we have proved regularity of increase of the value of spring triticale yield, depending on weight of grain, regardless of its cultivar. Better nitrogen supply does not just secure higher content of protein in plants in the whole vegetative period, but also results in better indicators of productivity of spring triticale agrocoenosis. The highest indicators of grain plumpness and value of yield were demonstrated by the variant, where humic fertilizer was applied with manure (5 t/ha of each) and mineral fertilizers in the norm $N_{40}P_{27}K_{48}$. In the variant, weight of 1000 grain was higher and made 41,6 and 39,1 g of Oberih Kharkivskyi and Losynivske cultivars respectively, that exceeded corresponding indicators of the variant without application of fertilizers by 9,4 and 7,2 g. It secured yield at the level of 5,8 t/ha or exceeded indicators of the control variant by 2,7 t/ha, protein yield – almost 0,7 t/ha, that was by 0,34 – 0,35 t/ha or by 50 % more than in the variant with no fertilizers applied.

Key words: spring triticale, nitrogen, humic fertilizers, protein, productivity.

INTRODUCTION

Soil continuum is a determining component of natural environment and a key element of a complex of natural resources of agrarian sphere.

Fertility is the most important property of soil. In the process of employment, the property is transformed into economic efficiency. Rational use and protection of soil continuum is scientifically and economically important issue [12].

Application of agrochemical agents, being important component for increase of agrocoenosis productivity, is an essential direction to rise efficient soil fertility.

Efficiency of agrochemical agents is influenced by many factors, including water supply of soil. Western Forest-steppe geographically borders on the area of Carpathians, which gets more precipitation at the level of indicators of 1,5 – 2,4 hydrothermal index in vegetative period. However, in different years the indicator varied in a wider range of values [12]. Thus, at the area, application of fertilizers substantially effects indicators of biological productivity of agrocoenosis, making positive impact on agro-ecological stability of soil continuum.

Lately in Ukraine, one has observed a persistent tendency to increase of the amount of applied mineral fertilizers at the level of 82 kg/ha of planting area in active substance, particularly under cereals – 93 kg/ha [11]. However, the amount of fertilizers is much lower than the level of fertilizers application in the countries with developed agriculture and insufficient to secure self-supporting balance of nutrients in soil and rise of ecological resistance of soil continuum to degradation processes. In the last 10 year, application of organic fertilizers in agrocoenosis of Ukraine is also insufficient and does not exceed 0,4 – 0,5 t/ha in terms of

conditional manure, according to ecologically argued norms of application, i.e. 10 – 12 t/ha. It is connected with a considerable deficiency of organic fertilizers in arable farming of Ukraine.

Application of non-traditional kinds of fertilizers, particularly humic ones, produced by the method of dispergation of organic sapropel, can partially solve the problem of organic substances supply in arable farming. Technology of humic fertilizer production is reserved by appropriate documents [3].

Organic and organic-mineral sapropel is considered the best raw material for production of humic fertilizers, as it is characterized with ash content of not more than 50 % and share of organic substance within 50 – 94 % [14].

The production gives humic fertilizer of pasty texture with nitrogen content at the level of 0,2 %, phosphorus – 0,05 and potassium – 0,11 %. Correlation of humic to fulvic acids in fraction content of humus composites, which makes 4 to 1, contains a complex of macro- and microelements and is characterized by pH indicator within the limits of 7,0 – 7,4 and moisture share of 85 – 90 % [5]. Sapropel and humic fertilizers, made of it, contain biologically active substances and vitamins E, C, D, P, B group, as well as carotenoids, hormone-like substances, ferments [14].

The research determined high agrochemical efficiency of application of humic fertilizers, made on the base of sapropel [3], particularly increase of the yield of vegetables by 123 – 284 %, rise of the share of nitrate forms of nitrogen in soil by 9,1 – 71, 6 %, ammonium forms – by 1,2 – 22,1, mobile phosphorus – by 0,8 – 7,7 and exchangeable potassium – by 8,8 – 34,3 %.

At the same time, research on efficiency of humic fertilizers application under cereals has not been carried before. It has forced us to make study of the efficiency of application of humic fertilizers under spring triticale, which is getting popular in Ukraine in the last years [2]. Due to high ecological plasticity, resistance to pests and diseases, modesty to growing conditions, high biological quality of yield, demonstrated by spring triticale [1, 8, 18, 19], the crop can be successfully cultivated in changeable climatic conditions of the Western Forest-steppe and Pre-Carpathians.

Aim of our research is to define efficiency of application of humic fertilizers under spring triticale and determine their effect on biochemical indicators of grain, as well as peculiarities of formation of productivity of spring triticale agrocenosis on grey soils under conditions of the Western Forest-steppe of Ukraine.

METHODS

Research on efficiency of growing of spring triticale with application of humic fertilizers was carried out in 2012 – 2014, under conditions of the farm “Nadbannia”, Koniukhy village, Lokachi district, Volyn region, located in the Western Forest-steppe of Ukraine.

Field experiment was started according to the following scheme: 1). No fertilizers (control); 2). Manure 15 t/ha; 3). Humic fertilizer 37,5 t/ha; 4). Humic fertilizer 12 t/ha + N₅₁P₂₅K₆₀; 5). Manure 5 t/ha + Humic fertilizer 5 t/ha + N₄₀P₂₇K₄₈. Nitrogen fertilizers were used to balance applied nitrogen in the variants 4 and 5. In all variants, but the control one, norm of nitrogen application made 75 kg/ha in active substance. Phosphorus-potassium fertilizers were also applied in the norm, corresponding to their correlation to the dose of applied nitrogen.

Cropping area made 40 m², controlled area – 25 m². The experiment was repeated three times, variants were placed according to Split-plot method. Direct effect of the fertilizers was studied while growing two cultivars of spring triticale Oberih Kharkivskiyi, selected by the Institute of Crop Production named after V. Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine and Losynivske, selected by National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine. Both cultivars are of grain direction [10].

In the research, we used common technology of spring triticale growing, which is applied for cereals in the Western Forest-steppe of Ukraine and included primary cultivation and pre-seeding treatment, maintenance of crops, protection from weeds and diseases, harvesting [17]. After primary cultivation in autumn at the depth of 2,2 – 2,5 dm, pre-seeding treatment was made across tillage in spring at the depth of seed bed (0,4 – 0,5 dm) by combined aggregate “Yevropak” across seeding direction. The seeding was made with conditional seed of high categories, i.e. the first reproduction. The seed was processed with the agent Korriolis in the norm 0,2 l/t of seed against a complex of diseases, including rock smut. The seed was processed with watering, i.e. water was added to the agent in norm of 8 – 10 l/t of seed. Seeding was made in the early terms by row way with 1,5 dm spacing. Seeding norm made 220 kg/ha.

To fight weeds in the stage of tillering (BBCH 30), we made straying of crops with herbicide Bazahran M in the dose of 2 l/ha, helping to kill dicot annual and perennial weeds at start of vegetative period.

Considering high resistance of spring triticale crop, as well as low level of spreading of undesired organisms in agrocoenosis below the economic edge of harmfulness, measures on protection of crops from pests and diseases were not carried out.

The research used humic fertilizer, made according to a patent-protected technology and corresponding chemical contents [4].

In the variants, where mineral fertilizers were applied, ammonium nitrate (a.s. 34 % N), granulose superphosphate (a.s. 19 % P₂O₅) and double manure salt (a.s. 29 % K₂O) were broadcast applied in primary cultivation. Well-decayed manure was also applied, being characterized with the following chemical content of main elements of mineral nutrition, in particular N – 0,4 %, P – 0,2 and K – 0,5 %.

Laboratory-analytical investigation was carried out in scientific-research laboratory of the Department of Agrarian Chemistry and Soil Science of Lviv National Agrarian University and its affiliate at Poliskyi Research Station of National Scientific Center “Institute of Soil Science and Agrarian Chemistry named after O.N. Sokolovskyi”, as well as laboratory of Volyn subdivision of SU “Institute of Protection of Soils in Ukraine”, according to the requirements of the SSTU [5]. Determination of nitrogen in plants was made according to MMA 31-497058-019-2005. Transformation of vegetative stages was marked in case two thirds of all studied plant objects were in the stage, according to the scale of plant development BBCH [16].

RESULTS OF THE RESEARCH

Field experiments were carried on grey forest light loamy soil [13], which was one of the most spread types of soils on the area of the Western Forest-steppe of Ukraine and Pre-Carpathian region.

The made agrochemical analysis proves that the soil is characterized with an average humus share (0- 20 cm – 2,18; 20 – 40 cm – 2,06 %), close to neutral reaction of soil solution (0 – 20 cm – pH 6,12; 20 – 40 cm – pH 6,09), high content of mineral composites of nitrogen (0 – 20 cm – 5,98; 20 – 40 cm – 5,42 mg/kg of soil), an average content of mobile phosphorus (0 – 20 cm – 99,8; 20 – 40 cm – 98,6 mg/kg of soil) and increased share of exchangeable composites of potassium in top layer (0 – 20 cm – 88,6; 20 – 40 cm – 80,4 mg/kg of soil). In general, the studied soil demonstrated a sufficient level to supply main elements of mineral nutrition, particularly nitrogen, for growing of spring triticale.

Results of the carried researches prove a considerable effect of humic fertilizers on accumulation of nitrogen by plants at the initial stages of organogenesis of spring triticale (table 1).

Table 1. Effect of humic fertilizer application on nitrogen content in plants of spring triticale, grown on grey podzolic soil in the Western Forest-steppe of Ukraine (average for 2012 – 2014), in % on a dry-matter basis

| Variant | Vegetative stage | | | | | | | |
|---|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | BBCH 31 | | BBCH 63 | | | BBCH 87 | | |
| | leaves | stems | leaves | stems | head | leaves | stems | grain |
| Oberih Kharkivskiyi cultivar | | | | | | | | |
| No fertilizers (control) | 2,61 | 1,79 | 2,17 | 1,08 | 1,70 | 0,63 | 0,40 | 1,84 |
| Manure 15 t/ha | 2,84 | 2,04 | 2,43 | 1,16 | 1,96 | 0,79 | 0,56 | 2,19 |
| Humic fertilizer 37,5 t/ha | 2,92 | 2,13 | 2,56 | 1,23 | 2,06 | 0,86 | 0,65 | 2,31 |
| Humic fertilizer 12 t/ha + N ₅₁ P ₂₅ K ₆₀ | 2,87 | 2,09 | 2,46 | 1,22 | 2,04 | 0,83 | 0,62 | 2,25 |
| Manure 5 t/ha + Humic fertilizer 5 t/ha + N ₄₀ P ₂₇ K ₄₈ | 2,96 | 2,17 | 2,61 | 1,31 | 2,11 | 0,98 | 0,73 | 2,38 |
| HIP 05 | 0,13-0,22 | 0,02-0,04 | 0,10-0,16 | 0,08-0,12 | 0,09-0,12 | 0,03-0,08 | 0,04-0,09 | 0,08-0,12 |
| Losynivske cultivar | | | | | | | | |
| No fertilizers (control) | 2,40 | 1,65 | 2,01 | 0,99 | 1,56 | 0,58 | 0,37 | 1,73 |
| Manure 15 t/ha | 2,63 | 1,93 | 2,14 | 1,12 | 1,65 | 0,69 | 0,48 | 2,12 |
| Humic fertilizer 37,5 t/ha | 2,67 | 1,96 | 2,18 | 1,21 | 1,72 | 0,74 | 0,54 | 2,19 |
| Humic fertilizer 12 t/ha + N ₅₁ P ₂₅ K ₆₀ | 2,64 | 1,97 | 2,17 | 1,18 | 1,69 | 0,72 | 0,51 | 2,15 |
| Manure 5 t/ha + Humic fertilizer 5 t/ha+ N ₄₀ P ₂₇ K ₄₈ | 2,71 | 2,04 | 2,21 | 1,25 | 1,83 | 0,81 | 0,63 | 2,24 |
| HIP 05 | 0,18-0,26 | 0,03-0,12 | 0,05-0,07 | 0,04-0,08 | 0,05-0,12 | 0,04-0,07 | 0,03-0,05 | 0,08-0,18 |

Application of humic fertilizers secures increase of nitrogen content in leaves and stems of spring triticale. Depending on kind of fertilizers, applied with humic ones, the research demonstrated increase of nitrogen content already in the stage of stem elongation (BBCH 31), in leaves it increased by 0,26 – 0,35 % on a dry-matter basis, in stems – by 0,24 – 0,31 % for Oberih Kharkivskiyi cultivar, comparing to the variant with no fertilizers applied. For Losynivske cultivar, the increase indicators were some higher than the same variants of Oberih Kharkivskiyi cultivar, and made 0,30 – 0,38 and 0,31 – 0,42 % on a dry-matter basis, in leaves and stems respectively. However, in the next vegetative stage, absolute indicators of nitrogen content in plants decreased, and difference between indicators in the variants, where fertilizers were applied and the variant with no fertilizers used, increased. In particular, in the stage BBCH 63 in leaves, nitrogen content in plants of Oberih Kharkivskiyi made 2,46 – 2,61 % on a dry-matter basis, that was some lower than similar indicator in the stage BBCH 31. However, difference between the indicators increased by 0,29 – 0,44 % on a dry-matter basis, that was some higher than the difference in the stage BBCH 31. For plants of spring triticale of Losynivske cultivar, difference was some lower in leaves and made 0,16 – 0,20 % on a dry-matter basis. In stems of the plants of both cultivars, the indicators decreased twice. Head of the plants demonstrated intermediate values of nitrogen content.

Until the stage of complete ripeness (BBCH 87), nitrogen content in vegetative weight of spring triticale plants gradually decreased in leaves and stems. However, the indicator increased in head, comparing to the stage of earing. In particular, in earing stage (BBCH 63), nitrogen content made 1,7 in head and 1,84 % on a dry-matter basis in the stage of complete

ripeness for the plants of Oberih Kharkivskiyi cultivar. It is interesting to note that application of fertilizers caused difference between indicators of nitrogen content in head in both vegetative stages (BBCH 63 and BBCH 87) and the difference increased. Particularly, it increased by 0,21 – 0,27 for Oberih Kharkivskiyi cultivar, and by 0,41 – 0,47 % for Losynivske cultivar on a dry-matter basis. At the same time, one should point that for Losynivske cultivar absolute indicators of nitrogen content were some lower (by 0,10 – 0,23 % on a dry-matter basis) in the stage of complete ripeness than the similar indicators for Oberih Kharkivskiyi cultivar.

Such results prove increase of the indicators of nitrogen content in vegetative weight of spring triticale while applying humic fertilizers, comparing to the variant, where the same norm of nitrogen was applied with manure. However, in some cases, difference between the variants was insufficient one, i.e. within the standard deviation, but such tendency was obvious in all stages of vegetation.

In our opinion, nitrogen is present in humic fertilizers in a form of ready soluble composites and can fast join the process of exchange between the fertilizer and soil-absorbing complex. In contrast, nitrogen in manure first joins the processes of microbiologic transformations, and is available for plants afterwards.

In all variants with humic fertilizers, the variant, where humic fertilizer (5 t/ha) was applied with manure (5 t/ha) and mineral fertilizers in the norm $N_{40}P_{27}K_{48}$, was the most efficient in terms of plants supply with nitrogen. In the variant, we observed the highest indicators of nitrogen content in plants in all vegetative stages of both cultivars of spring triticale (Oberih Kharkivskiyi and Losynivske). Supply of spring triticale plants with nitrogen effected formation of high quality grain, particularly influenced share of protein [20, p. 42-43]. Thus, the tendency influenced indicators of protein content in grain of spring triticale in the stage of complete ripeness BBCH 87 (table 2).

Table 2. Productivity of spring triticale, depending on application of fertilizers (average for 2012 – 2014)

| Variant | Protein content, % | | Weight of 1000 grain, g | | Yield of grain, t/ha | | Protein yield, t/ha | |
|--|--------------------|-----------|-------------------------|-----------|----------------------|-------------|---------------------|------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| No fertilizers (control) | 11,4 | 10,8 | 32,2 | 31,9 | 3,16 | 3,12 | 0,36 | 0,33 |
| Manure 15 t/ha | 12,0 | 11,7 | 38,3 | 36,7 | 3,51 | 3,44 | 0,43 | 0,41 |
| Humic fertilizer 37,5 t/ha | 13,8 | 13,6 | 33,7 | 32,1 | 3,82 | 3,92 | 0,53 | 0,54 |
| Humic fertilizer 12 t/ha + $N_{51}P_{25}K_{60}$ | 12,8 | 12,4 | 32,5 | 31,4 | 5,04 | 4,89 | 0,65 | 0,61 |
| Manure 5 t/ha + Humic fertilizer 5 t/ha + $N_{40}P_{27}K_{48}$ | 11,9 | 11,7 | 41,6 | 39,1 | 5,81 | 5,77 | 0,70 | 0,68 |
| HIP 05 | 0,4 – 0,5 | 0,4 – 0,7 | 0,7 – 1,5 | 1,0 – 1,3 | 0,24 – 0,33 | 0,25 – 0,29 | - | - |

Note: 1 – Oberih Kharkivskiyi cultivar; 2 – Losynivske cultivar.

In general, application of fertilizers made positively effect on formation of yield of spring triticale grain, securing rise of its qualitative and quantitative indicators. Speaking about protein content in grain, it varied within 11,9 – 13,8 % for Oberih Kharkivskiyi

cultivar and 11,7 – 13,6 % for Losynivske cultivar. Comparing variants with application of mineral fertilizers ($N_{40}P_{27}K_{48}$) in combination with 5 t/ha of manure and humic fertilizer with just 15 t/ha of manure, substantial difference as to accumulation of protein in grain of Oberih Kharkivskiyi cultivar was not fixed (11,9 and 12,0 % respectively) and equal indicators were obtained for the Losynivske cultivar (11,7 %). Applying humic fertilizers in norm 12 t/ha + $N_{51}P_{25}K_{60}$, we observed a substantial increase of protein content, comparing to the variant, where manure was applied, i.e. protein content in grain was at the level 12,8 for Oberih Kharkivskiyi cultivar and 12,4 % for Losynivske cultivar, securing increase by 1,4 and 1,6 % respectively, in contrast to the control. Maximal increase of protein in grain of spring triticale, considerably exceeding all other variants, was fixed in the variant with application of 37,5 t/ha of humic fertilizer: in grain of Oberih Kharkivskiyi cultivar it made 13,8 %, Losynivske cultivar – 13,6 %.

Weight of 1000 grain is another important indicator, proving its plumpness and characterizing quality of grain [9]. Data of the table 2 prove mixed results as to effect of fertilization on value of the indicator. Thus, in the variants with application of 37,5 t/ha of humic fertilizer, 12 t/ha of humic fertilizer with mineral fertilizers, one did not observe substantial increase of the indicator, i.e. the increase made 0,3 – 1,5 g for Oberih Kharkivskiyi cultivar (comparing to the control) and 0,2 for Losynivske cultivar (only comparing to the variant with application of 37,5 t/ha of humic fertilizer).

Application of 15 t/ha of manure secured increase of the indicator of weight of 1000 grain (comparing to the control) by 6,1 g and 4,8 g for Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivars respectively. Maximum high values of grain plumpness were fixed in the variants, where 5 t/ha of humic fertilizer was applied in complex with 5 t/ha of manure and mineral fertilizers ($N_{40}P_{27}K_{48}$): 41,6 g – for Oberih Kharkivskiyi cultivar and 39,1 g – for Losynivske cultivar.

Speaking about quantitative indicators, application of humic fertilizer in various combinations secured increase of grain yield by 0,66 – 2,65 t/ha and 0,76 – 2,65 t/ha for growing of Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivar respectively. Maximal yield was obtained in the variant with application of humic fertilizer in combination with manure and mineral fertilizers, supplying yield at the level of 5,81 t/ha for Oberih Kharkivskiyi cultivar, and 5,77 t/ha for Losynivske cultivar. Application of 12 t/ha of humic fertilizer with mineral forms demonstrated considerably worse indicators as to yield amount, i.e. increase of yield made just 1,88 and 1,77 t/ha respectively. The lowest indicators of yield, with application of humic fertilizer (3,82 – 3,92 t/ha), were observed in the variant with its independent application (37,5 t/ha). Growing spring triticale of Oberih Kharkivskiyi cultivar, the variant was practically equal to the variant with application of 15 t/ha of manure. Speaking about Losynivske cultivar, one observed a substantial difference between the variants, which made 0,48 t/ha with prevailing efficiency of humic fertilizer.

Contradictory results as to effect of humic fertilizer on quality and quantity indicators of grain yield of spring triticale finally influenced protein yield per a unit of area. In particular, maximal protein yield (0,68 – 0,70 t/ha) was fixed in the variant with application of humic fertilizer in complex with mineral fertilizers and manure. Lower indicators were demonstrated by the variant with application of 12 t/ha of humic fertilizer with mineral fertilizers, where corresponding indicator was at the level 0,61 – 0,65 t/ha. The lowest protein yield (0,53 – 0,54 t/ha) was fixed in the variant with application of only humic fertilizer. However, one should note, that all the variants exceeded variants with traditional fertilization (15 t/ha of manure), where protein yield made 0,41 – 0,43 t/ha and control (0,33 – 0,36 t/ha).

One should also add that, in spite of increase of nitrogen content in vegetative weight because of humic fertilizer application, protein content in grain did not increase, and directly depended on the norm of humic fertilizer application (see table 2).

ANALYSIS OF THE RESEARCH RESULTS

Our research has defined positive effect of humic fertilizer application on intensity of nitrogen absorption by plants of spring triticale. At the initial vegetative stages, amount of absorbed nitrogen by leaves and stems of plants substantially exceeded indicators of the control variant (without fertilizers applied). It secured higher content of nitrogen in tops in the stage of complete ripeness (BBCH 87).

Better nitrogen supply did not just favor increase of its content in plants during the whole period of plant vegetation, but provided better indicators of productivity of spring triticale agrocoenosis. The highest indicators of weight of 1000 grain or grain plumpness, as well as grain yield were supplied by the variant, where humic fertilizers were applied with manure (5 t/ha of each) and mineral fertilizers in norm $N_{40}P_{27}K_{48}$. In the variant, weight of 1000 grain was the highest and made 41,6 and 39,1 g for Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivars respectively, exceeding indicators of the variant with no fertilizers applied by 9,4 and 7,2 g.

Depending on the way and norm of humic fertilizers application, grain yield of spring triticale considerably varied. In particular, applying only humic fertilizer (37,5 t/ha), grain yield made 3,82 and 3,92 t/ha for Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivar respectively. Application of humic fertilizers in combination with mineral ones provided yield increase by 1,22 and 0,97, comparing to the previous variant, and made 5,04 and 4,89 t/ha of grain respectively. The highest indicators of productivity were secured by application of humic fertilizers in complex with manure and mineral fertilizers. In the variant, grain yield made 5,81 and 5,77 t/ha, that was by 2,7 t/ha more than the indicators of the variant with no fertilizers applied and by 2,3 t/ha more than in the variant with only manure applied.

Productivity of agrocoenosis is defined not just by level of yield, but calculated indicators of harvest of biologically valuable part of yield, e.g. protein yield per a unit of area. In our research, protein yield substantially varied, depending on the variants of the experiment and hardly depended on a cultivar. The highest protein yield was supplied by the variant with application of humic fertilizers in complex with manure and mineral ones. In the variant, protein yield was the highest and made about 0,7 t/ha, that was by 0,34 – 0,35 t/ha, or by 50 % more than in the control variant with no fertilizers applied.

CONCLUSIONS

1. Application of humic fertilizers while growing spring triticale secures rise of protein content in grain of Oberih Kharkivskiyi cultivar by 0,5 – 2,4 and by 0,9 – 2,8 % – grain of Losynivske cultivar. In general, Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivars demonstrated increase of protein content up to 13,6 – 13,8 %. However, at the same level of mineral nutrition, protein content proved higher dependence on application of fertilizers than on a cultivar.

2. Application of humic fertilizers in complex with manure and mineral fertilizers makes an efficient instrument to improve regime of mineral nutrition with nitrogen for plants of spring triticale of the studied cultivars. At the initial vegetative stages (BBCH 31), intensity of nitrogen absorption was by 9,7 – 13,4 and 10,0 – 12,9 % higher, comparing to the variant with no fertilizers applied (Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivars respectively). It also substantially exceeded indicators of the variant, where the kinds of fertilizers were applied with manure. However, in the second half of vegetation, the difference was not significant.

3. Depending on a way and norm of humic fertilizer application, grain yield of spring triticale substantially varied. The highest indicators of productivity were secured by application of humic fertilizers in combination with manure and mineral fertilizers. In the variant, grain yield made 5,81 and 5,77 t/ha, that was by 2,7 t/ha more than the indicators of the variant with no fertilizers applied and by 2,3 t/ha more than that variant with only manure applied.

4. The highest indicators of protein accumulation in grain (up to 14 %) of both studied cultivars of spring triticale were supplied by application of pure humic fertilizers and they significantly exceeded indicators of protein content in grain in case of organic fertilizer application. At the same time, according to general level of productivity and calculated indicator of protein yield per a unit of area under the experiment conditions, the best indicators were demonstrated by the variant, where humic fertilizers were applied in combination with manure and mineral fertilizers (Manure 5 t/ha + Humic fertilizer 5 t/ha + $N_{40}P_{27}K_{48}$). The variant provided grain yield at the level of 5,8 t/ha and protein yield made 0,7 t/ha for Oberih Kharkivskiyi and Losynivske cultivars, grown on grey forest soils of the Western Forest-steppe of Ukraine.

REFERENCES

1. Bilitiuk A.P. and others, 2004. Triticale in Ukraine, Kyiv, 376.
2. Hospodarenko H.M., Liubych V.V., 2010. Dynamics of nitrogen content in plants of spring triticale cultivars, depending on a norm and terms of nitrogen fertilizer application. Scientific reports of NUBNM. № 2 (18), 34-40.
3. Didkovskaia T.P. and others, 2010. Technology of production of paste-like humic fertilizer of sapropel. Agrochemical messenger. № 1. 25-26.
4. Didkivska T.P. and others, 2011. Way to produce paste-like humic fertilizer of sapropel by dispergation method: patent for utility model 58139 Ukraine, № u 201003658, Bull. 7, 6.
5. General requirements to testing and attestation of laboratories: SSTU ISO/IEC 17025-2006, 2007 – [Active since 2007-07-01]. – K.: Derzhstandart Ukrainy. – 32.
6. Kalenska S., Blazhevych L., 2004. Productivity of spring triticale in Right-bank Forest-steppe of Ukraine. Messenger of LNAU. № 8, 136-140.
7. Kochurko B.I., Savchenko V.N. 2000. Yield capacity, quality and feeding value of spring triticale. Agrarian science. № 9, 14-15.
8. Lopushniak V., Avhustynovych M., 2015. Effect of different levels of mineral nutrition on formation of biometric indicators of head and productivity of spring triticale in the Western Forest-steppe of Ukraine. Pre-mountainous and mountainous arable farming and animal breeding: inerdepart. topic. scient. coll. Lviv; Obroshyne. Ed. 57, part 2., 144-151.
9. Rozhkov A.O., 2014. Formation of biometric indicators of spring triticale, depending on effect of ways of seeding and nutrition. Messenger of Sumy National Agrarian University. № 9 (28), 121-128.
10. Riabchun V.K., 2006. Catalogue of spring triticale cultivars and technologies of their growing: methodic edition of ICP named after V.Ya. Yuriev. Kharkiv, 35.
11. Agriculture of Ukraine in 2014: statistical yearbook, 2015. Kyiv, State Office of Statistics of Ukraine, 379.
12. Furdychko O.I., 2014. Ecological fundamentals of a balanced development of agrarian sphere in the context of European integration of Ukraine. Kyiv: DIA, 432.
13. Shevchuk M.Y. and others, 2016. Soils of Volyn region. Lutsk, Vezha-Druk, 144.
14. Shevchuk M.Y., 1996. Sapropels of Ukraine: quality and prospects of use. Lutsk Nadstyria, 21-30.
15. Yaroshko M., 2013. Nitrogen transformation in soil and its importance for plant development. Agronomist. № 2, 18-20.
16. Crubinski T., Walerowska M., 2015. Stages of cereals development. Top agrarian Poland, 48.

17. Lopushniak V., Avhustynovych M., 2015. Effect of microbiological Azoter agent on protein content in grain and productivity of spring triticale in the Western Forest-steppe of Ukraine. *Acta Carpathica*. Vol. 23, 22-32.
18. Mc Goverin C.M., Snyders F., Muller N., and others, 2011. A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *J. Sci. Food Agric.* 91, 1155-1165.
19. Petr J., 2006. Quality of triticale from ecological and intensive farming. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 37(3), 95, 103.
20. Tohver M., That R., Kann A., Rahn I., 2000. Investigation of seed storage protein and bread making quality of triticale. *Acta Agronomica Hungarica*, 48 (1), 41-49.
21. Wojtkowiak K., Stepień A., Tańska M., and etc. 2013. Impact of nitrogen fertilization on yield and content of protein fractions in spring triticale grain. *African Journal of Agricultural Research*, Vol. 8 (28), 3778-3783.

АНОТАЦІЯ

ВПЛИВ ГУМІНОВИХ ДОБРИВ НА ВМІСТ АЗОТУ В РОСЛИНАХ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТРИКАЛЕ ЯРОГО В ЗАХІДНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Розкрито аспекти впливу застосування гумінових добрив на засвоєння азоту рослинами, вміст білка в зерні та продуктивність агроценозу тритикале ярого.

Доведено, що залежно від норми внесення добрив зростає інтенсивність поглинання азоту рослинами тритикале ярого. Підвищення вмісту азоту уже у фазі виходу в трубку (ВВСН 31) в листках зростало на 0,26 – 0,35 % на суху речовину, а в стеблах – на 0,24 – 0,31% у сорту Оберіг Харківський порівняно з варіантом без внесення добрив. Для сорту Лосинівське показники приросту були дещо вищі порівняно з аналогічними варіантами у сорту Оберіг Харківський, і становили 0,30 – 0,38 і 0,31 – 0,42% на суху речовину відповідно у листках і стеблах. До фази повної стиглості (ВВСН 87) вміст азоту у вегетативній масі рослин тритикале ярого поступово знижувався і в листках і в стеблах. Проте у колосі цей показник зростав порівняно з фазою колосіння. Зокрема у фазі колосіння (ВВСН 63) для рослин сорту Оберіг Харківський вміст азоту в колосі становив 1,7, а у фазі повної стиглості – 1,84% на суху речовину. Різниця між показниками вмісту азоту в колосі в обидвох фазах вегетації рослин (ВВСН 63 і ВВСН 87) зростала. Зокрема для сорту Оберіг Харківський – на 0,21 – 0,27, а для сорту Лосинівське – 0,41 – 0,47% на суху речовину. Для сорту Лосинівське абсолютні показники вмісту азоту у фазі повної стиглості (ВВСН 87) були дещо нижчими (на 0,10 – 0,23% на суху речовину) порівняно з аналогічними показниками у сорту Оберіг Харківський.

В умовах Західного Лісостепу України на сірих лісових ґрунтах встановлено закономірність збільшення величини врожаю тритикале ярого від маси зерна незалежно від сорту. Краще забезпечення азотом під час усього періоду вегетації рослин не лише сприяє підвищенню вмісту білка в рослинах, а й зумовлює кращі показники продуктивності агроценозу тритикале ярого. Найвищими показниками виповненості зерна і величини врожаю відзначався варіант, де вносили гумінове добриво сумісно з гноєм (по 5 т/га) та мінеральні добрива у дозі $N_{40}P_{27}K_{48}$. У цьому варіанті маса 1000 зерен була найвищою і становила 41,6 і 39,1 г відповідно у сорту Оберіг Харківський і Лосинівське, що на 9,4 і 7,2 г переважало показники варіанту без внесення добрив.

Застосування гумінових добрив під тритикале яре сприяє підвищенню вмісту білка в зерні у сорту Оберіг Харківський на 0,5 – 2,4 та на 0,9 – 2,8 % – у сорту Лосинівське.

Загалом у сортів тритикале ярого Оберіг Харківський і Лосинівське показник вмісту білка зростав до 13,6 – 13,8%. Проте за однакового рівня мінерального живлення вміст білка залежав більше від застосування добрив, ніж від сорту.

Найвищі показники нагромадження білка в зерні (до 14%) для обох вирощуваних сортів тритикале ярого забезпечило внесення гумінових добрив у чистому вигляді і достовірно переважало показники вмісту білка в зерні за його внесення з органічними добривами. Водночас за загальним рівнем продуктивності та розрахунковим показником виходу білка з одиниці площі найкращим виявився варіант, де вносили гумінові добрива сумісно з гноєм і мінеральними добривами (Гній 5 т/га + Гумінове добриво 5 т/га + $N_{40}P_{27}K_{48}$). Цей варіант забезпечив врожай зерна на рівні 5,8 т/га і вихід білка 0,7 т/га за вирощування тритикале ярого сортів Оберіг Харківський і Лосинівське на сірих лісових ґрунтах Західного Лісостепу України.

Galyna Panakhyd, Grygoriy Konyk

Institute of Agriculture of Carpathian region of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,
e-mail: panakhyd-galia@ukr.net

THE ROLE OF WEATHER CONDITIONS ON PRODUCTIVITY AND BIODIVERSITY OF GRASSLAND IN THE WESTERN UKRAINE

Abstract. The investigation was carried out under the conditions of the stationary permanent experiment in western Ukraine. Long-term permanent grassland was sowed in 1974 on the dark grey podzolic sandy loam soils. The research was conducted in 1991–2014. The aim of this study is to determine the impact of climate changes on biodiversity and yield of grassland. This makes it possible to establish relation of productivity with weather conditions and this allows to recognize how to increase productivity with biodiversity retention at the same time.

Considerable factors of impact on grasslands were weather conditions and climate changes. They decreased percentage of mesophytes on unfertilized and insufficient fertilized plots. Further consequence was replacement of these grasses by more resistant species. Applications of NPK had smooth impact of weather condition and become the principal factor of yield and biodiversity control.

Optimal doses of NPK fertilizers will regulate species composition and will permit to produce 8-9 t ha⁻¹ dry matter (DM) in condition of semicontinental climate independently to weather conditions and age of grassland.

Key words: biodiversity, climate change, grasslands, precipitations, productivity, temperature.

INTRODUCTION

Permanent grasslands, which can be defined as: land and the vegetation growing on it, devoted to the production of introduced or indigenous forage for harvest by grazing, cutting, or both (Allen *et al.*, 2011), cover over 57 million ha in the EU-27, temporary grasslands about 10 million ha (Eurostat), together, they occupy about 15 % of the whole EU territory and about 39 % of the European Utilized Agricultural Area (Peeters, 2012). In western Ukraine permanent and temporary grasslands cover over 2 million ha (Yarmolyuk *et al.*, 2013). Grasslands and their livestock production systems are extremely diverse. They occur over a large range of climatic and soil conditions from browse rangelands and very extensive pastoral systems where domestic herbivores graze, to intensive systems based on forage and grain crops, where livestock are mostly kept indoors.

Current investigations have proved significant climate changes (Trnka *et al.*, 2011) and their influence on agrocenosis (Calanca *et al.*, 2005, Alkemade *et al.*, 2011).

Key features of climate changes scenarios for Europe indicate higher temperatures in summer and winter, increased winter rainfall in most regions and more frequent extremes of weather (Hopkins *et al.*, 2007). Impacts are considered likely to be greatest for grasslands in southern Europe (droughts and increased fires leading to desertification), northern Europe (drying of tundra), coastal areas affected by rising sea levels (inundation of salt marsh etc) and alpine areas (reduced water from snow melt). Seasonal drying of wet grasslands is particular threat.

Growth, development and productivity of plants depend a great deal on the climate, edaphic and biotic factors. Water deficit influences the basic processes connected with grass productivity. Considerable aftermath of climate changes will be able the decrease soil water and drought is expected. Such scenario shows that on the areas with low grassland productivity their yield will be reduced still more to end 11th century (Trnka *et al.*, 2011). The majority meadow grasses that form firm phytocenosis are weather-resistant, but they are significant consumer of water. Therefore the herbage have scarcity of water susceptibility. Shortage of water causes reduced productivity of grassland and is promotes elimination of same meadow grasses from grass canopy. Many scientist

have observed the strongly correlation between the productivity of grasslands and climate changes (Poter et al., 2005; De Boeck et al., 2008). There are ideas, which are based on applicatio of methods for using grasslands in conditions of atmospheric and climatic change (Soussana & Lüscher, 2007). Calanca et al. (2005), by using the simulation model of climate scenario , considered that the global warming will be coupled with change of nutrients circulation. They think that grasslands will be able to win from increase level CO₂, more appropriate temperature: the yield of permanent meadow will be able to rise by 50 %. While the so-called extreme scenario that included the drought 2007 was analyzed, it provides the strong dependence of sustained yield supply from water recourses support.

Production growth of permanent meadow land directly depends on change of quantitative and species composition of aboveground plants. Most papers report a positive relationship between species diversity and biomass production (Huyghe et al., 2012). And with it very few papers found a negative relationship between species diversity and productivity (Grace et al., 2007).

Biodiversity is likely to be affected by both incremental changes in mean climate parameters and also by the frequency and intensity of climate extremes (Jentsch et al., 2007). The abundance of many populations is strongly driven by weather variables. Changes in climate are therefore projected to have large impacts on populations within their existing ranges. Many studies have explored effects of modern climate change on biodiversity and several major reviews have been published (Parmesan, 2006; Bellard et al., 2012; Oliver et al., 2014).

Global environment changes: rising temperatures, changing precipitation and rising atmospheric CO₂ concentrations, will become a major drivers of changes in plant diversity and loss in the 21st century. A recent modelling study of 1350 European plant species predicted that half of these species will become classified as ‘vulnerable’ or ‘endangered’ by the year 2080 due to rising temperatures and changes in precipitation (Thuiller et al., 2005). Global warming took place between about 900 and about 1200 or 1300, just before the Little Ice Age (1550–1700 AD). In southern Europe land abandonment will result in much more increased wild fires, loss of biodiversity and desertification (Mannetje, 2007).

The long-term studies on changes in species composition and production of permanent grasslands are few in number. The value of such studies in helping to inform the debate about the effects of changes in weather conditions on production and composition is very significant.

The aim of this study is determination impact of weather conditions on biodiversity and yield of grassland in western Ukraine. This makes it possible to establish relation of productivity with weather conditions and this allow recognizing the most way of productivity increase with biodiversity retention at the same time.

MATERIALS AND METHODS

The investigation was carried out under the conditions of the stationary permanent experiment of Institute of Agriculture of Carpathian Region of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (IACR NAAS) (Stavchany 49°41' N 23°50' E, alt. 320 m). Permanent experiment field was sowed in 1974 on the dark grey podzolic sandy loam soils. A randomized block design was used. There were four blocks in the experimental area. The size of each treated plot was 6 × 3 m. All fertilizer was applied as topdressing. The research was conducted in 1991–2014.

The local climate is semi continental. It has been formed by the Atlantic Ocean (a lot of precipitation and rapid changing of temperature) and by continental atmospheric masses.

During 1991–2014 significant fluctuation of precipitations were noticed. 11 research years from 23 years had excessof precipitations, 9 has water-short and only in 3 years rainfalls approximated to norm. In 20 years temperature were above the rate. Such climate change had considerable impact on growth of grasslands (Table 1, Fig. 1).

Table 1: Hydrothermal conditions

| Years | Factor | Month | | | | | | | Amount of P and average of T in Vegetation period | HTC |
|-------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-----------|---------|---|-----|
| | | April | May | June | July | August | September | October | | |
| 1990 | P | 85.3 | 84.3 | 30.5 | 94.7 | 50.5 | 91.9 | 50.8 | 488.5 | 1.6 |
| | T | 10.0 | 13.4 | 15.2 | 17.6 | 17.8 | 13.8 | 9.5 | 13.9 | |
| 1991 | P | 60.3 | 77.1 | 35,6 | 106,6 | 69,5 | 48,5 | 77,5 | 448 | 1.4 |
| | T | 7.4 | 10.7 | 15,0 | 18,6 | 17,7 | 11,3 | 9,4 | 15.3 | |
| 1992 | P | 17.6 | 48.3 | 76.0 | 88.7 | 47.5 | 108.6 | 118.6 | 505.3 | 1.7 |
| | T | 7.7 | 12.3 | 17.6 | 18.9 | 21.4 | 12.5 | 6.7 | 13.9 | |
| 1993 | P | 48.3 | 143.1 | 73.8 | 148.5 | 87.1 | 81.6 | 46.9 | 629.0 | 2.3 |
| | T | 3.1 | 13.9 | 15.7 | 16.5 | 16.6 | 12.6 | 9.5 | 12.6 | |
| 1994 | P | 26.4 | 43.4 | 36.0 | 21.7 | 85.9 | 53.3 | 96.1 | 366.0 | 1.2 |
| | T | 10.2 | 13.7 | 16.7 | 20.6 | 18.1 | 160.5 | 7.3 | 14.7 | |
| 1995 | P | 57.0 | 55.8 | 63.0 | 6.2 | 55.8 | 93.0 | 41.4 | 372.2 | 1.3 |
| | T | 7.7 | 12.6 | 17.2 | 20.1 | 18.0 | 12.8 | 9.0 | 13.9 | |
| 1996 | P | 18.2 | 18.1 | 63.6 | 91.0 | 62.4 | 134.1 | 41.4 | 491.8 | 1.7 |
| | T | 7.8 | 16.3 | 16.5 | 15.6 | 17.1 | 9.9 | 8.9 | 13.2 | |
| 1997 | P | 46.8 | 148.4 | 52.3 | 149.6 | 45.3 | 41.2 | 73.6 | 557.2 | 2.1 |
| | T | 4.1 | 14.2 | 17.0 | 17.0 | 17.3 | 13.1 | 5.9 | 12.7 | |
| 1998 | P | 118.3 | 62.6 | 169.9 | 211.1 | 60.9 | 58.2 | 83.6 | 763.9 | 2.6 |
| | T | 10.8 | 13.5 | 17.5 | 18.1 | 17.0 | 13.0 | 7.4 | 13.9 | |
| 1999 | P | 92.4 | 27.0 | 71.0 | 52.0 | 87.0 | 47.0 | 37.5 | 413.9 | 1.3 |
| | T | 9.7 | 12.2 | 18.7 | 20.2 | 16.8 | 15.4 | 7.9 | 14.4 | |
| 2000 | P | 63.1 | 77.7 | 67.0 | 138.2 | 21.0 | 42.3 | 5.7 | 415.1 | 1.3 |
| | T | 12.2 | 14.6 | 16.9 | 16.9 | 18.2 | 11.6 | 11.1 | 14.5 | |
| 2001 | P | 41.0 | 49.8 | 129.0 | 176.3 | 78.3 | 139.8 | 17.6 | 631.8 | 2.0 |
| | T | 9.5 | 14.4 | 15.2 | 20.7 | 19.3 | 12.6 | 10.7 | 14.6 | |
| 2002 | P | 46.9 | 39.9 | 120.0 | 24.7 | 62.6 | 68.3 | 78.3 | 440.7 | 1.4 |
| | T | 8.4 | 16.6 | 19.0 | 21.2 | 19.3 | 12.7 | 7.4 | 14.9 | |

| | | | | | | | | | | |
|------|---|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| 2003 | P | 28.8 | 63.4 | 73.1 | 78.4 | 18.9 | 39.0 | 88.0 | 389.6 | 1.3 |
| | T | 7.1 | 17.1 | 17.5 | 19.4 | 18.9 | 13.1 | 5.4 | 14.1 | |
| 2004 | P | 31.0 | 85.0 | 33.0 | 159.0 | 170.0 | 42.0 | 34.7 | 554.7 | 1.9 |
| | T | 8.8 | 11.9 | 16.2 | 18.5 | 17.7 | 12.4 | 9.6 | 13.6 | |
| 2005 | P | 46.7 | 77.9 | 90.5 | 93.7 | 77.5 | 45.5 | 35.2 | 466.3 | 1.4 |
| | T | 6.5 | 15.2 | 17.2 | 19.1 | 18.6 | 13.1 | 5.4 | 15.1 | |
| 2006 | P | 59.0 | 108.0 | 120.0 | 110.0 | 169.0 | 11.0 | 35.0 | 612.0 | 2.0 |
| | T | 9.5 | 13.3 | 16.5 | 20.0 | 17.5 | 14.9 | 10.2 | 14.6 | |
| 2007 | P | 22.3 | 42.5 | 55.3 | 97.0 | 71.8 | 110.0 | 29.6 | 428.5 | 1.4 |
| | T | 8.7 | 15.5 | 18.8 | 19.7 | 19.6 | 12.5 | 8.4 | 14.7 | |
| 2008 | P | 78.0 | 115.0 | 73.3 | 123.0 | 140.0 | 121.2 | 28.7 | 679.2 | 2.1 |
| | T | 9.6 | 14.1 | 18.9 | 18.5 | 19.8 | 13.1 | 9.7 | 14.8 | |
| 2009 | P | 58.8 | 91.3 | 161.9 | 81.7 | 127.2 | 28.0 | 135.6 | 684.5 | 2.2 |
| | T | 11.2 | 13.5 | 16.6 | 19.6 | 18.2 | 14.5 | 7.5 | 14.4 | |
| 2010 | P | 33.3 | 199.4 | 123.7 | 206.2 | 108.3 | 66.8 | 34.0 | 771.7 | 2.5 |
| | T | 8.7 | 14.8 | 17.7 | 20.3 | 19.3 | 12.0 | 8.8 | 14.5 | |
| 2011 | P | 39.3 | 62.6 | 87.2 | 136.8 | 112.1 | 67.0 | 19.0 | 524.0 | 1.7 |
| | T | 9.6 | 13.9 | 18.4 | 18.7 | 18.8 | 15.9 | 5.5 | 14.4 | |
| 2012 | P | 51.0 | 53.0 | 109.0 | 67.0 | 71.0 | 42.1 | 39.6 | 432.7 | 1.3 |
| | T | 10.2 | 14.8 | 18.0 | 21.3 | 19.1 | 15.4 | 9.2 | 15.4 | |
| 2013 | P | 47.0 | 81.8 | 140.1 | 40.4 | 39.8 | 75.5 | 40.0 | 464.6 | 1.5 |
| | T | 9.9 | 15.8 | 18.3 | 18.7 | 19.4 | 11.8 | 8.9 | 14.7 | |
| 2014 | P | 55.3 | 129.4 | 51.6 | 99.5 | 75.9 | 80.0 | 28.0 | 519.7 | 1.6 |
| | T | 10.0 | 14.2 | 16.2 | 20.4 | 18.5 | 14.8 | 9.0 | 14.7 | |

P – monthly precipitation (mm), T – monthly temperature (°C), HTC – hydrothermal coefficient

Stationary perennial permanent experiment was improved by the complete mineral fertilizer application with the different distribution of nitrogen. Unfertilized control (UF) and phosphorus-potassium (PK) background variant were cut twice and variants with nitrogen application three

times. Early spring the all variants, except control, were fertilized by mineral fertilizer accordingly to scheme of experiment.

At each sampling date, for each grasslands and each subplot the samples kept for dry matter (DM) yield measurements of the fresh harvest biomass were weighed and dried at 105°C to determine the DM content by the difference between fresh and dry weight. DM yield of each sampling area was calculated from the first weight of the sample, the DM content and the area that was cut ($t \text{ DM ha}^{-1}$).

Fodder units and digestible protein were calculated according to Dmytrochenko.

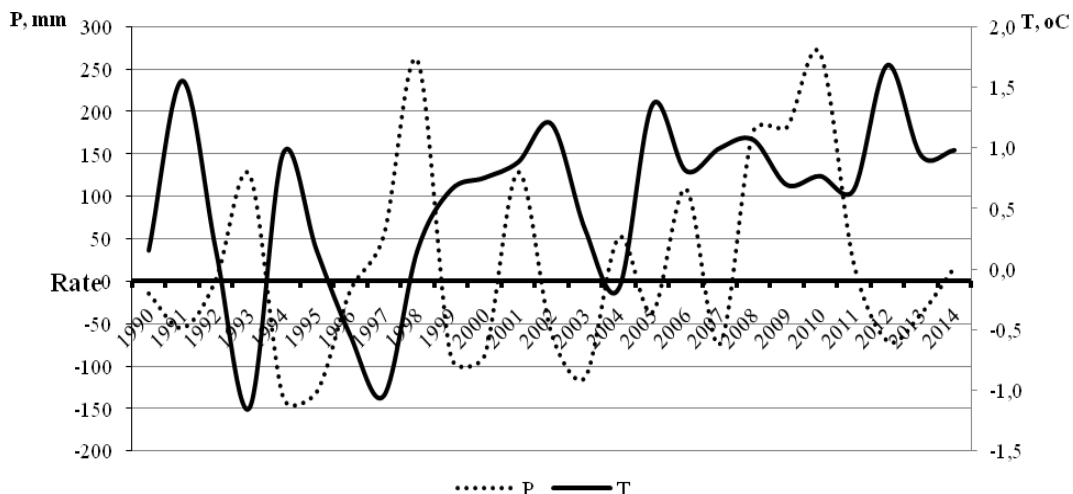


Figure 1: Precipitation (P) and temperature (T) average readings in vegetation periods

Hydrothermal coefficient (HTC) has been used for description of conditions. Whereas, according to the investigation, which was conducted by Jevíčko site in the Czech Republic (Kohoutek et. al., 2012) dry matter production is more influenced by weather condition in the vegetation season than by total annual condition, HTC was calculated for vegetation period. HTC was calculated according to the G. Selianinov formula:

$$HTK = \sum p / 0.1 \sum t,$$

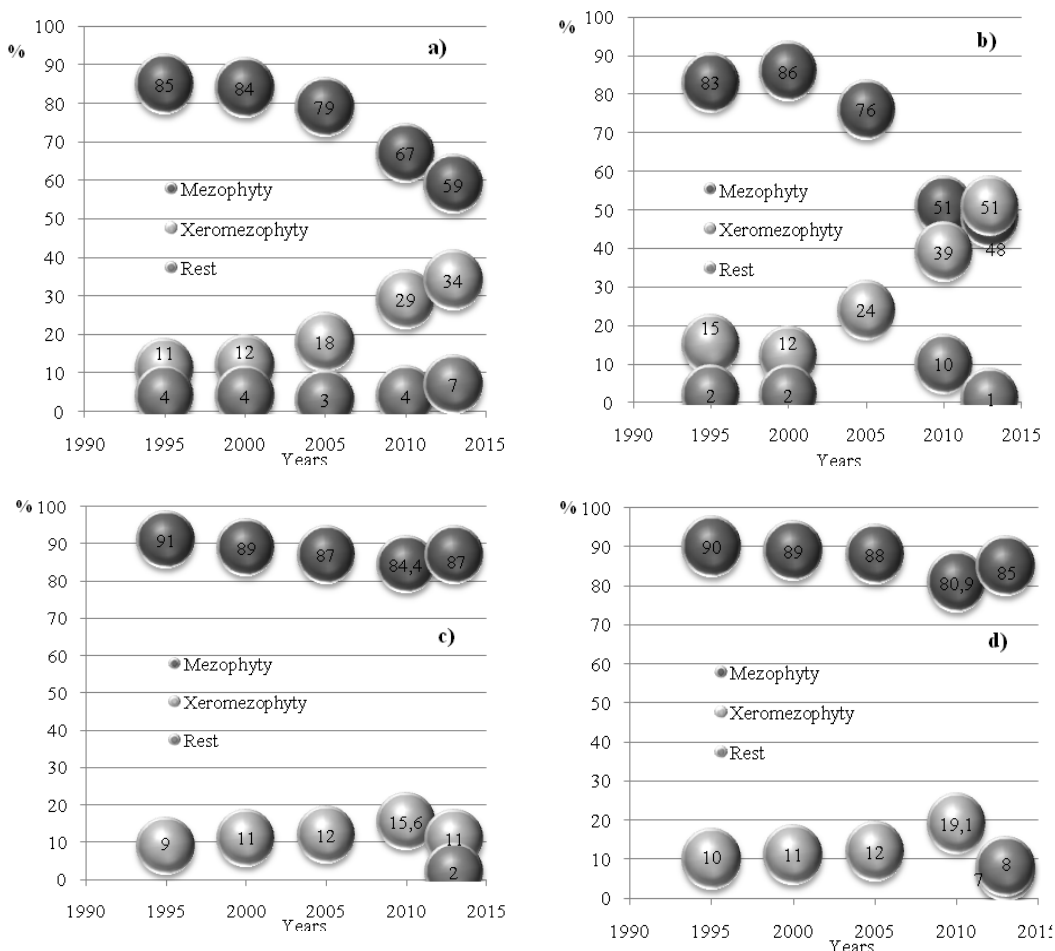
where $\sum p$ represents sum of precipitation (mm) during the test vegetation periods, when average daily air temperature is higher than 10 °C, and $\sum t$ stands for the sum of active temperatures (°C) during the same period.

An analysis of correlations were determined. The results were processed with a set of statistical tools of the program *Windows (Microsoft Excel, 2003)*.

RESULTS AND DISCUSSION

Reduction of mesophytes from 85 % to 59 % was recorded on unfertilized grassland simultaneously xeromesophytes increased from 11 % to 34 % on such variant. There was replacement of tall bent grass (*Agrostis gigantea*) and red fescue grass (*Festuca rubra*) by meadow grass (*Poa pratensis*) and birds-foot trefoil (*Lotus corniculatus*), these plants are tolerant to overheat and dehydration (Fig. 2).

Such appreciable influence of climate changes was on grassland, when phosphorus-potassium fertilizers (PK) were apply. PK promoted a better development of legume, notably birds-foot trefoil. Therefore percent of xeromesophytes increased from 12% to 51%. Application of full mineral fertilization (NPK) decreased percent of xeromesophytes only by 4–5%.

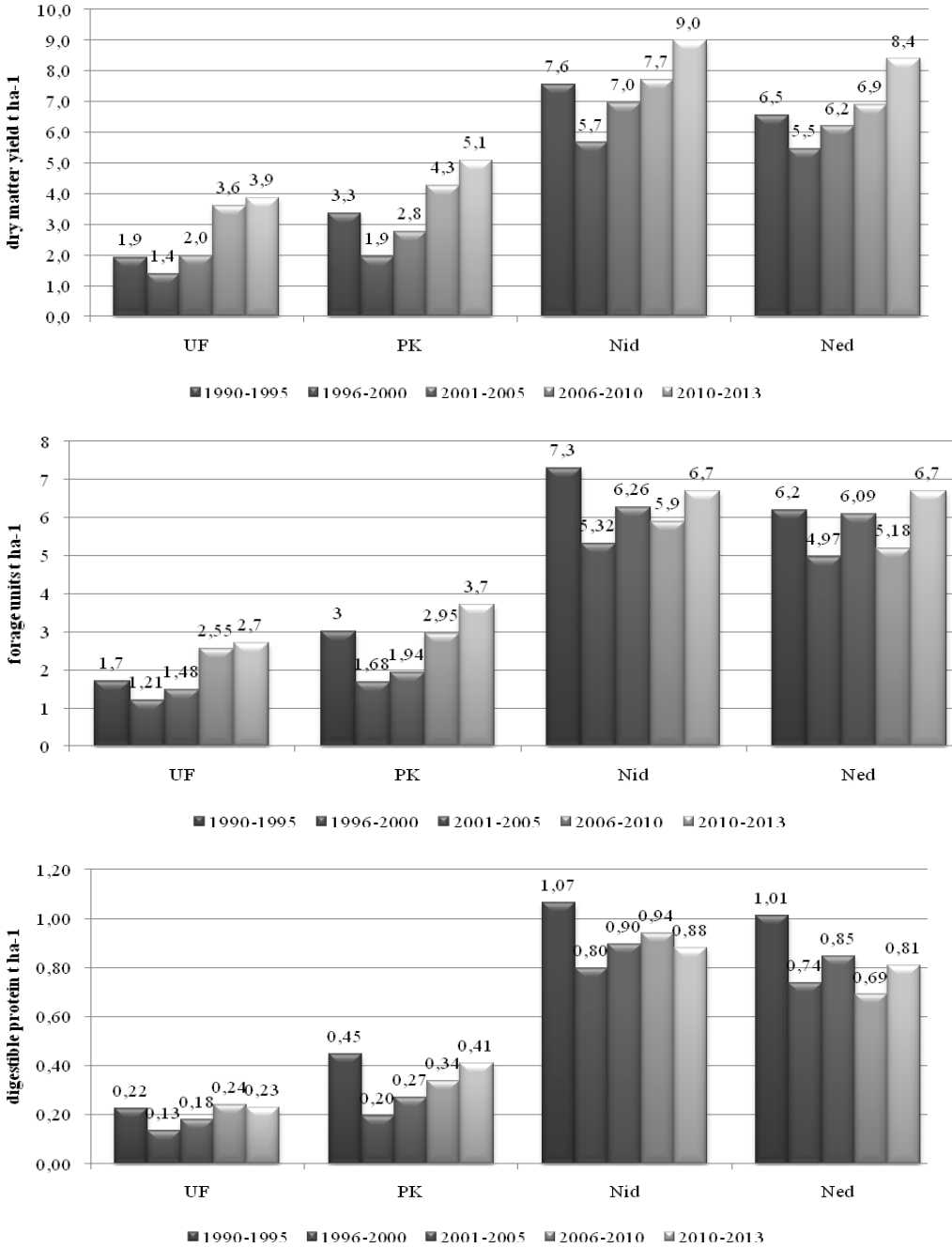


Notes. a) unfertilized control, b) PK includes 60 kg ha⁻¹ P and 90 kg ha⁻¹ K, c) PK + Ned (even distribution per 40 kg ha⁻¹ N for each cutting), d) PK + Nid (irregular distribution per zero-N treatment for first cycle, per 40 kg ha⁻¹ N for second cycle and per 80 kg ha⁻¹ N for third cycle)

Figure 2: Dynamics of species hygromorphs group dependent on fertilizer

The highest yield of all investigation grassland was fix in both last periods (2006–2010 and 2011–2014). At the same time, temperature was higher than long-term average and precipitation was less than norm by 75.5 mm only at 2007. The highest yield of unfertilized grassland (4.04 t ha⁻¹) was in 2009, when rainfall was by 181.5 mm more than norm, and temperature was by 0.7°C more than long-term average (Fig. 3).

In spite of sharp fluctuation of temperature and precipitation at first investigation period (1990–1995) all characteristics of productivity – dry matter yield, fodder units and digestible protein – were considerable. Digestible protein was highest at that time. At 1996–2000 dry matter yields, fodder units and digestible protein from all investigation grassland were the least. At 1996 on unfertilized grassland were harvested only 1.4 t ha⁻¹ dry matter yields, 1.21 t ha⁻¹ fodder units and 0.13 t ha⁻¹ digestible proteins. At 1996–2000 the average yield of grassland, which was apply by phosphorus and potassium fertilizers, was 1.9 t ha⁻¹ dry matter, 1.68 t ha⁻¹ fodder units and 0.20 t ha⁻¹ digestible protein only.



Note. UF – unfertilized control; PK includes 60 kg ha⁻¹ P and 90 kg ha⁻¹ K; Ned – even distribution per 40 kg ha⁻¹ N for each cutting; Nid – irregular distribution per zero-N treatment for first cycle, per 40 kg ha⁻¹ N for second cycle and per 80 kg ha⁻¹ N for third cycle.

Figure 3: Productivity of sown long-term grassland subject to fertilizers and years of using

At all periods of investigations, applying of nitrogen fertilization promoted increasing of productivity. Applications of full mineral fertilizers promoted the highest yield at 2008 – 9.17 t ha⁻¹ by even distribution and 8.99 t ha⁻¹ by irregular distribution.

There is a need to notice the impact of nitrogen fertilization distribution on indexes of productivity. At all periods of investigations, even distribution (per 40 kg ha⁻¹ N for each cutting) provided higher yield comparatively with irregular distribution (per zero-N treatment for first cycle, per 40 kg ha⁻¹ N for second cycle and per 80 kg ha⁻¹ N for third cycle).

The share of mesophytes in grasslands negative correlated with weather conditions, while the percent of plants tolerant to drought – xeromesophytes – positive correlated.

On unfertilized grassland and on plots with phosphorus-potassium fertilizers increasing of share of xeromezophytes was followed by quantity of birds-foot trefoil (*Lotus corniculatus*). According to Podani (2009), the portion of legumes in grasslands was markedly affected by a mutual interaction of environmental conditions and the management practices applied to the grassland.

The use of nitrogen on grasslands reduced the quantity of species (Suding et al., 2005,) and the herbage of mesophyte group (degree of cocksfoot (*Dactylis glomerata*), fescue grass (*Festuca rubra*), timothy grass (*Phleum pratense*)) kept on grassland, therefore the applications of full mineral fertilizers relieved impact of weather condition. Balezentiene and Bleizgys (2014) noted such tendency, when fertilizer can mollify the influence of climate change. On grasslands with full mineral fertilizer the share of mesophytes depended on HTC and it was 73.2–94.1 %. The highest coefficient of correlation ($r = -0.902$ for mesophytes and $r = 0.970$ for xeromesophytes) was fixed when the NPK application with even distribution was used (Table 2). Impact of climate change on hydromorphic groups was listed noticeable on unfertilized grassland – the share of mesophytes depended on HTC by 35.3 %, and xeromesophytes depended on HTC by 27.3 %. Agrometeorological indicator, G. Selianinov hydrothermal coefficient, did not demonstrate the actual role of meteorological conditions in sowing grasses also in research of A. Marcinkevičiene et al. (2011).

Table 2: Correlation between species composition and hydrothermal indexes

| Fertilizer | Species hygromorphs group | | | | | |
|-------------|------------------------------|--------|--------|----------------|-------|-------|
| | Mesophytes | | | Xeromesophytes | | |
| | P | T | HTC | P | T | HTC |
| | Index of correlation (r) | | | | | |
| UF | -0.534 | -0.421 | -0.532 | 0.600 | 0.460 | 0.594 |
| PK | -0.675 | -0.348 | -0.668 | 0.518 | 0.403 | 0.515 |
| PK + Ned | -0.886 | -0.681 | -0.902 | 0.964 | 0.504 | 0.970 |
| PK + Nid | -0.939 | -0.360 | -0.925 | 0.848 | 0.636 | 0.855 |
| | Determination (d) % | | | | | |
| UF | 28.6 | 17.8 | 27.3 | 36.0 | 21.2 | 35.3 |
| PK | 45.6 | 12.1 | 44.3 | 26.9 | 16.2 | 26.5 |
| PK + Ned | 78.6 | 46.4 | 81.3 | 93.0 | 25.4 | 94.1 |
| PK + Nid | 88.1 | 13.0 | 85.6 | 71.9 | 40.5 | 73.2 |

Notes. P – precipitation, T – temperature, HTC – hydrothermal coefficient; UF – unfertilized control. PK includes 60 kg ha⁻¹ P and 90 kg ha⁻¹ K. Ned – even distribution per 40 kg ha⁻¹ N for each cutting; Nid – irregular distribution per zero-N treatment for first cycle, per 40 kg ha⁻¹ N for second cycle and per 80 kg ha⁻¹ N for third cycle.

Findings of correlation analysis indicated that precipitations were more significant impact on change of hygromorphs groups on long-term grasslands than temperatures. Strongly relationships between climatic conditions and biodiversity were noted by Plantureux et al. (2012). The most significant impact of weather conditions on DM yield was on unfertilized grassland (Table 3). The important influence of HTC on DM yield was registered by Bulgarian (Petkova, 2013) and Polish (Skovera et al., 2014) scientists.

Table 3: Correlation between productivity and hydrothermal indexes

| Fertilizer | 1991–1995 | | 1996–2000 | | 2001–2005 | | 2006–2010 | | 2011–2013 | |
|--|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| | <i>r</i> | d, % | <i>r</i> | d, % | <i>r</i> | d, % | <i>r</i> | d, % | <i>r</i> | d, % |
| Correlation between yield and precipitation | | | | | | | | | | |
| UF | -0.228 | 5.2 | 0.706 | 49.9 | 0.689 | 47.5 | 0.767 | 58.8 | 0.785 | 61.6 |
| PK | 0.15 | 2.3 | 0.135 | 1.8 | 0.689 | 47.5 | 0.771 | 59.4 | 0.526 | 27.6 |
| PK + Ned | -0.252 | 6.4 | 0.408 | 16.7 | -0.001 | 0.0 | 0.237 | 5.6 | 0.819 | 67.1 |
| PK + Nid | 0.397 | 15.7 | 0.228 | 8.3 | -0.887 | 78.6 | 0.556 | 30.9 | 0.888 | 78.9 |
| Correlation between yield and temperature | | | | | | | | | | |
| UF | 0,551 | 30.4 | 0.028 | 0.1 | 0.507 | 25.8 | -0.377 | 14.2 | -0.469 | 22.0 |
| PK | 0.431 | 18.6 | 0.524 | 27.4 | 0.369 | 13.6 | -0.418 | 17.4 | 0.012 | 0.0 |
| PK + Ned | 0.564 | 31.8 | 0.357 | 12.7 | -0.133 | 1.8 | 0.170 | 2.9 | 0.454 | 20.6 |
| PK + Nid | 0.069 | 0.5 | 0.466 | 21.7 | -0.078 | 0.6 | 0.235 | 5.5 | -0.582 | 33.9 |
| Correlation between yield and hydrothermal coefficient | | | | | | | | | | |
| UF | -0,184 | 3,4 | 0,656 | 43 | -0,81 | 65,6 | 0,769 | 59,1 | 0,999 | 98 |
| PK | 0,329 | 10,9 | 0,029 | 0,1 | -0,743 | 55,1 | 0,775 | 60,1 | 0,218 | 4,7 |
| PK + Ned | 0,244 | 5,9 | 0,321 | 10,3 | 0,123 | 1,5 | 0,22 | 4,8 | 0,716 | 51,3 |
| PK + Nid | 0,434 | 18,8 | 0,188 | 3,5 | -0,802 | 64,3 | 0,527 | 27,8 | 0,82 | 67,3 |

Notes. UF – unfertilized control. PK includes 60 kg ha⁻¹ P and 90 kg ha⁻¹ K. Ned – even distribution per 40 kg ha⁻¹ N for each cutting; Nid – irregular distribution per zero-N treatment for first cycle, per 40 kg ha⁻¹ N for second cycle and per 80 kg ha⁻¹ N for third cycle.

Impact of climate changes was less noticeable under PK fertilization than on unfertilized grassland – at period 1991–1995, 1996–2000 and 2011–2014 dependence of DM yield from HTC is weak. At that time the effect of meteorological factors on DM yield is 0.1–10.9 %. It is necessary to note at just time the years with reduced temperatures were presented, HTC was within the bounds of 1.2–2.6. At 2006–2010 HTC was more than 2.0 the herbage DM yield strongly correlates ($r = 0.775$) with the HTC under PK fertilizers, at 2001–2005 (HTC fever than 1.9) $r = -0.743$. Therefore, correlations between yield and HTC were positive in wet years and negative in dry years.

Relationship between yield and HTC under NPK fertilizers visible reduced, particularly for even distribution ($r = 0.123 - 0.321$) at all periods except 2011–2014 when the higher temperatures were fixed and precipitation were less than rate. If N fertilizer was not applied early in spring weak correlation was only in period 1996–2000 with unstable weather conditions (three drought periods, two wet periods and two periods with low temperatures).

When the dependence on the main indicators of productivity (degree of DM yield, fodder units and digestible protein) from HTC was analyzed the strongly correlation did not fix (see table 4).

Table 4: Correlation between productivity and hydrothermal indexes

| Fertilizer | Dry matter yield | | | Forage units | | | Digestible protein | | |
|-----------------------------------|------------------|-------|--------|--------------|-------|--------|--------------------|--------|--------|
| | P | T | HTC | P | T | HTC | P | T | HTC |
| Index of correlation (<i>r</i>) | | | | | | | | | |
| UF | 0.313 | 0.893 | 0.53 | 0.142 | 0.767 | -0.003 | -0.036 | 0.463 | -0.132 |
| PK | 0.092 | 0.872 | -0.154 | 0.249 | 0.426 | -0.358 | -0.379 | 0.169 | 0.399 |
| PK +Ned | -0.167 | 0.838 | -0.395 | -0.586 | 0.142 | -0.591 | -0.225 | -0.034 | -0.167 |
| PK +Nid | -0.148 | 0.836 | -0.393 | -0.767 | 0.345 | -0.827 | -0.765 | -0.204 | -0.673 |
| Determination (d), % | | | | | | | | | |
| UF | 9.8 | 79.8 | 0.3 | 2.0 | 59.0 | 0.1 | 0.1 | 21.4 | 1.7 |
| PK | 0.8 | 76.0 | 2.4 | 6.2 | 18.1 | 12.8 | 14.4 | 2.9 | 15.9 |
| PK +Ned | 2.8 | 70.3 | 15.6 | 34.3 | 2.0 | 34.9 | 5.1 | 0.1 | 2.8 |
| PK +Nid | 2.2 | 69.9 | 15.5 | 58.8 | 11.9 | 68.4 | 58.6 | 4.2 | 45.2 |

Notes. P – precipitation, T – temperature, HTC – hydrothermal coefficient; UF – unfertilized control. PK includes 60 kg ha⁻¹ P and 90 kg ha⁻¹ K. Ned – even distribution per 40 kg ha⁻¹ N for each cutting; Nid – irregular distribution per zero-N treatment for first cycle, per 40 kg ha⁻¹ N for second cycle and per 80 kg ha⁻¹ N for third cycle.

At the same time DM yield depended on temperature by 69.9–79.8 %. Following to Daugėlienė et al. (2009) the annual herbage dry matter yield strongly correlates ($r = 0.77$) with the sum of positive temperatures and the herbage dry matter yield was most markedly affected by the warmth of May ($r = 0.88$).

Accumulation of fodder units and digestible protein under application of full mineral fertilizers strongly or weak correlated with precipitation. Under NPK fertilizers with even distribution of nitrogen for each cutting relationship between fodder units, digestible protein and precipitation was weak. Under NPK fertilizers with irregular distribution of nitrogen these measure strongly correlated ($r = -0.767$ for forage units and -0.765 for digestible protein) with precipitation.

Strongly relationship was marked between accumulation of fodder units and temperatures ($r = 0.767$) on unfertilized grassland.

CONCLUSIONS

1. Dry matter yield depends on temperature by 70–80 %, accumulation of fodder units and digestible protein under application of full mineral fertilizers is most markedly affected by precipitation.

2. Considerable factor of impact on grasslands is weather conditions and climate change. They decrease mezophytes on unfertilized and insufficient fertilizing plots, and they further replace these grasses by more resistant species. Applications of NPK are smooth impact of weather condition and become the principal factor of yield and biodiversity control.

3. Optimal doses of NPK fertilizers will allow regulating species composition and will permit to receive 8–9 t ha⁻¹ dry matter in condition of semi continental climate independently to weather conditions and age of grassland.

The financial support of National Academy of Agricultural Science of Ukraine is gratefully acknowledged.

REFERENCES

1. Alkemade R., Bakkenes M. Eickhout B. 2011. Towards a general relationship between climate change and biodiversity: an example for plant species in Europe. *Regional Environmental Change*, 11: 143–150.
2. Allen V. G., Batello C., Berretta E. J., Hodgson J., Kothmann M., Li X., McIvor J., Milne J., Morris C., Peeters A., Sanderson M. 2011. An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science*, 66: 2–28.
3. Balezentiene L., Bleizgys R. 2014. Short-term inventory of GHG fluxes in semi-natural and anthropogenized grassland. *Polish Journal of Environmental Study*, 20 (2): 255–262.
4. Bellard C., Bertelsmeier C., Leadley P., Thuiller W., Courchamp F. 2012. Impacts of climate change on future biodiversity. *Ecology Letters*, 15, 365–377.
5. Calanca P., Fuhrer J. 2005. Swiss agriculture in a changing climate: grassland production and its economic value. Haurie A., Viguier L. (eds.). *The coupling of climate and economic dynamics*, volume 22 of the series *Advances in Global Change Research* pp 341-353.
6. Daugėlienė N. Žekonienė V. 2009. The effect of climate change on the productivity of agroecosystems. *Ekologija*, 55: 20–28.
7. De Boeck H. J., Lemmens C., Zavalloni C., Gielen B., Malchair S., Carnol M., Merckx R., Van den Berge J., Ceulemans R., Nijs I. 2008. Biomass production in experimental grasslands of different species richness during three years of climate warming. *Biogeosciences*, 5: 585–594.
8. From T. Wrage N., Isselstein J. 2012. Exploring the relationship between diversity and productivity of a semi-natural permanent grassland using plant functional traits. Goliński P. et al. (eds.). *Proceedings of the 24th general meeting of the European Grassland Federation*. Lublin, Poland, p. 70–72.
9. Hopkins A., Del Prado A. 2007. Implications of climate change for grassland in Europe: impacts, adaptations and mitigation options: a review. *Grass and Forage Science*, 62: 118–126.
10. Huyghe C., Litrico I., Surault F. 2012. Agronomic value and provisioning services of multi-species swards. Goliński P. et al. (eds.). *Proceedings of the 24th general meeting of the European Grassland Federation*. (Lublin, Poland), p. 35–46.
11. Grace J. B., Anderson T. M., Smith M. D., Seabloom E., Andelman S. J., Meche G., Weiher E., Allain L. K., Jutila H., Sankaran M., Knops J., Ritchie M., Willig M. R. 2007. Does species diversity limit productivity in natural grassland communities? *Ecology Letters*, 10: 680–689.
12. Jentsch A., Kreyling J., Beierkuhnlein C. 2007. A new generation of climate-change experiments: events, not trends. *Frontiers In Ecology And The Environment*, 5: 365–374.
13. Kohoutek A., Odstrčilová V., Komárek P., Nerušil P., Němcová P. 2012. The impact of precipitation on yield of *Dactylis glomerata*, *Dactylis polygama*, *Festuca arundinacea* and genus hybrids in 1986–2011. Goliński P. et al. (eds.). *Proceedings of the 24th general meeting of the European Grassland Federation*. Lublin, Poland, p. 139–141.
14. Mannetje L. 2007. Climate change and grasslands through the ages: an overview. *Grass and Forage Science*, 62 (2): 113–117.

15. Marcinkevičiene A., Bogužas V. 2011. The effect of meteorological factor in the productivity of catch crops in sustainable and organics system. *Zemdirbyste=Agriculture*, 98 (3): 245–250.
16. Oliver T. H., Morecroft M. D. 2014. Interactions between climate change and land use change on biodiversity: attribution problems, risks, and opportunities. *Advanced Review*, 5: 317–335.
17. Parmesan C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 37: 637–669.
18. Peeters A. 2012. Past and future of European grasslands. The challenge of the CAP towards 2020 Grassland – a European Resource? Goliński P. et al. (eds.). *Proceedings of the 24th general meeting of the European Grassland Federation*. (Lublin, Poland), p. 17–32.
19. Petkova D. 2013. Formation of dry matter yield in alfalfa, depending on the meteorological conditions. *Journal of Crop and Weed*, 9 (1): 151–155.
20. Plantureux S., Michaud A., Baumont R. 2012. Influence of pedoclimatic and management factors on botanical and functional composition of grasslands. Goliński P. et al. (eds.). *Proceedings of the 24th general meeting of the European Grassland Federation*. (Lublin, Poland), p. 82–84.
21. Podani J. 2009. Convex hulls, habitat filtering, and functional diversity: mathematical elegance versus ecological interpretability. *Community Ecology*, 10: 244–250.
22. Porter J. R., Semenov M. A. 2005. Crop responses to climatic variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360: 2021–2035.
23. Skovera B., Jedrszczyk E., Kopcinska J., Ambroszczyk A. M., Kolton A. 2014. The effect of hydrothermal conditions during vegetation period on fruit quality and of processing tomatoes. *Polish Journal of Environmental Study*, 23 (1): 195–202.
24. Soussana J.-F., Lüscher A. 2007. Temperate grasslands and global atmospheric change: a review. *Grass and Forage Science*, 62: 127–134.
25. Suding K. N., Collins S. L., Gough L., Clark C., Cleland E. E., Gross K. L., Milchunas D. G., Pennings S. 2005. Functional- and abundance-based mechanisms explain diversity loss due to N fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 4387–4392.
26. Thuiller W., Laval S., Araujo M. B., Sykes M. T., Prentice I. C. 2005. Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 8245–8250.
27. Trnka M., Bartošova L., Schaumberger A., Ruget F., Eitzinger J., Formayer H., Seguin B., Olesen J. E. 2011. Climate change and impact on European grasslands. *Grassland Farming and Land Management Systems in Mountainous Regions*. *Proceedings of the 16th symposium of the European Grassland Federation*. Gumpenstein, Austria, p. 39–51.
28. Yarmolyuk M. T., Sedilo G. M., Konyk G. S., Kurgak V. G., Mizenyk I. D., Bugryn L. M., Kotyash U. A., Panakhyd G. Ya., Dzyab'yak G. M. 2013. Agroecobiological basis of establishment and using of meadow phytocenosis Lviv, Ukraine, 304 p. (in Ukrainian).

АНОТАЦІЯ

ВПЛИВ ПОГОДНИХ УМОВ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТРАВСТОЇВ В ЗАХІДНІЙ УКРАЇНІ

Дослідження проводились в Західній Україні (Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН) протягом 1991-2014 років на стаціонарному довготривалому досліді, який було залужено в 1974 році на темно-сірих опідзолених легкосуглинкових ґрунтах.

Довготривалі травостої, які можуть бути визначені як земля і рослинність, що ростуть на ній, присвячені виробництву різних кормів, що використовуються шляхом випасу, скошування, або комбінованого використання, займають в Європейському Союзі (ЄС-27) більше 57 млн. га, а тимчасові пасовища 10 млн. га, разом вони займають майже 15% всієї території ЄС-27 і близько 39% європейських сільськогосподарських угідь. На заході України постійні і тимчасові пасовища займають більше 2 млн. га. Вони поширені в широкому діапазоні кліматичних і ґрунтових умов. Сучасні дослідження показали значні зміни клімату, а також їх вплив на лучні агроценози. Ключові сценарії особливостей змін клімату для Європи вказують на більш високі температури влітку і взимку, збільшення зимових опадів у більшості регіонів і більш часті екстремальні погодні умови. Вважається, що найбільш помітним вплив змін клімату може бути для травостоїв в південній Європі (посухи і збільшення пожеж, що призводять до опустелювання), в Північній Європі (осушення тундри), прибережних районах, які постраждали від підвищення рівня моря (затоплення солончаків і т.д.) і високогірних районах (зниження води від танення снігу). Особливо загрозливими є сезонні посухи на вологих травостоях.

Більшість лучних трав, які утворюють основу фітоценозів, є стійкими до погодних умов, проте вони є великими споживачами води. Нестача води викликає зниження продуктивності пасовищ і провокує заміщення вологолюбивих трав з травостою. Багато вчених спостерігали сильну кореляцію між продуктивністю сінокосів і кліматичними змінами. Є думка, заснована на застосуванні методів використання пасовищ в умовах атмосферних і кліматичних змін за допомогою імітаційної моделі кліматичного сценарію, що глобальне потепління буде супроводжуватися зміною циркуляції поживних речовин. Окремі науковці вважають, що луки зможуть виграти від збільшення рівня CO₂, більш відповідної температури: урожайність лук може зрости на 50%.

Метою даної роботи є визначення впливу змін клімату на біорізноманіття і врожайність травостоїв на території західного Лісостепу України. Це дозволить встановити залежність продуктивності від погодних умов, і визначити основні шляхи підвищення продуктивності із одночасним збереженням біорізноманіття.

Згідно результатів кореляційного аналізу відсоток гігроморфних груп рослин довготривалих травостоїв в більшій мірі залежав від кількості опадів ніж від сум активних температур. Частка мезофітів в травостоях негативно корелювала з погодними умовами, в той час як відсоток рослин толерантних до посухи (ксеромезофітів) – позитивно.

Незначне підвищення температурних показників та нестабільна кількість опадів протягом вегетаційного періоду зумовили зменшення відсотка мезофітів на неудобрених і недостатньо удобрених ділянках. Застосування лише фосфорно-калійних добрив сприяло кращому розвитку бобових культур, зокрема лядвенцю рогатого. Тому відсоток ксеромезофітів збільшився з 12% до 51%. Застосування повних мінеральних добрив (НРК) знівелювало вплив погодних умов (відсоток ксеромезофітів знизився лише на

4-5%), і це стало основним фактором, що визначає урожайність травостою та його видовий склад.

Вихід сухої речовини залежав від температури на 70-80%, а на вихід кормових одиниць і перетравного протеїну при застосуванні повних мінеральних добрив найбільш помітно впливали опади. Найбільшу урожайність неудобреного травостою (4,04 т/га) був отримано у 2009 році, коли кількість опадів була на 181,5 мм більшою за норму, а температура на 0.7°C вищою за середню багаторічну.

Оптимальна доза мінеральних добрив ($N_{120}P_{60}K_{90}$) із триразовим внесенням азоту ($N_{40+40+40}$) регулює видовий склад і дозволяє одержувати 8-9 т/га сухої речовини в умовах помірно-континентального клімату незалежно від погодних умов і віку травостоїв.

Małgorzata Nazarkiewicz, Janina Kaniuczak, Edmund Hajduk

Department of Soil Science, Environmental Chemistry and Hydrology,
University of Rzeszow, Poland
e- mail: nazarm@univ.rzeszow.pl

OCCURRENCE OF GEOTHERMAL RESOURCES AND USING THEM IN POLAND AND IN PODKARPACIE REGION

Abstract. Geothermal energy, that is coming from the interior of the Earth, is subject to natural reconstructing, so belongs to renewable energy sources. Depending on the water temperature it can be applied for heating targets or for the production of electricity. It is being used in several dozen countries of world, among others in Iceland, USA, Germany, Austria, France, Turkey and also in Tunisia and Kenya. Utilisation of this energy takes place in Poland at the moment on a small scale compared with many European countries or in the world. In addition to numerous advantages of the use of geothermal energy, one can also exchange barriers which limit its development in our country. But an undoubted interest in this kind of the energy exists on account of the growing environmental pollution, as well as seeking energy sources which could replace non-renewable deposits as coal or petroleum. About strengths of geothermal energy in Poland decide economic, ecological and social considerations and a high level of security of supply of thermal energy.

Key words: geothermal energy, hydrothermal deposits, limit of the emission of pollutants

INTRODUCTION

The geothermal energy is an energy coming from the interior of the Earth, gathered in underground waters and rocks. Sources, which cause the heat generation were created else during the forming of the Earth and at presently result from the disintegration of radio-elements and chemical reactions [18]. It is practically almost inexhaustible as a result of the transfer operation it from the inside of the Earth through conducting and the convection and ranked among the group of renewable energy sources that is so which are liable to natural reconstructing [28]. It is possible to divide geothermal sources on hydrothermal and petrothermal. Hydrothermal apply of high-temperature layers of mixture of steam heated up about the temperature 200-300⁰ C or deposits of hot water about 50-70⁰ C. It refers to water, steam or mixture water – steam, which are in water veins. However petrothermal resources constitutes a thermal energy having perspective meaning, gathered in dry, warmed and porous rocks [18]. The geothermal energy dependent on the carrier and his productivity can be used at heating targets (heating, air-conditioning, for producing warm water etc.) or for the production of electricity [5, 28]. Geothermia is applied in at least 65 countries of world, in the biggest degree in Iceland [10]. The United States widely are using geothermal pumps of the warmth for warming and chilling of buildings [5] and are leading the way in using the geothermal power for the production of the electric current based on binary systems [21]. In the direct use of the geothermal energy examples of the fast rate of growth are: Tunisia [5, 19], Turkey [8, 17] and Kenya which is the first African country exploiting the geothermal power [16].

In the area of Poland exist three principal geothermal provinces which are about 80 % surfaces of the country.

Using renewable energy resources, including the warmth of the Earth, Poland could partly become independent from foreign energy resources [14] and to reduce using own conventional sources (mainly of coal), in the process reducing emission of harmful substances into air.

DEVELOPMENT OF THE GEOTHERMAL ENERGY IN POLAND (examples)

Developing the geothermal power in Poland is becoming more and more popular, however compared with many European countries and against the background of many countries of the world, it is held so far to the slight scale [12]. Poland is located outside the zones of tectonic and volcanic activity, therefore exploration of a deposits of steam of high performance for the production of electricity is not very possible, and certainly unprofitable. However, there are natural sedimentary basins – structural filled up with geothermal waters in which documented the temperature range from 20 to 90⁰C and, in extreme cases, in excess of 100⁰C [6]. In such places which are part of geothermal circles and geothermal provinces, hydrothermal deposits are arranged in the interior of the Earth, about different temperatures depending on the depth (fig.1).

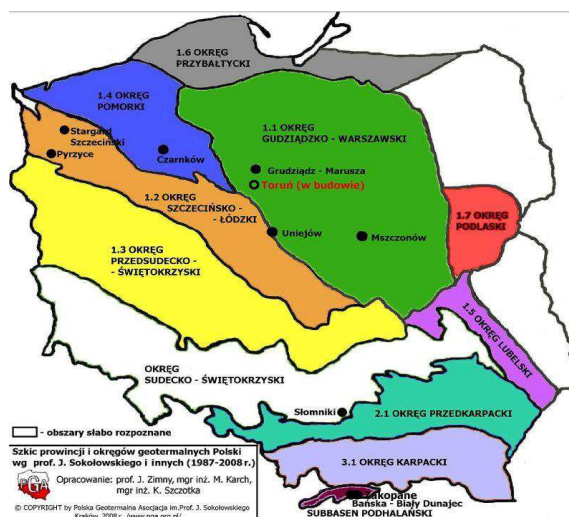


Figure 1. Geothermal districts in Poland [27]

Geothermal energy resources are located within the Polish Lowlands, the Sudeten and Carpathian Mountains. The resources that occur in the Lower Cretaceous basins in the Polish Lowland are of particular importance for geothermal industry, since they are best researched and the temperature at the top of the Cretaceous reservoir reaches 50-98⁰C. North-eastern part of the Mogileńsko – Łódzka basin is the most prospective zone of thermal water in the Lower Cretaceous reservoir. It is a strip of Zduńska Wola - Łęczycza - Uniejów - Turek - Kłodawa - Konin - Ślesin - Strzelno - Mogilno - Gniezno - Janowiec Wielkopolski - Domasławek - Wągrowiec [15].

Podkarpacie area is characterized by considerable diversity in terms of geological structure, land development and natural and cultural environment, therefore, its districts create various opportunities to serve therapeutic-spa and rehabilitation-recreation functions [3]. The highest potential for geothermal energy, amounting to more than 10 MW is in the districts of Przeworsk and Strzyżów, and the lowest potential of less than 1 MW occurs in the districts of Nisko, Leżajsk, Lubaczów, Sanok and Lesko [25].

Low temperature of geothermal energy does not allow the direct use of the Earth's heat, requiring the use of heat pumps. They provide non-explosive, safe installation with long life and are characterized by low operating costs and independence from fuel suppliers, but the main drawback is high cost of the investment [26]. A heat pump is a device intended to capture the heat energy from the environment of low temperature and a high thermal capacity into the environment of high temperature and low thermal capacity (e.g. a building) at the expense of energy input for

its operation [28]. Direct use of Earth's heat is possible in case of high-temperature geothermal energy that is, among other things, for heating houses and leisure facilities, in greenhouses or for drying agricultural products [7].

The geothermal waters of Podhale Basin have great potential of thermal energy. This resulted in the possibility of introducing ecological central heating system in substantial part of the Highlands. In this area such a system is 40% cheaper than gas heating and 90% of Zakopane hotels and about 250 000 private households use this kind of energy. The main argument was here the need to significantly reduce environmental pollution, which was the result of burning coal [20]. It is also important because of the dynamic development of the region of Podhale, where more and more new objects of tourist infrastructure (hotels and guesthouses) are created. Geotermia Podhalańska S.A., which was founded in 1993, has created for over 20 years many production wells and expanded the number of heating networks, joining customers, among others the municipalities of Biały Dunajec, Zakopane, Poronin or Szaflary. It is engaged in the generation, transmission, distribution of heat and electricity generation. The company's operations has created significant environmental effect, as between 1999 and 2012 CO₂ emissions was reduced by more than 330 000 tons, a concentration of SO₂ and particulate matter were limited (fig. 2).

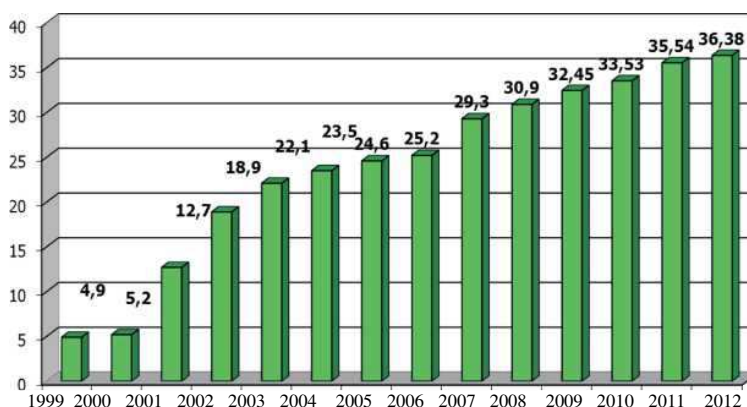


Figure 2. Total annual CO₂ emissions reduction (in thous.t), resulted from connections to heating network in 1999-2012 [23]

Sources of the geothermal power exist also in mining areas, where through mining panes are discharged to the surface large amounts of mine water; from them it is possible to recover the warmth without the cost of drilling new wells and pumping water. Easy terms in this respect exist in the area of an Upper Silesia Coal Basin, where pumping stations from the area of Chorzów and Bytom belong to objects about the most favourable terms for acquiring the geothermal energy [22].

Examples of using the geothermal power in Poland were presented in table 1.

Table 1. Geothermal energy use in Poland (2004) [9]

| Manner of using | Installed power (MW _t) | Warm output (TJ/of the year) |
|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| Central heating | 82,8 | 306,5 |
| Balneotherapy | 6,8 | 26,9 |
| Heating of greenhouse | 1 | 4,0 |
| Other - extraction of mineral salts | 0,3 | 1 |
| Pumps of the warmth | 80 | 500 |
| Total | 170,9 | 838,4 |

ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF GEOTHERMAL ENERGY

- Geothermal energy does not cause environmental pollution; also it allows to improve the quality of environment by limiting emissions of pollutants into air and water [5, 11, 28]. This is particularly important in Poland, where the energy industry based on coal is the largest source of CO₂ emission [24]. Burning fossil fuels also causes emissions of NO₂, methane, SO₂, NO_x, particulate matter to the environment and can produce large amounts of waste [1]. The use of geothermal energy as an alternative to conventional energy sources allows its use without interfering in the environment [6].

- Resources of geothermal energy are also practically unlimited and renewable, the heat source in the vicinity of the user (because they are local resources) and independent from variable climatic conditions and weather [6].

- Water resources and geothermal energy can be widely used, and, therefore, used for heating purposes as well as agricultural, technological, gardening and balneological. Elevated temperatures (20-86⁰C) as well as the content of hydrogen sulfide, silica and fluoride which have a beneficial effect on the human body allow to consider geothermal water for medical and recreational uses, which are in great demand [13].

- Acquisition of geothermal heat (i.e. operating costs) is independent of energy carriers prices [6, 28].

There are also barriers limiting the possibility of large-scale use of geothermal resources. Energy cannot be easily obtained everywhere and high investment costs for the construction of the installation may be expected [28]. Although it limits some kind of pollutants into air and water, there is the possibility of emissions of other harmful gases, released from geowatere.g. H₂S. Hydrogen sulfide has to be absorbed in the respective systems, and this increases the cost of electricity production. Radon may also pose a threat, which is a product of radioactive decay of uranium and could be present in the steam from geothermal wells.

The negative aspects of geothermal energy may also include low water temperature in most areas, decrease in source productivity, high mineralization and associated salinity (in the volcanic areas, and crystal rocks in water, which typically have low mineralization and may be used as they are without heat exchangers). High mineralization of water requires keeping it in closed systems, so highly mineralized water must be injected back into the ground, so as not to disturb the status of surface water [4]. Besides, contamination of groundwater, the interference in surface water (which can be caused by wells, pipelines, power plants and pumping stations) as well as land subsidence as a result of extracting fluid from the reservoir rocks can occur.

Despite these problems, the use of geothermal resources should be increased, because the estimated comparison shows that the costs of geothermal investments are at least twice lower than the wind, and several times lower than water energy [2].

REFERENCES

1. Bednorz J., 2011. Socio-ecological effects of operating coal in Poland. *Mining and Geology*, 4 (6), 5-17.
2. Bociek Z., 2009. Concept of development of geothermal heat plants in suport for municipal heating networks. *Overview Geological*, 57 (8), 648.
3. Chowaniec J., Górka A., 2009. Assessment of possibility for development of geothermal energy in Podkarpacie. *Scientific-Technical Conference: Geothermal drilling – New technologies of drilling and the making available of geothermal waters and prospects for the use of geothermal energy in the light of the country’s energy policy*, 33-42.
4. Czyżewski P., 2009. The use of geothermal energy in Poland today and in the near future. *New Energy*, 1 (7), 65-66.

5. Fridleifsson I.B., 1998. Direct use of geothermal energy around the world. *GHC Bull.*, 19 (2), 4-9.
6. Górecki W., Kępińska B., 2009. Analysis of the possibility of use the waters and the geothermal energy in Poland. *Scientific-Technical Conference: Geothermal drilling – New technologies of drilling and the making available of geothermal waters and prospects for the use of geothermal energy in the light of the country's energy policy*, 7-19.
7. Kapuściński J., Rodzoch A., 2010. Geotermia low-temperature in Poland and in the world. The current state and prospects of the development. *Technical, environmental and economic conditionings*, pp 140.
8. Kaygusuz K., Kaygusuz A., 2004. Geothermal energy in Turkey: the sustainable future. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.*, 8, 545-563.
9. Kępińska B., 2005. Geothermal energy country report from Poland, 2000-2004. *Proceedings World Geothermal Congress 2005*, 1-10.
10. Kępińska B., 2008. Geothermal energy use in Europe. *Geothermal Training Programme. 30th Anniversary Workshop*, 1-14.
11. Kępińska B., 2013. Geothermal energy uses in Poland, 2012-2013. *Technique of the Geological Surveys. Geotermia, the Sustainable Development*, 1, 5-24.
12. Kępińska B., 2016. The state of geothermal energy uses in the world and in Europe. *Technique of the Geological Surveys. Geotermia, the Sustainable Development*, 1, 5-13.
13. Kępińska B., Ciągło J., 2008. Possibilities of use of the Podhale geothermal waters for balneotherapeutical and recreational purposes. *Geology*, 34 (3), 541-559.
14. Kozłowski R.H., Tallat J., 2006. Strategy of the restructuring of Polish energetics. Report IAE-123/A. Material examinations to needs of the power station and the power industry. XIII. *Scientific - Technical Seminar, Zakopane 2006.*, 1-11.
15. Kubski P., 2012. Overview of resources and utilization of geothermal energy in Poland. *Instal*, 2, 14-16.
16. Mariita N. O., 2015. Status and challenges in training on geothermal energy in Africa. *Proceedings World Geothermal Congress 2015.*, 1-3.
17. Mertoglu O., Simsek S., Basarir N., 2015. Geothermal country update report of Turkey (2010-2015). *Proceedings World Geothermal Congress 2015.*, 1-9. *Scientific - Technical Seminar*
18. Michałowski M., 2011. Environmentally – friendly use of geothermal energy in Poland. *Journal of the Polish Mineral Engineering Society*, 2 (28), 1-9.
19. Mohamed M.B., 2015. Geothermal energy development: the Tunisian experience. *Proceedings World Geothermal Congress 2015.*, 1-8.
20. Nowobilska E., Nowobilska-Luberda A., Ziernicka-Wojtaszek A., Zawora T., 2011. Potential for exploitation of thermal water supplies in the Podhale region. *Ecological Engineering*, 27, 136-143.
21. Pająk L., Bujakowski W., 2013. Geothermal energy in binary systems. *Overview Geological*, 6 (11/2). 699-705.
22. Solik-Heliasz E., Małolepszy Z., 2001. The possibilities of utilisation of geothermal energy from mine waters in the Upper Silesian Coal Basin. *Proceedings of International Scientific Conference „Geothermal Energy in Underground Mines”*, November 21-23. 2001, 81-88.
23. Ślimak Cz., 2013. PEC Geotermia Podhalańska SA – current state, development prospects. *Ekologically and ekonomically „in plus”*. *Technique of the Geological Surveys. Geotermia, the Sustainable Development*, 1, 25-35.
24. Taras A., Turowski P., 2011. New chances for Polish energetics: from coal to gas from slates and to atom. *National Security II*, 18, 161-177.

25. Provincial development programme of renewable energy sources for the podkarpacki province, 2013. Case-Doradcy Sp. z o.o. pp 86.
26. Zaprzelski Z., 2006. Assessment of resources of geothermal energy and possibilities of for her using in Warmia - Mazury province. Study W-MBPP in Olsztyn, pp 16.
27. Zimny J., Karch M., Szczotka K., 2008. Sketch of the province and geothermal circles of Poland according to Prof. Sokołowski and other (1987-2008).
28. Zmywaczyk J., 2013. Renewable energy sources – selected problems. Problems of Mechatronics : weaponry, aviation, engineering of the safety, 4, 1 (11), 37-58.

STRESZCZENIE

WYSTĘPOWANIE ZASOBÓW GEOTERMALNYCH I ICH WYKORZYSTANIE W POLSCE I NA PODKARPACIU

Energia geotermalna, która jest zgromadzona w wodach podziemnych oraz w skałach, staje się coraz bardziej popularna na świecie i w Europie. Podlega naturalnemu odtwarzaniu, a więc należy do odnawialnych źródeł energii. W porównaniu z wieloma innymi krajami, zagospodarowanie tej energii w Polsce odbywa się dotychczas na nieznacznej skale. Polska leży poza strefami aktywności tektonicznej i wulkanicznej, dlatego pozyskiwanie złóż pary o dużej wydajności do produkcji energii elektrycznej jest mało możliwe, a na pewno nieopłacalne. Występują jednak tutaj duże zasoby energii geotermalnej, w większości o niskiej entalpii. Są to naturalne baseny sedymentacyjno – strukturalne wypełnione wodami geotermalnymi, których udokumentowane temperatury wynoszą od 20 do 90⁰C, a w skrajnych przypadkach przewyższających 100⁰C. Na terenie Polski wyróżnić można podstawowe rejony geotermalne takie jak Niż Polski, Zapadlisko Przedkarpackie i obszar Karpat, chociaż interesujące warunki posiadają również Sudety. Obszar Podkarpacia charakteryzuje się znacznym zróżnicowaniem pod względem budowy geologicznej, zagospodarowania terenu oraz środowiska przyrodniczo-kulturowego, dlatego poszczególne jego powiaty stwarzają różnorodne możliwości dla pełnienia funkcji leczniczo-uzdrowiskowej i rehabilitacyjno-rekreacyjnej. Najwyższy potencjał energetyki geotermalnej, wynoszący powyżej 10 MW występuje w powiatach przeworskim i strzyżowskim, natomiast najniższy potencjał, poniżej 1 MW występuje w powiatach niżańskim, leżajskim, lubaczowskim, sanockim oraz leskim.

Możliwości wykorzystania ciepła z wód geotermalnych zależą od ich temperatury. Wody i pary o wysokiej temperaturze można wykorzystywać do wytwarzania energii elektrycznej, zaś nisko- i średniotemperaturowe do celów ciepłowniczych, rekreacyjnych i leczniczych. Główne zalety korzystania z energii geotermalnej z wnętrza Ziemi to niskie koszty eksploatacji niezależne od cen nośników energii, długa żywotność eksploatacyjna i możliwość korzystania z bezpiecznej, niewybuchowej instalacji, niezależność od dostawców paliw i warunków pogodowych, brak negatywnego oddziaływania na środowisko (lub niewielka presja). Główne bariery utrudniające rozwój rynku to wysokie, początkowe nakłady inwestycyjne, ograniczoność występowania wody geotermalnej a także możliwość wystąpienia korozji instalacji. Niemniej jednak pozyskiwanie energii ze źródeł geotermalnych, jako jednego z rodzajów odnawialnych źródeł energii będzie nabierać coraz to nowego znaczenia, biorąc pod uwagę potrzebę redukcji emisji gazów cieplarnianych i wyczerpywanie tradycyjnych, konwencjonalnych paliw kopalnych. Poza tym z szacunkowych porównań wynika, że koszty inwestycji geotermalnych są co najmniej dwukrotnie niższe od wiatrowych i kilkakrotnie niższe od wodnych.

Andrii Dziubailo, Mariia Holovchuk, Viktor Senkiv

Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University

e-mail: dzyubaylo@ukr.net, maria_220393@ukr.net

DYNAMICS OF PHOTOSYNTHESIS FOR SOYBEAN DEPENDING ON THE CULTIVATION TECHNOLOGY

Abstract. Research conducted under the conditions of western steppes showed that the largest area of leaf surface is formed for soybean plants in the phase of full grain ripening. Among the varieties, Kyivska 98 stands out against the background. Photosynthetic potential of soybean plants increases in the period of beans formation – seed filling. subsequently, this index is significantly reduced. The variety Kyivska 98 forms the greatest photosynthetic potential of soybean. Net photosynthetic productivity increases to interphase period of beans formation - seed filling. The variety Kyivska 98 stands out among the varieties on this indicator. When the sowing norm for soybean varieties increases, the net productivity decreases.

Keywords: leaf surface area, photosynthetic potential, net photosynthesis productivity photosynthetically active radiation.

INTRODUCTION

Formation of high seed productivity for agricultural crops, including soybeans, is derived from using photosynthetically active solar radiation (PAR) by plants [1]. In this regard, scientists believe that the best PAR use must be created for crop optical and biological structure that will allow optimal use of radiant solar energy to synthesize organic matter for as a long time as possible [1, 6, 8, 15]. And the insufficient amount of assimilation surface in the early stages of organogenesis leads to a decline in the use of PAR, and excess area assimilation surface during the formation of generative organs can reduce the chlorophyll concentration, so that the lower tier leaves will only consume the products of photosynthesis, without taking part in a light phase photosynthesis.

Therefore, to maximize the yield of soybean seeds, it is required to form the optimal size of leaf surface area using the cultural practices of growing, corresponding photosynthetic potential and ensure adequate chlorophyll concentration in the leaves, which will increase the PAR utilization and photosynthetic productivity of crops.

MATERIALS AND METHODS

In our research, we studied the effect of variety (Yug 30, Kyivska 98 and Agate) and sowing norms (400, 500, and 600 thousand pcs./ha) on the basic parameters of crops photosynthetic productivity for soybeans, including the value of leaf surface, photosynthetic potential and net photosynthesis productivity.

Experiments were conducted on typical western steppes of Ukraine dark grey podzolic weakly eroded gley soils at Peremyslyany state sort testing research station.

Particle size of soil at the research area is large-silty light loamy for the top layer (0-20 cm) and contains 27.6-29.5% of clay (amount of particles is <0.01 mm) and 61.1-62.8% of large dust. The content of the sludge is 12.5-14.5% (Table. 2.1).

Soil fertility at the research area before laying the experiment is the following: humus content in the 0-20 cm layer (by Turin) is 2.0-2.2%, pH (KCl) – 5.7-6.0, hydrolytic acidity (by Kappen) – 2.1-2.5 mg eq. per 100 g of soil, alkali hydrolyzed nitrogen (by Cornfild) - 110 mg, mobile phosphorus (by Kirsanov) – 120, and exchangeable potassium (by Maslova) - 125 mg per 1 kg of

soil. The humus content is relatively low, indicating a low natural fertility of the soil. For potassium, soil research area belongs to the fourth group – with an increased supply of this element for grain, the average supply for cultivated crops and low supply for vegetables, and by the soil belongs to the third group according to the mobile phosphorus content with the average, low and very low supply for grain, row and vegetable crops respectively [1, 2]. The reaction of soil solution is neutral. According Lviv Center of Hydrometeorology, weather conditions during the study were mostly typical for this area, although there have been some differences for average air temperatures and precipitation from average long-term performance in some months of growth.

DISCUSSION

Obtained data showed that the leaf surface area for soybean plants largely depends on the vegetation phase, variety and seeding (Table. 1).

The increase in leaf surface area took place filling seed phase. If area of soybean leaves on one hectare was 4.8-7.1 thousand m² at the time of occurrence of the third trifoliate leaf, it was 25.9-29.1 thousand m² at the beginning of flowering, and 35.7- 40.3 thousand m² for the period of complete seeds filling. Prior to physiological maturity, assimilation surface area decreased to 24.0-30.2 thousand m²/ha.

During the growing season, soybean assimilation surface for the sort Kyivska 98 was higher compared to the sort Yug 30. During trifoliate leaf stage, the second leaf surface area for the soybean plant of sort Kyivska 98, depending on the sowing norms, ranged from 5.2-7.1 thousand m²/ha, and 5.0-7.0 thousand m²/ha for the sort Yug 30. The difference was even higher during the period full seeds filling. The sort Kyivska 98 had leaf surface area in this phase, depending on the sowing norms, 38.5-41.5 thousand m²/ha, while it was only 37.5-41.1 thousand m²/ha for the sort Yug 30. This index was even lower for the sort Agate.

Table 1. Dynamics of soybean plant leaf surface formation depending on the sort and sowing norms, thousand m²/ha

| Sort | Sowing norm, thousand pcs./ha | Phases of plant growth and development | | | | |
|------------|-------------------------------|--|------------------------|------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| | | second trigeminal leaf | beginning of flowering | beans formation in the middle tier | full seeds filling | beginning of physiological maturity |
| Yug 30 | 400 | 5.0 | 26.6 | 36.5 | 37.5 | 25.1 |
| | 500 | 5.8 | 27.4 | 38.0 | 39.6 | 26.8 |
| | 600 | 7.0 | 28.8 | 40.0 | 41.1 | 29.7 |
| Kyivska 98 | 400 | 5.2 | 26.8 | 37.1 | 38.5 | 25.4 |
| | 500 | 6.2 | 27.5 | 38.6 | 39.9 | 27.1 |
| | 600 | 7.1 | 29.1 | 40.3 | 41.5 | 30.2 |
| Agate | 400 | 4.8 | 25.9 | 35.7 | 36.9 | 24.0 |
| | 500 | 5.4 | 27.3 | 36.9 | 37.3 | 25.9 |
| | 600 | 6.5 | 28.5 | 38.4 | 38.7 | 27.1 |

HIP

A - 0.15

A - 0.67

A - 0.28

A - 0.44

A - 0.34

B - 0.15

B - 0.67

B - 0.28

B - 0.44

B - 0.34

AB - 0.26

AB - 1.15

AB - 0.48

AB - 0.76

AB - 0.60

The increase of sowing norm leads to leaf surface area increase. Thus, if the sort Kyivska 98 had leaf surface area of 5.2 thousand m²/ha in the second phase of the trigeminal leaf for sowing norm of 400 thousand pcs./ha, 6.2 for sowing norm 500 thousand pcs./ha, and 7.1 thousand m²/ha for sowing norm 600 thousand pcs./ha. respectively, or 11.9 and 13.6% higher. The same pattern was observed in sorts Yug 30 and Agate. There leaf surface area in the early phases of vegetation increased respectively from 4.8 to 5.4 and to 7.0 thousand m²/ha.

A close positive correlation relationship between the maximum area of leaf surface and yield of soybean – $r = 0.97$ and determined regression equation between the maximum area of leaf surface and the yield of soybean (Fig. 1):

$$y = 0.05x - 0.26,$$

where x - leaf surface area, thousand m²/ha, y - soybean yield, t/ha.

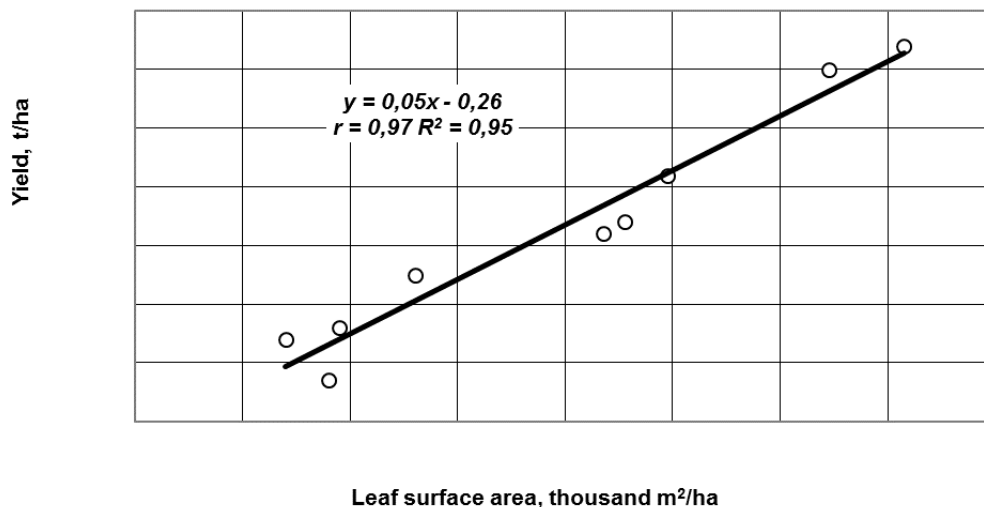


Fig. 1. Regression between leaf surface area and yield of soybean seeds

The regression equation is valid in 95% of cases within the parameters containing the studied sample. Soybean yield can be predicted by the regression equation or a graph with high accuracy, knowing the leaf surface area.

For example, estimated yield of soybean seeds for the leaf surface of 40 thousand m²/ha will be:

$$y = 0.05 \cdot 40 - 0.26 = 1.74 \text{ t/ha}$$

This index can also be defined using the chart.

It is known that the dry biomass of plants contains 90-95% of the organic substances formed during photosynthesis. The share of mineral nutrients in total crop dry matter does not exceed 5-10%. To increase the yield means intentionally directed process of nutrient absorption and to direct photosynthesis according to a schedule for the productivity formation. The yield is known to be formed during photosynthesis with the help and direct participation the of solar radiation energy. K.A. Timiryazev believed that soil fertility limit is not determined by the number of entries of fertilizer into the soil that we are able to provide, not by the number of soil moisture, we also can provide, and the amount of light energy obtained by crops from the sun. However, only a part of this energy is widely used by plants during photosynthesis. This so-called photosynthetic radiation

(PAR) with a wavelength of 380-710 nm. It refers to the radiation wavelength. This PAR is calculated as follows:

$$Q_{\text{PAR}} = 0.42\Sigma\dot{S} + 0.58\Sigma D$$

where ΣQ_{PAR} – the sum total PAR; $\Sigma\dot{S}$ – the amount of direct solar radiation; ΣD – the amount of diffuse solar radiation.

To characterize the duration of crops photosynthetic work during the growing season or during interphase the indicator - photosynthetic potential of crop (PP) is used, which is calculated by adding the area of leaf for each day of growth or multiplying the average area of leaves on the length of the growing season. The crops have high productivity if PP achieves optimum values.

We determined the value of photosynthetic potential formed by soybean crops, using the index of leaf surface for a certain period of growth since the value of leaf assimilation surface area over a period fully characterizes the photosynthetic potential.

The value of the photosynthetic potential is largely dependent on the biological characteristics for the variety and sowing norms for soybean seeds (Table 2).

The highest photosynthetic potential of soybean plants is formed during the beans formation of - seed filling. During this period, it ranges between 1.878-2.221 million · m² · days/ha, and it is equal 5.472-6.331 million · m² · days/ha for the entire growing season. Kyivska 98 stands out among two varieties of soybeans. In this regard, the photosynthetic potential for the entire growing season was 5.735-6.331 million · m² · days/ha, while it was 5.472-6.156 million · m² · days/ha for the sort Agate, or 4, 6-2.8% higher.

Table 2. Dynamics of photosynthetic potential for soybean plants, depending on the sort and sowing norms, million · m² · days/ha

| Sort | Sowing norm, thousand pcs./ha | Vegetation period for soybean | | | | |
|-------------|-------------------------------|---|--|---------------------------------|--|---------------------------|
| | | second trigeminal leaf - beginning of flowering | beginning of flowering – beans formation | beans formation – seeds filling | full seeds filling – beginning of physiological maturity | for the vegetation period |
| Yug 30 | 400 | 0.442 | 1.299 | 1.988 | 1.889 | 5.628 |
| | 500 | 0.468 | 1.308 | 2.165 | 1.990 | 5.931 |
| | 600 | 0.495 | 1.378 | 2.213 | 2.207 | 6.293 |
| Kyivsk a 98 | 400 | 0.448 | 1.307 | 2.062 | 1.918 | 5.735 |
| | 500 | 0.472 | 1.315 | 2.173 | 2.108 | 6.068 |
| | 600 | 0.507 | 1.387 | 2.221 | 2.216 | 6.331 |
| Agate | 400 | 0.430 | 1.294 | 1.878 | 1.870 | 5.472 |
| | 500 | 0.458 | 1.308 | 2.105 | 1.976 | 5.847 |
| | 600 | 0.490 | 1.368 | 2.193 | 2.105 | 6.156 |

Photosynthetic potential of soybean plants increased with the increase of sowing norms. It was 5.735 million · m² · days/ha for the sort Kyivska 98 at the sowing norm 400 thousand pcs. of germinated seeds per 1 ha to 6.331 million · m² · days/ha at the sowing norm of 600 thousand pcs. of germinated seeds per 1 ha, and it increased for the sort Agate from 5.472 to 6.156 million · m² · days / ha.

Formation of organic matter yield, which is the result of photosynthetic efficiency of plants in crops of soybeans, is primarily determined by the size of the photosynthetic surface. Thus, an important indicator of the efficiency of the photosynthetic apparatus unit in plants is net photosynthetic productivity (NPP) (Table 3).

It is noted that the nature of net soybean crop productivity is highly variable. The highest net productivity was during the period of the plants leaf surface formation – early flowering and, depending on the sort and sowing norms was 3.08-3.35 g/m² per day. In the later period, the formation of beans, pure performance declined almost doubled and amounted to 1.18-1.39 g/m² per day. During the formation of beans and seeds pouring pure performance increases again to 2.01-2.18 g/m² per day, but not exceeding the net productivity of photosynthesis in the early phase of the soybean growing season. The lowest values of net photosynthetic productivity were during the filling of seeds – before the physiological maturity.

Table 3 Dynamics of net photosynthetic productivity for soybean plants, depending on the sort and sowing norms, g/m² per day (average for the years 2004 – 2006)

| Sort | Sowing norm, thousand pcs./ha | Vegetation periods for soybean | | | |
|------------|-------------------------------|---|--|---------------------------------|--|
| | | second trigeminal leaf – beginning of flowering | beginning of flowering – beans formation | beans formation – seeds filling | full seeds filling – beginning of physiological maturity |
| Yug 30 | 400 | 3.30 | 1.37 | 2.15 | 0.49 |
| | 500 | 3.21 | 1.29 | 2.14 | 0.50 |
| | 600 | 3.08 | 1.18 | 2.00 | 0.48 |
| Kyivska 98 | 400 | 3.35 | 1.39 | 2.18 | 0.51 |
| | 500 | 3.22 | 1.32 | 2.15 | 0.50 |
| | 600 | 3.09 | 1.18 | 2.03 | 0.49 |
| Agate | 400 | 3.27 | 1.39 | 2.06 | 0.49 |
| | 500 | 3.22 | 1.32 | 2.03 | 0.48 |
| | 600 | 3.09 | 1.18 | 2.01 | 0.46 |

This sinusoidal character for the dynamics of the net photosynthetic productivity can be explained, in our opinion, by the changes in the outflow intensity for the product assimilation during the growing season.

In the early phase of intense plants growth and development, photosynthesis products are quickly used in the formation of vegetative mass, and the net photosynthetic productivity increases. During plants flowering, assimilate outflow of assimilation system is slightly reduced, and this leads to inhibition of photosynthetic activity for the leaf surface. In later phases of plant growth and development, especially during the seeds filling, assimilate outflow is activated again, which leads to increased photosynthesis process. During seeds filling, the outflow of organic matter from leaves is slowed down again, leading to reduced activity of the photosynthetic apparatus.

For the sort Kyivska 98, net photosynthetic productivity was slightly higher comparing the sort Yug 30 and Agate. Thus, it ranges between 0.49-3.35 g/m² per day depending on the sowing norms and phases of growth for the sort Kyivska 98, 0.48-3.30 g/m² per day for the sort Yug 30, and Agate - 0.46-3.27 g/m² per day.

Regarding the effect of sowing norm on the net photosynthesis productivity, there was an inverse pattern. The increasing stand density of plants lead to the decreasing net photosynthetic productivity. This trend was noticeable throughout the growing season for soybean plants. This is due to the increasing number of leaves per area unit, resulting in partial shade of some leaves by the others, and that, finally, has a negative impact on the net photosynthetic productivity.

CONCLUSIONS

1. The largest area of leaf surface is formed for soybean plants in the phase of full grain filling. Thus, Kyivska 98 stands out among the sorts, which forms the leaf surface area of 41.5 thousand m²/ha at sowing norm 600 thousand pcs./ha.

2. Photosynthetic potential of soybean plants increases during the period of formation of beans - seed filling. Further, this index decreases significantly. The highest photosynthetic potential forms a sort of soybean Kyivska 98.

3. The net photosynthetic productivity increases to interphase period of beans formation - seed filling. Kyivska 98 stands out among the sorts by this index. The increase of sowing norm for soybean sorts leads to the decrease of net productivity.

REFERENCES

1. Анішин Л.А., 1998. Агрокліматичні резерви стабілізації виробництва кукурудзи і сої в Україні: 36. наук. пр. Укр. ДНДПТІ „Агроресурси”. 181-192.
2. Антипін Р.А., 2006. Симбіотична продуктивність гороху залежно від впливу способів обробки насіння та мінеральних добрив в умовах Лісостепу України. Корми і кормовиробництво. Вінниця. Вип. 58, 262-272.
3. Бабич А.О., Венедіктов О.М., 2004. Фотосинтетична діяльність та урожайність насіння сої залежно від строків сівби та системи захисту від хвороб в умовах Лісостепу України. Корми і кормовиробництво. Вінниця. Вип. 53, 83-88.
4. Бабич А.О., 1993. Проблеми білка і вирощування зернобобових на корм: [монографія]. Урожай, 152.
5. Бабич А.О., 1992. Кормові і білкові культури. Київ. Урожай, 100.
6. Бахмат О.М., 2005. Агротехнічне і агроєкологічне обґрунтування сортової технології вирощування сої в умовах південної частини західного Лісостепу України: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.09 «Рослинництво». Вінниця. 20.
7. Дзюбайло А.Г., Завірюха П.Д., 2004. Бобові кормові культури: навч. посібник. Львів: ЛДАУ. 20.
8. Дзюбайло А.Г., Завірюха П.Д., 2000. Бобові культури. Навчальний посібник. Дрогобич. 20.
9. Лихочвор В.В., 2004. Соя. Львів: Українські технології. 54.
10. Методика проведення дослідів по кормовиробництву: [під ред. А.О.Бабича]. Вінниця. 1994, 87.
11. М'якушко Ю.П., Баранов В.Ф., 1984. Соя. М.: Колос. 33.
12. Петриченко В.Ф., Панасюк О.Я., 2000. Соя в короткоротаційних сівозмінах. Пропозиція. № 5, 37.
13. Первачук М.В., 2001. Контроль бур'янів у посівах сої. Захист рослин. № 5, 10.
14. Посьпанов Г.С., 1993. Биологический азот. Проблемы экологии и растительного белка. М.: Изд-во ТСХА. 272.
15. Січкач В.І., 1999. Соя у продовольчому балансі України. Вісник аграрної науки. № 4, 22-26.
16. Bouniols A., Tancogne M., Merrien A., Blanchet R., 1990. L'alimentation azotée des légumineuses f graines dans l'agriculture française actuelle, exemple du soja. C. R. Acad. Agr. Fr. № 76/4, 109-115.
17. Shannon D.A., Kueneman E.A., Wright M.J., Wood C.W., 1992. Fertilization effect of soybean grown and yield in the southern Guinea savanna of Nigeria. J. Plant Nutr. № 15/5, 639-658.
18. Winter S.R., Pendleton J.W., 1968. Soybean roots. How deep do they go, 28. (7), 14, 19.

19. Barker D.W., Sawyer J.E., 2005. Nitrogen application to soybean at early reproductive development, Vol. 97, № 2, 615-619.
20. Szoja (Glicine Szoja). A Szantofoldi noveniek vetomagtermesztrese es fajtahaszalata. 1980, 448-468.
21. Winter S.R., Pendleton J. W., 1968. Soybean roots. How deep do they go. Soybean Dig. 28. (7), 14.

АНОТАЦІЯ

ДИНАМІКА ФОТОСИНТЕЗУ СОЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ

Досліди проводились на типових для західного Лісостепу України темно-сірих опідзолених глеюватих слабо змитих ґрунтах Перемишлянської державної сортопробувальної дослідної станції. Родючість ґрунту дослідної ділянки перед закладанням досліду характеризується такими показниками: вміст гумусу у шарі 0-20 см (за Тюрнімом) становить 2.0-2.2 %, рН_(КСІ) – 5.7-6.0, гідролітична кислотність (за Каппеном) – 2.1-2.5 мг-екв. на 100 г ґрунту, лужногідролізованого азоту (за Корнфілдом) – 110 мг, рухомого фосфору (за Кірсановим) – 120 і обмінного калію (за Масловою) – 125 мг на 1 кг ґрунту. Вміст гумусу відносно невисокий, що свідчить про низьку природну родючість цих ґрунтів. За вмістом калію ґрунт дослідної ділянки відноситься до четвертої групи – з підвищеною забезпеченістю цим елементом для зернових, середньою для просапних і низькою для овочевих, за вмістом рухомого фосфору – до третьої групи відповідно з середнім, низьким і дуже низьким для зернових, просапних і овочевих культур. Реакція ґрунтового розчину близька до нейтральної. За даними Львівського центру з гідрометеорології, метеорологічні умови у роки досліджень в основному були типовими для даної зони, хоч мали місце деякі відхилення середньодобових температур повітря і опадів від середніх багаторічних показників в окремі місяці вегетації.

Одержані нами дані показали, що площа листкової поверхні рослин сої в значній мірі залежить від фази вегетації, сорту і норм висіву. При цьому збільшення площі листкової поверхні відбувалось до фази наливання насіння. І якщо на час появи третього трійчастого листка площа листків сої на одному гектарі складала 4.8-7.1 тис. м², то на початку цвітіння – 25.9-29.1, а на період повного наливання насіння – 35.7-40.3 тис. м². До початку фізіологічної стиглості площа асиміляційної поверхні знизилась до 24.0-30.2 тис. м²/га.

Протягом всього періоду вегетації асиміляційна поверхня сої сорту Київська 98 була більшою порівняно з сортом Юг 30. В фазі другого трійчастого листка площа листкової поверхні рослин сої сорту Київська 98, залежно від норми висіву насіння, коливалася в межах 5.2-7.1 тис. м²/га, у сорту Юг – 5.0-7.0. Ще більшою ця різниця була на період повного наливу насіння. У сорту Київська 98 у цій фазі вегетації площа листкової поверхні складала, залежно від норм висіву насіння, 38.5-41.5 тис. м²/га, тоді як у сорту Юг 30 – лише 37.5-41.1 тис. м²/га. Ще нижчим цей показник був у сорту Агат.

Із збільшенням норм висіву насіння площа листкової поверхні зростала. Так, якщо в фазі другого трійчастого листка рослини сої сорту Київська 98 на ділянках з нормою висіву 400 тис. шт./га схожих насінин формували листкову поверхню площею 5.2 тис. м²/га, то з висівом 500 тис. шт./га – 6.2, а 600 тис. шт./га – 7.1 тис. м²/га, або відповідно на 11.9 і 13.6 % більше. Така ж закономірність спостерігалася і у сортів Юг 30 і Агат. Тут площа листкової поверхні на початкових фазах вегетації зростала відповідно з 4.8 до 5.4 і до 7.0 тис. м²/га.

Встановлено тісну позитивну кореляційну залежність між максимальною площею листкової поверхні рослин і урожайністю сої – $r = 0.97$ та визначено рівняння регресії між максимальною площею листкової поверхні і урожайністю сої.

Найвищий фотосинтетичний потенціал рослини сої формували в період утворення бобів – наливання насіння. В цей період він коливався в межах 1.878-2.221 млн. $\text{м}^2 \cdot \text{діб/га}$, а за весь період вегетації – 5.472-6.331 млн. $\text{м}^2 \cdot \text{діб/га}$. Серед двох сортів сої виділявся Київська 98. На цьому варіанті за весь період вегетації фотосинтетичний потенціал складав 5.735-6.331 млн. $\text{м}^2 \cdot \text{діб/га}$, тоді як у сорту Агат – 5.472-6.156 млн. $\text{м}^2 \cdot \text{діб/га}$, або на 4.6-2.8% більше. Із збільшенням норм висіву насіння фотосинтетичний потенціал рослин сої зростає.

Найвища чиста продуктивність була в період початок формування рослинами листової поверхні – початок цвітіння і, залежно від сорту і норм висіву насіння, складала 3.08-3.35 г/м^2 за добу. У більш пізній період, до утворення бобів, чиста продуктивність знижувалася майже удвоє і становила 1.18-1.39 г/м^2 за добу. В період від утворення бобів і до наливання насіння чиста продуктивність знову зростає до 2.01-2.18 г/м^2 за добу, але не перевищує чистої продуктивності фотосинтезу в ранні фази вегетації рослин сої. Найменші значення чистої продуктивності фотосинтезу спостерігається в період від наливання насіння до початку фізіологічної стиглості.

У сорту сої Київська 98 чиста продуктивність фотосинтезу була дещо вищою ніж у сортів Юг 30 і Агат. Із збільшенням густоти стояння рослин, чиста продуктивність фотосинтезу їх знижувалася.

*Taras Kavetsky^{1,2}, Rovshan Khalilov^{3,4}, Aygun Nasibova³,
Vladimir Serezhenkov⁵, Svitlana Voloshanska¹*

¹Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, Drohobych, Ukraine

²The John Paul II Catholic University of Lublin, Lublin, Poland

³Institute of Radiation Problems, NAS of Azerbaijan, Baku, Azerbaijan

⁴Baku State University, Baku, Azerbaijan

⁵Semenov Institute of Chemical Physics, RAS, Moscow, Russia

e-mail: kavetsky@yahoo.com

EPR SPECTROSCOPY STUDY OF JUNIPERUS COMMUNIS OF CARPATHIAN REGION OF UKRAINE

Abstract. A new approach based on the effect of bio-mineralization as a response reaction of cells to decrease their damage upon stress is applied for Juniperus communis of Carpathian region of Ukraine, selected for research as a model biomaterial. The electron paramagnetic resonance (EPR) method is used as the main experimental tool for detecting the paramagnetic species as a result of existence of antioxidant activity represented by superoxide dismutase with manganese and formation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in the biomaterial studied. The EPR signals for the Juniperus communis shell and seeds and their mixture are recorded and analyzed. The superparamagnetic iron oxide nanoparticles are found in the Juniperus communis shell, while the antioxidant activity due to the superoxide dismutase with manganese is detected in the Juniperus communis seeds. The observed bio-functionality of the Juniperus communis shell and seeds could be recommended further for pharmaceutical purposes and biomedical applications.

Keywords: Juniperus communis, EPR spectroscopy, superparamagnetic iron oxide nanoparticles, superoxide dismutase, MnSOD, bio-functionality.

INTRODUCTION

The natural bioactive additives are very useable now in the eco-biomedicine and eco-human health viewpoints. As a rule, bioactive additives play role for improving physiological, healthy and prophylactic properties with aim to stabilize a normal functionality of human organism. There are a lot of companies and firms in all over the world producing the bioactive additives. Having a huge choice to use the bioactive additives, doctors can introduce them into the ration of diet or rational food for optimization of exchange processes and functions of human organism, taking into account of its health state. However, as a practice experience shows, in many cases healthy and prophylactic functions of bioactive additive are determined by doctors or specialists through a chemical compound only, that is not enough to be as a basis for estimation of biological action of natural additive.

The influence of stress physical (natural) factors (e.g., temperature, humidity, strong UV radiation, etc.) on such plant as Juniperus communis (JC) results in that one has evolutionally formed antioxidant activity larger than for other plants [1-3] (and references therein). The existence of such antioxidant enzymes as catalase and superoxide dismutase (SOD) [4], containing the manganese (MnSOD), copper (CuSOD), zinc (ZnSOD), iron (FeSOD), and nickel (NiSOD) in JC, makes it as a model biomaterial object with natural externally-attained functionality that may be useful for biomedical applications. In particular, some pharmacological effects of JC are supposed to be as antitumor properties, antioxidant, antigenotoxic and anticarcinogenic activities as well as the effect on cardiovascular and cerebrovascular diseases in correlation with decrease in blood cholesterol levels that is quite similar to antioxidant activity of tea leaves [5].

In dependence as one using a shell and/or seeds, bioactive properties of JC can be significantly changed. Also, by adding the JC into composition of other bioactive additives, it is

possible to distinguish the bio-functionality of the JC based drugs for medical purposes. For instance, the selection of Nefrovil and Immunostan drugs based on JC, both produced by “Roslyna Karpat” company [6], has been made to increase the antioxidant activity in the case of Nefrovil and to improve the immune system of human organism for the Immunostan. But, if above mentioned stress physical factors are affected on the JC bioactivity, the properties of Nefrovil and Immunostan could be uncontrolled.

The present work aims on the solution of this problem by using a new approach based on the earlier discovered effect of bio-mineralization as a response reaction of cells to decrease their damage upon stress [7-10].

METHODOLOGY AND EXPERIMENTAL

The methodology of the present work is based on the application of the above mentioned effect of bio-mineralization for the JC samples of Carpathian region of Ukraine. This effect (bio-mineralization) is connected with electron-transport chain of photosynthesis that leads to a reducing the Fenton’s reaction due to transformations of iron ions (Fe^{2+} , Fe^{3+}) to maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) and magnetite (Fe_3O_4) superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs).

Among all analytical tools, electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy is the only technique that directly detects free radicals and paramagnetic species. Thus, EPR method is used in the present study as the main experimental tool for detecting the paramagnetic species as a result of existence of antioxidant activity (MnSOD) and SPIONs.

The EPR spectra of the JC objects (shell, seeds and their mixture) were registered with the aid of an X-range EPR spectrometer ECS-106 (Bruker, Germany) at the following conditions of registration: magnetic field HF-modulation amplitude 0.5 mT, UHF power 20 mW, field center 260 mT, field scanning 290 mT, temperature 293 K, and gain 10^4 .

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows a typical image of *Juniperus communis* of Carpathian region of Ukraine with schematic presentations of its berries and their cross-section. JC shell and seeds are also illustrated in the right part of figure.

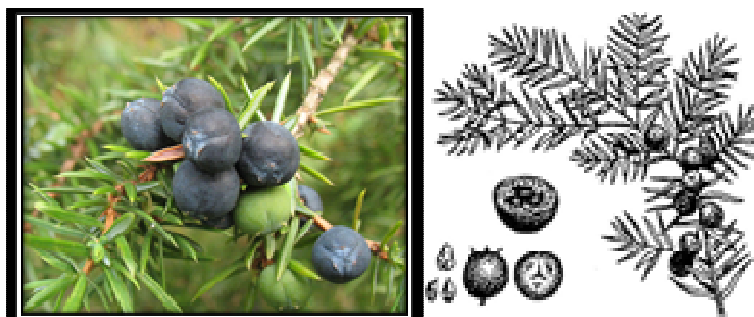


Fig. 1. Photograph of *Juniperus communis* (left) and schematic presentations of its berries and their cross-section (right).

Figure 2 shows the EPR signals for the JC shell and seeds and their mixture along with differential spectrum between seeds and shell. Here, we emphasize only on the two EPR signals registered in the biomaterials studied. Namely, the EPR signal at $g = 2.01$ is attributed to paramagnetic species of Mn in the MnSOD that is found only in the JC seeds. At the same time,

the broad EPR signal at $g = 2.28$ is attributed to paramagnetic species of SPIONs that is found only in the JC shell. More detail interpretation of the EPR spectra recorded will be done in the further work in comparison with the JC based biomaterials Nefrovil and Immunostan.

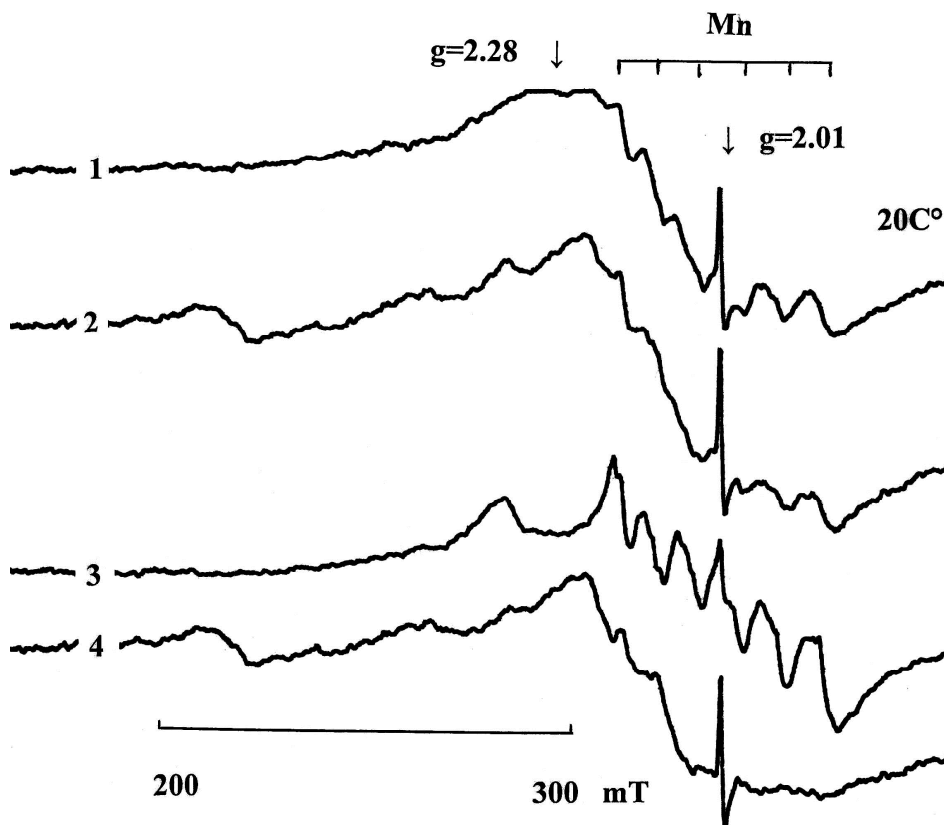


Fig. 2. EPR signals for the investigated *Juniperus communis* samples of Carpathian region of Ukraine: 1 - mixture of shell and seeds; 2 - shell; 3 - seeds; 4 - differential spectrum (curve 3 – curve 2).

It must be only noted here that the SPIONs detected in the investigated material have an important role in development of pathological conditions and are frequently used for biomedical applications, where their toxic potential is still a major concern [11-20]. The SPIONs have also a promising application in food science [21-23]. These magnetic nanoparticles lead to appearance of the magnetic properties in plant systems and emergence of EPR signals [24]. Magnetic nanoparticles are present in various natural systems including living organisms of all levels and types of organization. Biogenic generation of nanophase magnetic oxides is connected with physiological processes including a number of pathologies, in particularly, human neurodegenerative diseases. In that connection, the investigation of mechanisms of formation iron oxide nanoparticles in living systems is important from fundamental viewpoint and also is necessary for development of novel efficient methods. The appearance of EPR signal characteristic for magnetic nanoparticles has been found [9,25] in various plants as a result of effects of external stress factors.

In the present study, the stress factors affecting on the JC shell are also directly confirmed by EPR detected SPIONs as a result of bio-mineralization effect under stress. In other words, the JC shell with externally-attained functionality, resulting in formation of SPIONs, plays a role as

protection for JC seeds. On the other hand, the MnSOD, representing the antioxidant activity, is normally identified to be in the JC seeds. Therefore, the SPIONs in the drugs based on the *Juniperus communis* shell and the antioxidant activity detected by MnSOD in the case of the *Juniperus communis* seeds could be applied for pharmaceutical and biomedical purposes.

In summary, an innovative identification method for bio-functionality of natural bioactive additives is proposed on the example of *Juniperus communis* of Carpathian region of Ukraine as a model object using the effect of bio-mineralization under stress factors and EPR spectroscopy. The new results reported in the present work for the first time demonstrate the potential future prospects of JC based materials for bio-nanomedicine, in particular, for goals where the SPIONs and MnSOD should be involved.

CONCLUSIONS

The novel approach of identifying the bio-functionality of natural bioactive additives has been proposed on the example of *Juniperus communis* of Carpathian region of Ukraine using the effect of bio-mineralization under the stress factors (e.g., temperature, humidity, strong UV radiation, etc.) and EPR spectroscopy method. The existence of antioxidant activity represented by superoxide dismutase with manganese and formation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in the biomaterials studied is established. In particular, the SPIONs in the *Juniperus communis* shell are only detected, while the MnSOD, representing the antioxidant activity, is found only in the case of the *Juniperus communis* seeds. The observed bio-functionality of the JC based shell and seeds could be used for pharmaceutical purposes and biomedical applications.

ACKNOWLEDGMENTS

T. Kavetsky and S. Voloshanska are grateful to the EU PL-BY-UA project (2007-2013). This work was also partly supported by the MES of Ukraine (No. 0114U002617).

REFERENCES

1. Brezhneva Ye.B., Kolomiyets V.I., Refitsky V.I., Brezhneva A.V., 2008. The efficacy of Juniper shavings in the complex management patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ukrainian Journal of Rheumatology*, v. 4(34), 78-80.
2. Kavetsky T.S., Voloshanska S.Ya., Sausa O., Stepanov A.L., 2014. Nanovoids topology in *Juniperus communis* of Carpathian region of Ukraine. *Acta Carpathica*, v. 16, 79-84.
3. Kavetsky T.S., Voloshanska S.Ya., Komar I.V., Sausa O., Stepanov A.L., 2015. Positron annihilation study of the *Juniperus communis* based biomaterial NEFROVIL. NATO Science for Peace and Security Series - A: Chemistry and Biology "Nanoscience Advances in CBRN Agents Detection, Information and Energy Security" (Edited by Petkov P., Tsiulyanu D., Kulisch W., Popov C.). Springer, 61-64.
4. Dawson N.J., Katzenback B.A., Storey K.B., 2015. Free-radical first responders: The characterization of CuZnSOD and MnSOD regulation during freezing of the freeze-tolerant North American wood frog, *Rana sylvatica*. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1850, 97-106.
5. Morsy M.A., Khaled M.M., 2002. Novel EPR characterization of the antioxidant activity of tea leaves. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 58, 1271-1277.
6. <http://roslynakarpat/infocompany.biz/>.
7. Khalilov R.I., Nasibova A.N., 2010. The endogenous EPR-detectable iron nanoparticles in plants. *News Baku University*, v. 3, 35-45.

8. Khalilov R.I., Nasibova A.N., Gasimov R.J., 2011. Magnetic nanoparticles in plants: EPR researches. News Baku University, v. 4, 56-62.
9. Khalilov R.I., Nasibova A.N., Serezhenkov V.A., Ramazanov M.A., Kerimov M.K., Garibov A.A., Vanin A.F., 2011. Accumulation of magnetic nanoparticles in plants grown on soils of apsheron peninsula. Biophysics, v. 56, 316-322.
10. Khalilov R.I., Nasibova A.N., Youssef N., 2015. The use of EPR signals of plants as bioindicative parameters in the study of environmental pollution. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 7, 172-175.
11. Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T., 2005. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. J. Biosci. Bioeng., v. 100, 1-11.
12. Huber D.L., 2005. Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. Small, v. 1, 482-501.
13. Gupta A.K., Gupta M., 2005. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. Biomaterials, v. 26, 3995-4021.
14. Liu G., Men P., Harris P.L., Rolston R.K., Perry G., Smith M.A., 2006. Nanoparticle iron chelators: a new therapeutic approach in Alzheimer disease and other neurologic disorders associated with trace metal imbalance. Neurosci. Lett., v. 406, 189-193.
15. Hautot D., Pankhurst Q.A., Morris C.M., Curtis A., Burn J., Dobson J., 2007. Preliminary observation of elevated levels of nanocrystalline iron oxide in the basal ganglia of neuroferritinopathy patients. Biochim. Biophys. Acta, v. 1772, 21-25.
16. O'Grady K., 2009. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. J. Phys. D: Appl. Phys., v. 42, 220301.
17. Berry C.C., 2009. Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. J. Phys. D: Appl. Phys., v. 42, 224003.
18. Singha N., Jenkins G.J.S., Asadi R., Doak S.H., 2010. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). Nano Reviews, v. 1, 5358.
19. Soenen S.J.H., De Cuyper M., 2010. Assessing iron oxide nanoparticle toxicity *in vitro*: Current status and future prospects. Nanomedicine, v. 5, 1261-1275.
20. Ankamwar B., Lai T.C., Huang J.H., Liu R.S., Hsiao M., Chen C.H., Hwu Y.K., 2010. Biocompatibility of Fe₃O₄ nanoparticles evaluated by *in vitro* cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells. Nanotechnology, v. 21, 075102.
21. Miller D.D., 2010. Food nanotechnology: New leverage against iron deficiency. Nat. Nanotechnol., v. 5, 318-319.
22. Hilty F.M., Arnold M., Hilbe M., Teleki A., Knijnenburg J.T.N., Ehrensperger F., Hurrell R.F., Pratsinis S.E., Langhans W., Zimmermann M.B., 2010. Iron from nanocompounds containing iron and zinc is highly bioavailable in rats without tissue accumulation. Nat. Nanotechnol., v. 5, 374-380.
23. Zimmermann M.B., Hilty F.M., 2011. Nanocompounds of iron and zinc: Their Potential in Nutrition. Nanoscale, v. 3, 2390-2398.
24. Khomutov G.B., Koksharov Y.A., 2009. Magnetic Nanoparticles (Edited by Gubin S.P.). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 117-195.
25. Nasibova A.N., Khalilov R.I., 2016. Preliminary studies on generating metal nanoparticles in pomegranates (*Punica Granatum*) under stress. International Journal of Development Research, v. 6, 7071-7078.

АНОТАЦІЯ

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯЛІВЦЮ ЗВИЧАЙНОГО КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПІЇ ЕПР

У представлений роботі вперше повідомляється застосований новий підхід до ялівцю звичайного (*Juniperus communis*) Карпатського регіону України, який розроблений на основі явища біо-мінералізації, як відповідної захисної реакції клітин проти зменшення їх руйнування під впливом зовнішніх стресових факторів, та використання методу спектроскопії електронного парамагнітного резонансу (ЕПР). Дане явище біо-мінералізації пояснюється тим, що в результаті дії електрон-транспортного ланцюга фотосинтезу під час деструкції участь іонів заліза в окислювально-відновлювальному процесі в кінці кінців приводить до синтезу магнітних наночастинок. Це відбувається за рахунок зменшення реакції Фентона завдяки трансформації іонів заліза (Fe^{2+} , Fe^{3+}) до магеміту ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) та магнетиту (Fe_3O_4), так званих суперпарамагнітних наночастинок оксидів заліза (відомих в англійській літературі як superparamagnetic iron oxide nanoparticles – SPIONs). Зрозуміло, що використання спектроскопії ЕПР в цьому підході являється ключовим експериментальним методом, який напряду дає інформацію про парамагнітні центри.

З огляду на постійне знаходження ялівцю звичайного у гірських областях під впливом зовнішніх стресових факторів (зокрема, понижена температура, вологість, підвищене ультрафіолетове опромінення, тощо) досліджуваний у роботі біологічний об'єкт являється модельним з точки зору прояву в ньому вищевказаного явища біо-мінералізації. З другого боку, також за рахунок постійного перебування під стресом ялівець звичайний природно наділений унікальними антиоксидантними властивостями, які роблять його потенційним біоматеріалом у вигляді біодобавки при виготовленні лікарських фітопрепаратів. Так зокрема, відомі фітопрепарати Нефровіл та Імуностан на основі ялівцю звичайного, які виробляє компанія «Рослина Карпат» на Україні, вже знайшли своє потенційне застосування як лікарські фітопрепарати для підвищення антиоксидантних властивостей та покращення імунної системи людського організму, відповідно. Проте, через вплив зовнішніх стресових факторів на основну біокомпоненту цих фітопрепаратів (тобто, ялівець) є проблема контролювати їх біо-функціональні властивості.

Застосований у роботі новий підхід передбачає вирішення даної проблеми. Зокрема, встановлено, що наявність сигналу ЕПР ($g = 2.28$), який пов'язаний з парамагнітними центрами магнітних наночастинок заліза SPIONs, має місце тільки в оболонці ялівцю, тоді як сигнал ЕПР ($g = 2.01$), який пов'язаний з парамагнітними центрами марганцю від ферментів супероксиддисмутази з марганцем (відомого в англійській літературі як superoxide dismutase, containing the manganese – MnSOD), має місце тільки в зернах ялівцю. Тобто, оболонка ялівцю піддана стресу захищає його зерна, само-організовано синтезуючи при цьому магнітні наночастинок оксиду заліза (так званий “green synthesis”) завдяки проходженню явища біо-мінералізації.

Отже, дійсно, з використанням запропонованого інноваційного підходу для такого типу біоматеріалів виявляється можливим контролювати захисні та антиоксидантні властивості фітопрепаратів, що матиме вагомим практичне значення в розвитку фармацевтики, та й взагалі для сучасної біо-наномедицини. Подальші дослідження в цьому напрямі будуть скеровані на вивчення вже самих фітопрепаратів Нефровіл та Імуностан на основі ялівцю звичайного.

Halyna Viniarska, Oksana Bodnar, Vasyl Grubinko

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine

e-mail: bodnar_oi@yahoo.com

EFFECTS OF SELENITE ON PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY AND ENERGY METABOLISM OF *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. (CHLOROPHYTA)

Abstract. In this study we investigated the accumulation of selenium, pigments content as well as activity of enzymes of energetic and nitrogen metabolism in *Chlorella vulgaris* Beijer in a result of sodium selenite adding at concentrations of 0.5; 5.0; 10.0 and 20.0 mg/dm³ at 1st, 3rd and 7th day of exposure. The results showed that the accumulation of selenium in *Ch.vulgaris* cells after the sodium selenite adding is concentration-dependent, the amount of trace constituents in the cells increased with increasing selenium content in the culture medium. The pigments content increased as a result of Se⁴⁺ adding, and only in sample with the 5.0 mg/dm³ we observed reduction of chlorophyll *a* and pheophytins compared to control samples. Enzyme activity of studied enzymes was high after adding different concentrations of selenium. However, after adding Se⁴⁺ in concentration of 0.5 mg/dm³ we revealed the reduced activity of SDH and NADPH-GDH, while the activity of CO and NADH-HDH exceeded the reference values in all experiment variants.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, sodium selenite, photosynthetic pigments, succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase, NADH- and NADPH- dependent glutamate dehydrogenase.

INTRODUCTION

Selenium is an essential minor constituent for all aquatic organisms (animals, algae and microorganisms) and it is directly involved in the metabolic, energetic and biophysical processes. Selenium compounds are able to regulate the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids, carotenoids and pigments [19], thus affecting the photosynthesis and energy metabolism.

It is known that metabolism regulators in freshwater microalgae are assimilated by them inorganic selenium compounds dissolved in water (selenites or selenates) that are included in the cells as part of free amino acids, proteins, polysaccharides, lipids and carotenoid pigments. Absorption of selenium by algae and its toxicity vary significantly depending on the morphological and functional characteristics of certain types of algae, selenium concentrations and its oxidation level, physical and chemical factors of water environment. It was determined that inhibition of algae growth and development is higher when adding selenates than selenites due to the reason that algae in the course of their life absorb Se⁴⁺ compounds from the environment better, comparing to Se⁶⁺ compounds [2, 19, 21]. However, the most significant regulatory action of selenite in regard to metabolism depends on the concentration and duration of its action, which was not studied enough for algae.

The purpose of this study is to investigate the influence of sodium selenite in different concentrations and with different durations of its influence on the pigment system and energy metabolism in *Chlorella vulgaris* Beijer.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were held on crops micropopulations of freshwater green alga *Chlorella vulgaris* Beijer taken from the collection of the Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine. Algae were cultivated under conditions of the accumulating culture on the Fitzgerald's medium N11 in the modification of A. Zender and P. Gorham under at the

illumination of 2500 Lx (16:8 hours) at 23-25°C [11]. The concentration of the ions of Se^{4+} was 0.5; 5.0; 10.0, and 20.0 mg/L. The culture cultivated on the medium free of selenium ions served as control. The samples for the analysis were taken after 1, 3 and 7 days of exposure.

The content of selenium in *Ch.vulgaris* cells, was determined after centrifugation at 3000 rounds per minute during 10 minutes, washed 3 times by 0.005 M Tris-HCl, then burned with residue nitric acid (HNO_3) in sealed cups at $t = 120^\circ \text{C}$ for 2 hours, later determined spectrophotometrically using o'-phenilendyamin at a wave length of 335 nm [4].

Chlorophylls *a* and *b* content, the total amount of carotenoids and pheophytins was determined spectrophotometrically after acetone extraction. Spectrophotometry was carried out at the length of the wave for chlorophylls *a* and *b* – 750, 665, 663 and 645 nm; carotenoids – 750 and 480 nm; pheophytins – 665 nm [13].

To study the activity of the enzymes involved in the energetic supply of algae, the homogenates of their biomass were prepared. In this case, algae cells were separated from the medium using the Synpore N4 membranous filters. Algae biomass was homogenized in the cooled buffer solution (pH 7.4) consisting of 0.5 M saccharose, 0.005 M EDTA, 0.01 M KCl, and 0.001 M MgCl in the ratio 1:5 (net mass : buffer). At a later time, the homogenate was centrifuged for 3 minutes at 2000 g. After that, the liquid was centrifuged for 3 minutes at 20000 g for obtaining mitochondria. The obtained deposit was re-suspended in the medium containing 0.5 M saccharose and 0.05 M tris-HCl buffer (pH 7.4) [11, 14].

The activity of succinate dehydrogenase – SDH, KF 1.3.99.1 – was determined by the ferrocyanate method [14]. In this case, the incubation mixture contained 0.1 M phosphate buffer (pH 7.8), 0.1 M succinic acid, 0.025 M EDTA, and 25 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. The reaction was terminated by the addition of 20% tri-chlorine acetic acid. Spectrophotometry was carried out at the length of the wave of 420 nm. The enzymatic activity was expressed in nMol of succinate per 1 mg of protein per 1 min.

The activity of cytochrome oxidase – CO, KF 1.9.3.1 – was determined according to [17]. It was expressed in nMol of indophenols blue per mg of protein per 20 min. The incubation mixture contained 0.2 M phosphate buffer (pH 7.8), 0.1% solution of α -naphthole, 0.1% solution of parafenilen diamine hydrochloride, and 0.02% solution of cytochrome c. The reaction was terminated by the addition of the ether alcohol mixture (9:1). Spectrophotometry was carried out at the length of the wave of 540 nm.

The glutamate dehydrogenase activity (E.C. 1.4.1.2) – was determined spectrophotometrically by the rate of oxidation of NADH (NADPH) at 340 nm [16] in the reaction mixture composed of 0.05 M of Tris-HCl buffer (pH 7.2), 0.01 M of 2-oxoglutarate, 0.000025 M of NADH or NADPH and 0.2 M of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Enzymatic activity was expressed in μmole NADH (NADPH)/mg of protein-min.

The amount of protein in algae cells was determined by the method of Lowry [9].

Statistical analysis of data was performed using the application package Statistica 5.5 and Microsoft Office Excel 2007.

RESULTS

The total amount of selenium in *Ch. vulgaris* cells after adding sodium selenite in various concentrations

The results of the experiment showed (Figure 1), that active absorption of selenite by cells has been observed even at the day 1. So, after adding $0.5 \text{ mg/dm}^3 \text{ Se}^{4+}$ its content in algae biomass increased by 21%, after adding 5.0 mg/dm^3 – by 4%, and after 20.0 mg/dm^3 – by 107% as compared to the control parameters.

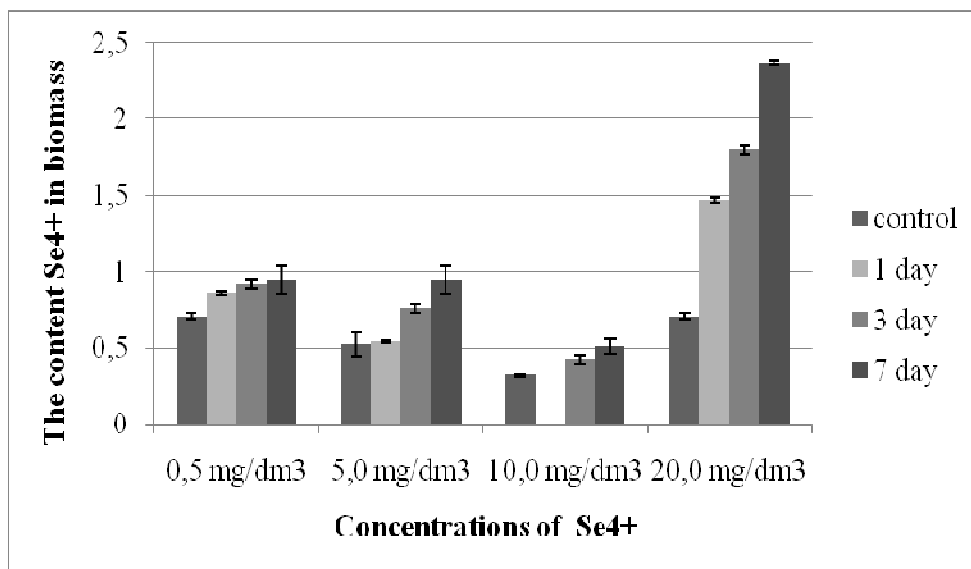


Figure1. Selenium accumulation in unicellular *Ch. vulgaris* by action of different sodium selenite concentrations, mg/dm³ (M ± m, n=5)

On the 3rd day the accumulation of selenium increased by 130% in a sample with 0.5 mg/dm³ Se⁴⁺, by 146% – in a sample with 5.0 mg/dm³, by 133% – in a sample with 10.0 mg/dm³ and by 254% – in a sample with 20.0 mg/dm³. On the 7th day in a samples with 0.5 mg/dm³ Se⁴⁺ its content in the biomass of algae increased, comparing to the control sample by 34%, in a samples with 5.0 mg/dm³ – by 83%, in a samples with 10.0 mg/dm³ – by 59% and in a samples with 20.0 mg/dm³ – by 234%.

Increasing of selenite concentrations and duration of algae exposure to it, leads to the accumulation of selenium in *Chlorella* cells that correlates with the known facts of active selenium involvement in metabolism of algae [2, 21].

The pigment contents in *Ch. vulgaris* cells after reaction with various concentrations of sodium selenite. Maximal increase in chlorophyll *a* content compared to control sample occurred under the influence of sodium selenite at concentrations of 0.5 mg/dm³ and 20.0 mg/dm³ on the 7th day of the experiment – more than in 3 times (Table 1).

Table 1. The content of photosynthetic pigments in unicellular *Ch. vulgaris* by action of different sodium selenite concentrations, mg/dm³ (M ± m, n=5)

| Concentrations of Se ⁴⁺ , mg/dm ³ | Duration of exposure selenite, day | The pigments content | | | |
|---|------------------------------------|---|---|-----------------------------------|---------------------------------|
| | | Chlorophyll <i>a</i> , μg/dm ³ | Chlorophyll <i>b</i> , μg/dm ³ | Carotenoids, μSPU/dm ³ | Pheophytins, μg/dm ³ |
| 0.5 | control | 160,14±9,02 | 81,70±4,98 | 35,05±1,91 | 154,90±9,32 |
| | 1 | 218,15±12,17* | 146,42±8,78** | 71,30±3,98** | 217,62±11,97* |
| | 3 | 269,80±14,69** | 190,80±10,45** | 73,05±4,11** | 273,04±14,77** |
| | 7 | 494,20±30,17** | 231,80±5,70** | 97,02±5,70** | 478,67±26,86** |

| | | | | | |
|------|---------|----------------|----------------|--------------|----------------|
| 5.0 | control | 160,14±9,02 | 81,70±4,98 | 35,05±1,91 | 154,90±9,32 |
| | 1 | 133,28±5,71* | 106,12±3,52* | 50,01±2,31* | 112,20±10,46* |
| | 3 | 116,31±0,21* | 102,92±7,43* | 72,00±3,67* | 107,04±2,99* |
| | 7 | 168,71±4,25 | 131,03±341* | 54,00±4,16* | 97,45±0,77* |
| 10.0 | control | 208,26±22,16 | 105,79±12,81 | 87,52±7,30 | 211,46±26,53 |
| | 1 | - | - | - | - |
| | 3 | 309,70±21,68* | 137,05±10,87 | 104,20±9,12 | 215,19±3,93* |
| | 7 | 378,37±26,83** | 149,52±9,82* | 103,09±7,21 | 402,63±17,78* |
| 20.0 | control | 160,14±9,02 | 81,70±4,98 | 35,05±1,91 | 154,90±9,32 |
| | 1 | 431,14±24,21** | 138,60±7,19** | 46,30±2,9* | 413,33±23,36** |
| | 3 | 435,80±24,62** | 199,55±11,05** | 62,02±3,52** | 320,45±18,05** |
| | 7 | 501,31±30,35** | 238,50±13,92** | 64,45±3,40** | 340,40±18,50** |

*- $p < 0.05$, **- $p < 0.01$, – not determined

In samples with Se^{4+} in concentration of 0.5 mg/dm^3 on 1st and 3rd days of exposure, chlorophyll *a* amount increased by 36.21% and 68.48% respectively compared to the control, and in samples with concentration of 20 mg/dm^3 – more than in 2.6 times, starting from the 1st day of the experiment. In samples with Se^{4+} in concentration of 10.0 mg/dm^3 on the 3rd and 7th day chlorophyll *a* amount increased by 48.71% and 81.68% respectively compared to the control sample. In sample with selenite in concentration of 5.0 mg/dm^3 reduction of this pigment decreased of 16.77% on 1st day of the exposure and of 27.37% – on the 3rd day compared to the control sample. On the 7th day the amount of chlorophyll *a* in this sample was slightly higher than in the control.

As for chlorophyll *b*, we found its increasing level compared to the control in all samples where sodium selenite was added in different investigated concentrations. The same was with chlorophyll *a*, which maximal increase was observed in the samples with 0.5 and $20.0 \text{ mg Se}^{4+}/\text{dm}^3$. Thus, on the 1st day of the experiment in samples with Se^{4+} in concentration of 0.5 mg/dm^3 , the amount of this pigment increased by 79.22% compared to the control sample. On the 3rd and 7th days chlorophyll *b* content exceeded control level more than in two times. In samples with selenium in concentration 20.0 mg/dm^3 we noticed that the content of this pigment increased by 69.67% compared to the control sample. On the 3rd day, the chlorophyll *b* content exceeded the bench mark by 2 times. On the 7th day the amount of pigment decreased, but was still 69.58% higher than the control value.

In regard to pheophytines, the dynamics of their content was similar to chlorophyll *a* changes – namely on the 7th day of the experiment in samples with selenium in concentration of 0.5 mg/dm^3 and throughout the duration of whole experiment at a concentration of $20.0 \text{ mg Se}^{4+}/\text{dm}^3$ was observed the increase of their amount more than twice as in the control sample. In samples with 5.0 mg/dm^3 of this reagent we observed the reduction of pheophytines level in comparison to the control sample.

The content of carotenoids in samples with sodium selenite in all investigated concentrations was increasing. The maximum increase of these pigments was noted in samples with Se^{4+} in concentration of 0.5 mg/dm^3 throughout the exposure and in concentration of 5.0 mg/dm^3 on 3rd day of the experiment – more than in 2 times comparing to the control. Minor changes in the content of carotenoids were observed in samples with selenium concentration 10.0 mg/dm^3 on the 3rd and 7th days of the experiment, carotenoid content exceeded the control value to 19.06 % and 17.79 % respectively.

Sodium selenite in almost all investigated cases led to the increase of photosynthetic pigments in *Ch. vulgstris* cells. This probably happened due to the necessity to increase the number of chloroplasts that partially lost their photosynthetic efficiency. The latter could occur as a result of binding of Se^{4+} ions by lipids and chlorophyll-protein complexes [21]. It was found that selenium is present in all lipid fractions and maximal amount of lipids that contain selenium was

marked in carotenoids [7]. The increase of carotenoids in its turn plays an important role in the mechanism of antioxidative protection of photosynthetic membranes that prevents chlorophyll destruction [10] and, therefore, increases its amount in cells. These changes in the functioning of *Ch. vulgaris* photosynthetic apparatus affect the whole complex of metabolic changes, including cells energy supply.

Energy metabolism in *Ch. vulgaris* cells with various concentrations of sodium selenite.

It was found that sodium selenite activated cytochrome oxidase throughout the experiment (Table 2). So, in samples with Se^{4+} in concentration 0.5 mg/dm^3 at various times we marked the least significant changes in this enzyme activity (on 9.8 – 73.2%), while in samples with 5.0 mg/dm^3 , enzyme activity increased almost in 8 times to the middle of exposure time. It was revealed that in samples with $10.0 \text{ mg Se}^{4+}/\text{dm}^3$ in the culture medium the CO activity increases in two times. Regarding the effects of the maximum selenium concentration, depending on the duration of the experiment, an increase in cytochrome oxidase activity was in 2-3 times in comparison with the control sample.

Table 2. The activities of succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase and glutamate dehydrogenases (NADH and NADPH) in unicellular *Ch. vulgaris* by action of different sodium selenite concentrations, mg/dm^3 ($M \pm m$, $n=5$)

| Group of enzyme | Concentrations of Se^{4+} , mg/dm^3 | Duration impact of selenite, day | | | |
|-----------------------|---|----------------------------------|---------------|---------------|----------------|
| | | control | 1 | 3 | 7 |
| SDH | 0,5 | 546,57±119,92 | 517,96±65,78* | 371,01±36,87 | 390,88±58,32 |
| | 5,0 | 430,56±65,18 | 194,02±4,71 | 453,22±67,90 | 332,87±72,13 |
| | 10,0 | 120,92±12,18 | - | 200,51±24,06* | 161,3±13,62* |
| | 20,0 | 467,21±53,94 | 488,59±68,40 | 406,70±22,74* | 579,74±36,85 |
| CO | 0,5 | 113,60±7,79 | 124,77±4,63 | 140,89±19,58 | 208,57±14,75* |
| | 5,0 | 91,02±14,16 | 225,56±47,65 | 750,27±93,14 | 217,23±46,77 |
| | 10,0 | 126,0±0,07 | - | 258,0±0,07* | 104,0±0,04 |
| | 20,0 | 127,32±11,85 | 282,87±33,49* | 249,63±47,23* | 377,86±41,57** |
| NADH-GDH | 0,5 | 11,26±0,56 | 11,85±2,13 | 29,95±8,98 | 22,64±2,09* |
| | 5,0 | 4,18±0,62 | 13,42±2,26 | 19,89±2,31 | 9,55±1,14 |
| | 10,0 | 5,0±0,002 | - | 7,0±0,002* | 11,0±0,04* |
| | 20,0 | 13,23±1,06 | 34,18±2,39** | 44,68±1,91** | 39,51±3,83** |
| NADP H-GDH | 0,5 | 84,65±5,98 | 34,23±6,30* | 31,84±2,15** | 28,93±3,62* |
| | 5,0 | 10,06±1,41 | 7,36±1,00 | 20,07±3,79 | 9,03±1,44 |
| | 10,0 | 8,0±0,003 | - | 8,0±0,002 | 9,0±0,002* |
| | 20,0 | 96,64±12,50 | 46,83±2,25** | 49,47±2,97* | 59,18±7,68 |
| NADH-GDH / NADP H-GDH | 0,5 | 0,133 | 0,346 | 0,941 | 0,783 |
| | 5,0 | 0,416 | 1,823 | 0,991 | 1,058 |
| | 10,0 | 0,625 | - | 0,875 | 1,222 |
| | 20,0 | 0,137 | 0,73 | 0,903 | 0,668 |

*- $p<0.05$, **- $p<0.01$, – not determined

Succinate dehydrogenase activity in samples with Se^{4+} in concentration of 0.5 mg/dm^3 was decreasing compared with control: by 5.2% on 1st day, 32.2% at – 3rd day and by 28.5% on the 7th day. The most significant changes of enzyme activity were under the influence of selenite in concentration of 5.0 mg/dm^3 – in 4.5, 10.4 and 7.6 times, respectively, on the 1st, 3rd and 7th day. Se^{4+} in concentration 10.0 mg/dm^3 in the culture medium predetermined the increase in succinate dehydrogenase activity by 33% and 65%. It should be noted that in samples with Se^{4+} at a concentration of 20.0 mg/dm^3 we observed minimal changes in SDH activity. Thus, on the 1st day of the experiment it increased by 4%, on the 3rd day – decreased by 10.7%, and on the 7th day – exceeded control by almost a quarter.

It was determined that the activity of NADH- glutamate dehydrogenase increased in all cases and all investigated concentrations of sodium selenite. Thus, in sample with Se^{4+} in concentration of 5.0 and 20.0 mg/dm^3 indicators of its activity exceeded control samples in 2.3 – 4.8 times. At the same time, the activity of NADPH- glutamate dehydrogenase in samples with Se^{4+} decreased significantly compared to the control, especially at a concentration of 0.5 mg/dm^3 – almost by 65%. The increase in enzyme activity was observed only in samples with Se^{4+} in concentration of 5.0 and 10.0 mg/dm^3 on the 3rd and 7th day of exposure respectively.

Directivity index of glutamate dehydrogenase reaction, that is reversible, and its direction is determined in plants by coenzyme (NAD-dependent – direct, NADP-dependent – reverse), mostly characterizes the direction of metabolism [3]. Direct reaction leads to deamination of glutamate with 2-oxoglutarate formation that later may be used in Krebs cycle or other metabolic systems, playing an energetic function [3]. The reverse reaction helps the excessive ammonia binding, performing detoxicative function or becomes an amino acid biosynthetic pathway from keto acids, followed by the inclusion of nitrogen into proteins – synthetase way that removes 2-oxoglutarate from the pool of Krebs cycle, reducing the activity of aerobic energy formation.

After adding selenite in all variants of the experiment we observed a significant increase of NADH-GDH/NADPH-GDH levels, which indicates on the intensification of catabolic part of nitrogen metabolism.

Thus, particularly in samples with selenium concentration 5.0 and 10.0 mg/dm^3 on the 3rd and 7th days, the ratio of NADH-GDH/NADPH-GDH increased nearly to 1.0 or more. This shows that glutamate deamination processes was intensified, and as a result leads to the increase of amino acids participation in the cell energy supply [3].

DISCUSSION

It was established that accumulation of selenium in *Ch. vulgaris* cells has direct concentration dependence – the amount of trace element in the total biomass of cells increased with increasing concentration of selenium in the culture medium. Accumulation of selenium in *Chlorella* biomass, after adding its maximal amount (20.0 mg/dm^3), was characterized by very high intensity of the process and its linearity. Concentrations of sodium selenite 5.0 and 10.0 mg/dm^3 led to the accumulation of selenium in *Chlorella* cells almost at the same level in comparison to the control. In samples with $0.5 \text{ mg Se}^{4+}/\text{dm}^3$, assimilation of selenium was 2 times less and was approaching the saturation state. Obviously, in samples with low selenite concentrations, which are close to the natural value, revenue mechanisms of trace elements in algae cells, are more physiologically regulated.

Pigment systems functioning is crucial in the bioproductive process in algae [15], so, after the impact of some stress factors, the response of photosynthetic apparatus may be in result of such specific reaction and cause some structural, physiological or biochemical transformations. The content of photosynthetic pigments – chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids and pheophytins,

forms a new adaptive physiological cell state which is characterized by the general increase in biochemical and biosynthetic activity [12].

The most significant effect on the photosynthetic apparatus of *Chlorella* was observed in samples with Se^{4+} at concentrations of 0.5 and 20.0 mg/dm³ – the contents of the studied pigments in these samples increased significantly. This may indicate an increase in cell needs of energy and organic compounds that are formed as a result of photosynthesis, for more effective adaptation. It is important to note that in the concentration of 5.0 mg/dm³ we observed the decreasing amount of chlorophyll *a* and pheophytins in comparison to the control sample. Simultaneously, in samples with this concentration it was an increase in carotenoid content, especially on the 3rd day of the experiment.

It is widely known that carotenoids synthesis occurs due to acetyl-CoA – the initial metabolite of the Krebs cycle [6]. Therefore, a significant increase in the content of these pigments that occurred under the influence of sodium selenite at a concentration of 0.5 mg/dm³, could be the cause of decrease in Krebs cycle activity, as evidenced by decreased SDH activity. Chlorophyll *a* synthesis depends on the presence of glutamate [20], which is required for the initial stages of this pigment synthesis. However, the catabolic focus of glutamate dehydrogenase reaction suggests the possible use of glutamate in the energy supply of *Ch. vulgaris* [1].

Countervailing enzymatic and non enzymatic antioxidant mechanisms protect photosynthetic membranes from photooxidation and peroxide radicals disposal, thus preventing the destruction of chlorophyll triplets and oxidation of chloroplasts lipid membranes [5]. It might be more efficient to provide algae cells with necessary products of photosynthesis in the process of adapting to the effects of increased levels of Se^{4+} , rather than intensify the synthesis of new pigments.

Investigation of related enzymes activity, which is exposed to various influences, provides an opportunity to assess the state of individual parts of metabolic chains to determine orientation of metabolic process and the speed of metabolites flow.

The increase in algae cytochrome oxidase activity is probably related to an increase in energy demands of *Chlorella* cells to provide adaptation to excess selenite and probably ensuring cells physiological responses to increasing level (of selenite) in the medium. It should be noted that the active absorption of this trace element by phytoplankton, we can see its intense intracellular binding by macromolecules and redistribution between proteins, lipids and carbohydrates [19]. Considering this, algae cells require high functional activity of enzymes that provide energy, including cytochrome oxidase.

Regarding the activity of succinate dehydrogenase, its increase is also likely a compensatory response of energy metabolism to the increased concentrations of selenium in the environment. However, inhibition of SDH activity can be explained by the possible influence of selenium on the sulfhydryl groups of amino acids and the resulting inhibition of sulfhydryl enzymes, one of which in fact is the succinate dehydrogenase [2, 3].

As it was noted earlier, glutamate dehydrogenase maintains nitrogen homeostasis in cells [8]. Considering the metabolic connection of studied enzymes [1], intensive deamination of glutamate NADH-GDH, apparently caused by the supply of α -ketoglutarate to the Krebs cycle, which was greatly intensified by adding Se^{4+} . In this situation, glutamate formation in *Ch. vulgaris* cells involving NADPH-GDH decreased consequently. Thus, glutamate, like other amino acids can be actively used as an additional energy substrate in a situation of environmental factors influence [1].

It should be noted, that despite the relatively high concentration of selenite in algae environment, some reasonable changes in pigment complex and enzyme systems, we haven't observed death culture in any of the variants of this experiment.

CONCLUSIONS

This study describes the influence of sodium selenite on *Ch. vulgaris*, and shows that Se^{4+} contributes to its bioaccumulation in the algae cells, reaching its maximum concentration in samples with 20 mg/dm^3 on the 7th day of the experiment. However, the metabolic activity of algae cells under these conditions varies – some metabolic systems (photosynthesis and oxidation of energy substrates) are activated, while others (Krebs cycle) – inhibited. The most effective selenium accumulation was observed in a condition of a proper functioning of energy systems on samples with $10.0 \text{ mg Se}^{4+}/\text{dm}^3$. We believe that this concentration of selenite is optimal for *Ch. vulgaris* cultivation in order to enrich *Chlorella* cells with selenium, which can be used to get dietary supplements that contain selenium.

REFERENCES

1. Bodnar O.I., Klochenko P.D., Grubinko V.V., Borisova Ye.V., 2011. Effect of Lead Ions on Functional Activity of the Diatom *Mayamaea atomus*. Hydrobiological Journal, 47 (3), 67 – 74.
2. Bodnar O.I., Viniarska H.B., Stanislavchuk A.V., Grubinko V.V., 2014. Osobennosti nakopleniya selena i ego biologicheskaya rol u vodorosley (obzor). = Features of accumulation of selenium and its biological role in algae (review). Hydrobiological Journal, 50 (5), 72 – 89. [Ukr.]
3. David E. Metzler, 2003. Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells. 2-nd edition, Academic Press, 1973.
4. Dedkov J.M., Musatov A.V., 2002. Selen: biologicheskaya rol, khimicheskie svoystva i metody opredeleniya. = Selenium: biological role, chemical properties, and methods of determination. VINITI po RZh Khimiya, 1688, 2002 – 2008. [Rus.]
5. Demmig-Adams B., 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. Biochim Biophys Acta, 1020, 1–24.
6. Domenech C.E., Giordano W., Avalos J., 1996. Separate compartments for the production of sterols, carotenoids, and gibberellins in *Gibberella fujikuroi*. J. Biochem, 239, 721–725.
7. Gennity J. M., Bottino N.R., Zingaro R.A., 1984. The binding of selenium to the lipids of two unicellular marine algae. Biochem. Biophys., 118(1), 176 – 182.
8. Kretovich V.L., 1987. Usvoyeniye i metabolizm azota u rasteniy. = Assimilation and metabolism of nitrogen in plants. Moscow, 465 – 486. [Rus.]
9. Lowry O.H., Rosenbroug N.L., Farr A.L., Randall R.I., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 (1), 265 – 275.
10. Mager W.H., Kruijff A.J., 1995. Stress-induced transcriptional activation. Microbiol., 59, 506 – 531.
11. Metody fiziologobiokhimicheskikh issledovaniy v gidrobiologicheskoy praktike. = Methods of physiological and biochemical investigations in hydrobiology. Naukova Dumka Press, Kiev, 1975, 247. [Rus.]
12. Mutygullina J.R., 2009. Dinamika sodержanie i rol pigmentov fotosinteza u vidov roda *Dianthus L.* flory Predkavkazya. Vestnik MGOU. Estestvennyye nauki, 1, 52 – 55. [Rus.]
13. Ocinka stanu vodoymishch shlyakhom viznachennya pigmentiv fitoplanktonu. = Assessment of water speceis by identifying phytoplankton pigments. Kiev, 2005, 16 – 19.
14. Prokhorova M.I., 1982. Metody biokhimicheskikh issledovaniy. = Methods of biochemical investigations. Leningrad, 273. [Rus.]
15. Reyvn P., Shvert R., Aykhorn S., 1990. Modern Botanica, In 2 Volumes. Products Ltd, Moscow, Vol. 1, 347, Vol. 2, 344.
16. Sof'in A.V., Shatilov V.R., Kretovich V.L., 1984. Glutamate dehydrogenase of a unicellular green alga. Kinetic properties. Biokhimiya, 49 (2), 334 – 345. [Rus.]

17. Straus W., 1954. Colorimetric microdetermination of cytochrome c oxidase, J. Biol. Chem., 207 (2), 733.
18. Taiz L., Zeiger E., 2006. Plant Physiology, 4-th Edition. Sunderland, MA, 764.
19. Umysová D., Vítová M., Doušková I., Bišová K., 2009. Bioaccumulation and toxicity of selenium compounds in the green alga *Scenedesmus quadricauda*. BMC Plant Biology, 9 (58), 1 – 16.
20. Wettstein D., Gough S., Kannangara C.G., 1995. Chlorophyll Biosynthesis. Plant Cell, 7 (7) 1039 – 1057.
21. Zhou, Z. Li, P., Liu, Z. at al, 1997. Study of selenium accumulation and her connection with proteins, polysaccharides and lipids from *Spirulina maxima*, *Spirulina platensis* and *Spirulina subsalsa*. Oceanol. Limnol. sin., 28 (4), 363 – 370.

АНОТАЦІЯ

ВПЛИВ СЕЛЕНІТУ НА ФОТОСИНТЕЗНУ АКТИВНІСТЬ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER

Досліджено особливості накопичення селену, вміст пігментів (хлорофілів *a* і *b*, каротиноїдів та феопігментів), активність ферментів енергетичного (цитохромоксидази та сукцинатдегідрогенази) та азотного обмінів (НАД- та НАДФ-залежні ГДГ) в одноклітинній зеленій водорості *Chlorella vulgaris* Beijer за дії селеніту натрію у концентраціях 0,5; 5,0; 10,0 і 20,0 мг/дм³ на 1, 3 та 7-му доби культивування з мікроелементом.

Результати показали, що поглинання селену клітинами *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію характеризується часовою та концентраційною залежністю – кількість мікроелементу у клітинах збільшувалася зі збільшенням вмісту селену у середовищі культивування та тривалості дослідження.

Щодо пігментів, то найбільш помітний вплив на фотосинтетичний апарат хлорели був за дії Se⁴⁺ у концентраціях 0,5 та 20,0 мг/дм³ – кількість хлорофілів, каротиноїдів та феопігментів зростав у 2 – 3 рази. Це може свідчити про збільшення потреб клітин у енергетичних та органічних сполуках, що утворюються внаслідок фотосинтезу, для ефективнішої адаптації. Слід відмітити, що за концентрації 5,0 мг/дм³ відбулося зменшення кількості хлорофілу *a* та феопігментів щодо контролю. Одночасно за цієї концентрації збільшився вміст каротиноїдів, особливо на 3-ю добу експерименту.

Ферментна активність досліджених ферментів порівняно з контролем була вищою за дії всіх використаних концентрацій селену. Зростання цитохромоксидазної активності у водорості, очевидно, пов'язане зі збільшенням енерговитрат клітин хлорели на адаптацію до надлишку селеніту та із забезпеченням енергією фізіологічних відповідей клітин на підвищення його рівня у середовищі. У залежності від тривалості дослідження та концентрації селеніту натрію, активність цитохромоксидази збільшувалася в 2,1 – 3,4 рази порівняно з контролем. Щодо сукцинатдегідрогенази, то збільшення її активності теж є компенсаторною реакцією енергетичного обміну до підвищених концентрацій селену у середовищі. За дії селеніту натрію 5,0 мг/дм³ мало місце різке підвищення у 4 – 7 разів, тоді як за вищих значень концентрації – 10,0 і 20,0 мг/дм³ збільшення її активності спостерігалось в межах 24 – 65%. Інтенсивне дезамінування глутамату у НАДН-ГДГ-залежній реакції обумовлене постачанням α -кетоглутарату у цикл Кребса, що значною мірою активізувався за дії Se⁴⁺. При цьому, відповідно, процес утворення у клітинах *Ch. vulgaris* глутамату за участю НАДФН-ГДГ знижувався. Таким чином, глутамат, як і інші амінокислоти, можуть активно використовуватися як додатковий енергетичний субстрат за дії чинників зовнішнього середовища.

Отже, найефективніше накопичення селену спостерігається при вмісті $10,0 \text{ mg Se}^{4+}/\text{dm}^3$ при одночасному належному рівні функціонування енергетичних систем. Вважаємо, що ця концентрація селеніту є оптимальною для культивування *Ch. vulgaris* з метою збагачення клітин хлорели селеном, і це може бути використано для отримання з водоростей селеновмісних біологічно активних добавок.

Vasyl Grubinko¹, Anzela Lutsiv¹, Kateryna Kostyuk²

¹Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine

²Institute of Hydrobiology of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

e-mail: v.grubinko@gmail.com; hiazunt@mail.ru; kostyuk.katya@gmail.com

STRUCTURAL RECONSTRUCTION OF MEMBRANE AT ABSORPTION OF Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} BY UNICELLULAR GREEN ALGAE *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER

Abstract. We investigated the structural and functional features of membranes at absorption of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} by unicellular *Chlorella vulgaris* Beijer. The accumulation of metals ions is fluctuating. There are 4 stages: the stage of protective self-isolation of cells as a result of the primary stress response, the stage of the active accumulation (decrease in resistance and destruction of outer membrane), the stage of inhibition of the accumulation (formation of the secondary concentric membrane), and the stage of uncontrolled accumulation (destruction of secondary concentric membrane). The process of a concentric double membrane system formation is universal and does not depend on the nature of the toxicant (biogenic Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , toxic Pb^{2+}). Kinetic parameters of accumulation (K_m , V_{max} , E_a) show that the process of absorption of ions Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} goes according to mixed type of inhibition. During absorption of metals happens structural reconstruction the cell wall chlorella by forming double concentric membrane system, which is an adaptive mechanism, which functions to further protect cells from toxic levels of metal.

Keywords: ions manganese, zinc, copper and lead, cell wall, absorption, kinetic parameters, double concentric membrane systems, chlorella

INTRODUCTION

Evolution of algae was in progress if in their habitat environment there were the ions of various metals, including so-called heavy metals in toxic concentrations. As a result, they formed mechanisms of toxin resistance that support their optimal level in cells. Ions of many metals in some concentrations are effective regulators of metabolism, which is an ecological factor in the regulation of their population [1, 2]. Unicellular algae of different taxonomic groups can accumulate metal ions in concentrations that exceed their content in the water thousand times [3, 4]. However, excess of a certain level causes pathological changes of metabolism and their death [1].

Stability and adaptation of hydrobionts to adverse factors aquatic environment determined by the rate of formation and adequacy of response to current factor of protection systems of cell. Great importance is the membrane complex of cell that are a primary barrier for the penetration of of metal ions to cells of algae and isolate the contents of cell from the environment how in optimum conditions as well as in adverse. Stability of cell membranes in adverse conditions depends on their structure, functional state and composition of biomolecules in particular quantity and quality changes of membrane lipids [5].

The intensity of penetration of metal ions is determined by: their concentration in the environment, the interaction with membranes, and affinity of the components of cell membranes and intracellular components [2, 6]. It is believed that the penetration of metal ions into the cells is realized by diffusion and by using active transport [7.]. Also it is shown [8], that the accumulation of heavy metals in aquatic organisms is a dynamic process that develops according to time gradient and is characterized by a certain intensity and specificity.

The purpose of this research was studying the process of reconstruction cell membranes induced by phased absorption of ions Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} by cells of *Chlorella vulgaris* Beijer, and also analysis the kinetic parameters of penetration.

MATERIALS AND METHODS

We investigated the unicellular green microalgae *Ch. vulgaris* Beijer., which was grown in the climate chamber with illumination at a temperature $20 \pm 1^\circ C$ and lighting 2500 lx, in glass flasks (250 dm³) in the Fitzgerald mineral medium in modification by Zehnder and Gorham [9], that contained among other cations 0.058 mg/dm³ Mn^{2+} and 0.023 mg/dm³ Zn^{2+} but without Cu^{2+} and Pb^{2+} . We added aqueous solutions of $MnSO_4$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $Pb(NO_3)_2$ at a rate per ion: Mn^{2+} – 0.1; 0.2; 0.5 mg/dm³; Zn^{2+} – 1.0; 2.0; 5.0 mg/dm³; Cu^{2+} – 0.001; 0.002; 0.005 mg/dm³, Pb^{2+} – 0.1; 0.2; 0.5 mg/dm³. The duration of the influence of metals on the algae was: 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 168 hours (study the accumulation of metal ions). Structural reconstruction of cell membranes investigated after 24, 72, 168 and 336 hours. under the action of toxic ions. The control cells were the cells which were grown in nutrient medium without the salts of toxic metals.

The penetration of ions into the cells of chlorella was stopped by 2.5 mM EDTA. After centrifugation of the suspension of algae (2 000 rpm) the sediment was washed with solution of nutrient medium for cultivation, then it was burned in the nitrate acid [1]. The content of metals was determined by atomic absorption spectrophotometer Selmi C-115 M. The concentration of proteins in the cells of *Chlorella* was determined by Lowry's method.

The values of Michaelis constant (K_m) and maximum speed of penetration of metal ions (V_{max}) into the cells of algae were calculated by the graphic method of double return values in the Lineweaver – Burk coordinates and energy of activation (E_a) was determined by Arrenius graphical method [10].

The cell membranes that were received from homogenates of biomass of chlorella by the method Findley and Evans [11] (separated by centrifugation at 1500 g, 20 min), obtained in a mechanical homogenizer at 7000 rpm with 5 mM Tris-HCl buffer (pH 7.6) that containing 0.5 M sucrose, 0.005 M EDTA, 0.01 M KCl and 0.001 M $MgSi_2$ (wet weight : volume of buffer – 1:5), centrifugation at 5000 rpm during 15 minutes. The resulting suspension (cell membranes and two-phase system of solutions 0.25 M sucrose and 30% solution of polyethylene glycol in 0.2 M sodium phosphate) were divided equally into three parts, into each added 10 ml lower phase mixture of solution, then it was mixed and centrifuged at 2000 g during 15 min. in basket-rotor. The membrane materials is selected in the place of phase separation using a syringe. All procedures are carried out at 4°C. Membrane changes were fixed microscopically (MBI-15, followed by an integrating digital analysis on the complex "SSTU-camera Manual Vision SSD-color-WOYV00020) after their coloring "chloro-zinc-iodine" reagent [12].

RESULTS AND DISCUSSION

As a result of research it was revealed the fluctuating character of the process of accumulation of the investigated metal ions by cells of *Ch. vulgaris* Beijer. in time and depending on the concentration.

The intensity of accumulation of Mn^{2+} by cells of algae under metal concentrations 0.2 and 0.5 mg/dm³ is reduced during 30 min. (Fig. 1) and under ion concentration of 0.1 mg/dm³ – at first it is increased (to 0.25 hours.), and than also is decreased (to 0.75 hours.). Later it is observed an active accumulation of metal ions (to 24 hours.) under action of all investigated concentrations, what can be explained by a breach of resistibility of the cell membrane. After this the process is inhibited (to 48 h.). With increase of duration of the cultivation of chlorella with Mn^{2+} to 72 and 168 hours it is observed the restoration of ions' accumulation during actions of 0.1, 0.5 and 0.2

mg/dm³ respectively, with further decrease of intensity.

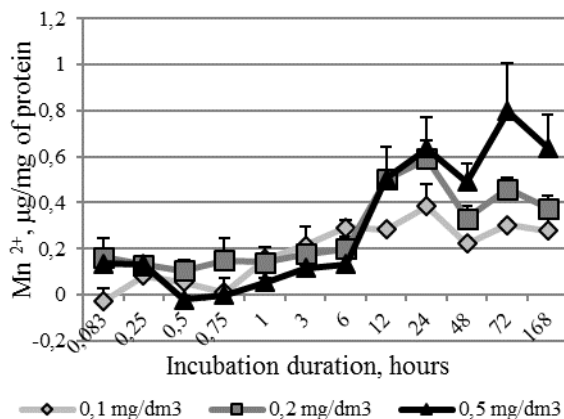


Fig. 1. Accumulation of Mn²⁺ by *Ch. vulgaris* Beijer. cells

This process is a subject to kinetic laws of Michaelis - Menten only during 0.083-0.5 h. and 12-168 h. (Table 1). Thus, the values of V_{max} and K_m of the accumulation of Mn²⁺ are reduced by 22% and 82% respectively (during 0.25 h.), then increased by 3% and 38% (to 0.5 h.), later V_{max} is increased by 11% (from 12 to 24 h.), reduced by 17% (to 48 h.), and again increased by 30% (to 72 h.) and reduced by 12% (to 168 h.). K_m is decreased by 4% during 12-24 h., increased by 52% (to 72 h.) and reduced by 25% (to 168 h.). The energy activation of binding of Mn²⁺ is reduced by 77% (to 0.25 h.), increased by 36% (to 0.5 h.), reduced by 15% (from 12 to 24 h.), increased by 44% (to 72 h.) and again reduced by 14% (to 168 h.).

Table 1. Kinetic parameters of Mn²⁺ accumulation by *Ch. vulgaris* Beijer. cells

| Kinetic parameters of Mn ²⁺ accumulation | | | |
|---|--|-------|---|
| Incubation duration, hours | V_{max} , $\mu\text{mol}/\text{hour} \cdot \text{mg}$ of protein | K_m | E_a , $\cdot 10^{-3}$ kJ/ μmol |
| 0.083 | 34.5 | 0.100 | 2.90 |
| 0.25 | 27.0 | 0.018 | 0.67 |
| 0.5 | 27.8 | 0.029 | 1.05 |
| 0.75 | – | – | – |
| 1 | – | – | – |
| 3 | – | – | – |
| 6 | – | – | – |
| 12 | 54.1 | 0.055 | 1.02 |
| 24 | 60.6 | 0.053 | 0.87 |
| 48 | 50.0 | 0.067 | 1.33 |
| 72 | 71.4 | 0.111 | 1.55 |
| 168 | 62.5 | 0.083 | 1.33 |

Note: “–” in tables 1, 3, 4 – the process is not liable to Michaelis-Menten equation

The accumulation of Zn²⁺ by the cells of *Ch. vulgaris* Beijer. is active (Fig. 2) (under action of 1 mg/dm³ - to 0.5 hours., under action of 2 and 5 mg/dm³ - to 0.75 h.), which can be explained by their use in the active vital functions of algae; and it is changed by the oppression of the accumulation

process (under action of 1 and 2 mg/dm³ - to 3 h., under action of 5 mg/dm³ - to 1 h.). Then accumulation of metal ions is activated (under action of 1 and 2 mg/dm³ - to 168 h., under action of 5 mg/dm³ - to 72 h.) with the following decrease of the absorption under concentration of 5 mg/dm³.

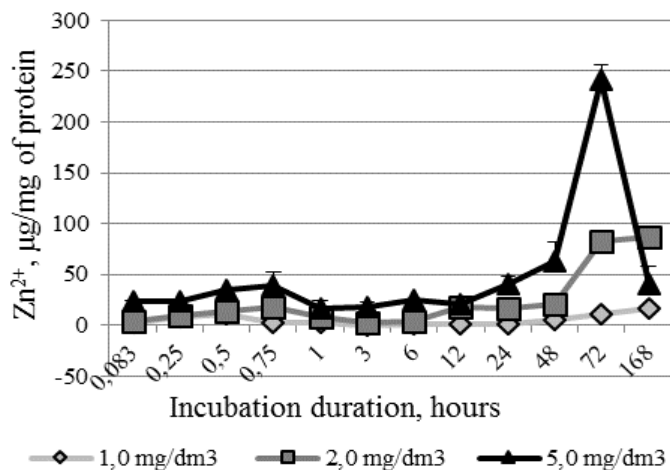


Fig. 2. Accumulation of Zn²⁺ by *Ch. vulgaris* Beijer. cells

The absorption of Zn²⁺ is characterized by such indicators (Table 2): V_{max} accumulation of metal ions is increased by 28%, 60%, 38% and 76% during 0,083-0,5 h., 0,75-1 hours., 3-6 h. and 24-168 h. respectively, and is decreased by 28%, 75% and 50% during 0,5-0,75 h., 1-3 hours and 6-24 h. respectively, K_m is decreased by 63%, 50%, 62% and 63% during 0,083-0,25 h., 1-3 hours., 6-24 h. and 48-168 h. respectively, and increased by 89%, 25% and 25% during 0,25-1 h., 3-6 h. and 24-48 h. respectively. E_a binding of Zn²⁺ changes: during the first 0.5 h. it is decreased by 65%, then (to 3 h.) increased by 88%, than (to 12 h.) again decreased by 44%, to 24 h. than increased by 10% and again decreased by 88% to 168 h.

Table 2. Kinetic parameters of Zn²⁺ accumulation by *Ch. vulgaris* Beijer. cells

| Kinetic parameters of Zn ²⁺ accumulation | | | |
|---|--|-------|---|
| Incubation duration, hours | V_{max} $\mu\text{mol/hour} \cdot \text{mg of protein}$ | K_m | $E_a, \cdot 10^{-3}$ $\text{kJ} / \mu\text{mol}$ |
| 0.083 | 2000 | 5.9 | 2.6 |
| 0.25 | 2000 | 2.2 | 1.1 |
| 0.5 | 2778 | 2.5 | 0.9 |
| 0.75 | 2000 | 6.7 | 3.3 |
| 1 | 5000 | 20.0 | 4.0 |
| 3 | 1250 | 10.0 | 8.0 |
| 6 | 2000 | 13.3 | 6.6 |
| 12 | 1250 | 5.7 | 4.5 |
| 24 | 1000 | 5.0 | 5.0 |
| 48 | 2500 | 6.7 | 2.6 |
| 72 | 2941 | 4.3 | 1.5 |
| 168 | 4167 | 2.5 | 0.6 |

An active absorption of Cu^{2+} (Fig. 3) occurs during 0.75 and 1 h. during chlorella cultivation with 0.001 and 0.005 mg/dm^3 respectively. During action of 0.002 mg/dm^3 it is observed an inhibition of absorption of the ions (to 0.5 h.), which can be explained by self-isolation of cells from metal with following activation (to 0.75 h.). Later the intensity of accumulation of metal ions during action of the investigated concentrations is decreased (to 3 h.), then it is activated (12 h.), inhibited (to 24 h.), activated for the second time (to 72 h.) and inhibited (up to 168 h). In this case during the action of the investigated concentrations it is observed the accumulation of metal ions to 0.75 and 1 h. and it is changed to inhibition of absorption of ions to 3 h.

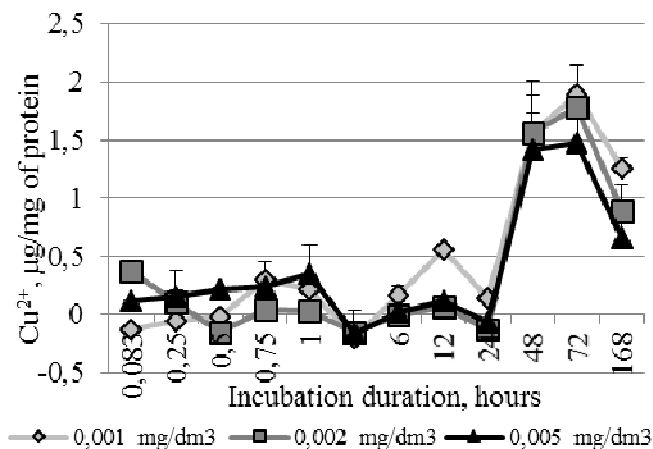


Fig. 3. Accumulation of Cu^{2+} by *Ch. vulgaris* Beijerinck cells

For Cu^{2+} (Table 3) value of V_{max} is increased by 20% (to 0.75 h.), decreased by 60% (to 3 h.), again increased by 42% (to 12 h.) and decreased by 23% (for 24 h.); values of K_m and E_a are reduced by 22% and 33%, 92% and 91%, 50% and 33% respectively during 0.083-0.5 h., 0.75-1 h., 3-6 h., and increased by 50% and 45%, 50% and 67%, 80% and 73% respectively during 0.5-0.75 h., 1-3 hours., 6-24 h. The accumulation of metal ions during 48-168 h. is not a subject to laws of Michaelis - Menten.

Table 3. Kinetic parameters of Cu^{2+} accumulation by *Ch. vulgaris* Beijerinck cells

| Kinetic parameters of Cu^{2+} accumulation | | | |
|---|--|--------|---|
| Incubation duration, hours | V_{max} , $\mu\text{mol}/\text{hour} \cdot \text{mg}$ of protein | K_m | E_a , $\cdot 10^{-3}$ $\text{kJ}/\mu\text{mol}$ |
| 0.083 | 50.0 | 0.0009 | 0.018 |
| 0.25 | 53.0 | 0.0007 | 0.013 |
| 0.5 | 55.5 | 0.0007 | 0.012 |
| 0.75 | 62.5 | 0.0014 | 0.022 |
| 1 | 48.78 | 0.0001 | 0.002 |
| 3 | 25.0 | 0.0002 | 0.006 |
| 6 | 37.0 | 0.0001 | 0.004 |
| 12 | 43.5 | 0.0003 | 0.006 |
| 24 | 33.3 | 0.0005 | 0.015 |
| 48 | – | – | – |
| 72 | – | – | – |
| 168 | – | – | – |

The accumulation of Pb^{2+} (Fig. 4) depends on the concentration: during action of 0.1 mg/dm^3 it is observed the decrease of the absorption of the ions of metal (to 0.25 h.), then increase (to 6 h.), decrease (to 24 h.), again increase (to 72 h.) and decrease (168 h.), during the action of 0.2 mg/dm^3 - initial accumulation (to 1 h.) is decreased (to 3 h.), then gradually increased (to 168 h.) during the action of 0.5 mg/dm^3 - the intensity of the absorption of metal ions is decreased (to 0.25 h.), then activated (6 h.), inhibited (to 12 h.), activated one more time (to 48 h.) and inhibited (to 168 h.).

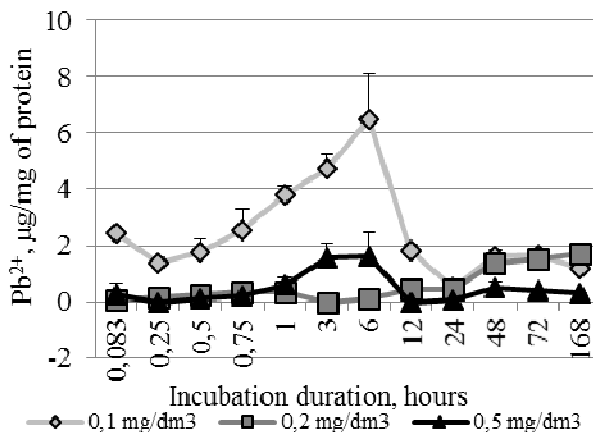


Fig. 4. Accumulation of Pb^{2+} by *Ch. vulgaris* Beijer. cells

The accumulation of Pb^{2+} is a subject to laws of Michaelis - Menten only during 0.083 h. and 1-6 h. (Table 4). The value of V_{max} of the absorption of Pb^{2+} is decreased by 79% within 1-3 h. and increased by 60% to 6 h. K_m during this time is increased by 67% and E_a binding of metal ions is increased by 91% within 1-3 h. and decreased by 47% to 6 h.

Table 4. Kinetic parameters of Pb^{2+} accumulation by *Ch.vulgaris* Beijer. Cells

| Kinetic parameters of Pb^{2+} accumulation | | | |
|--|--|-------|---|
| Incubation duration, hours | V_{max} , $\mu\text{mol}/\text{hour} \cdot \text{mg}$ of protein | K_m | E_a , $\cdot 10^{-3}$ kJ/ μmol |
| 0.083 | 200 | 0.50 | 2.5 |
| 0.25 | – | – | – |
| 0.5 | – | – | – |
| 0.75 | – | – | – |
| 1 | 238 | 0.22 | 0.9 |
| 3 | 50 | 0.50 | 10.0 |
| 6 | 125 | 0.67 | 5.3 |
| 12 | – | – | – |
| 24 | – | – | – |
| 48 | – | – | – |
| 72 | – | – | – |
| 168 | – | – | – |

The cells of *Ch. vulgaris* Beijer. actively accumulate Mn^{2+} to 24 h. of incubation, Zn^{2+} - to 0.5 h. (1.0 mg/dm^3) and to 0.75 h. (2 and 5 mg/dm^3), Cu^{2+} - to 0.75 pm. (0.001 mg/dm^3) and to 1 h. (0.005 mg/dm^3), Pb^{2+} - to 1 h. (0.2 mg/dm^3) and to 6 h. (0.1 and 0.5 mg/dm^3), thus controlling the penetration of ions. Later accumulation is inhibited. The mechanism of accumulation of metal ions is fluctuating and has 4 stages: the stage of self-isolation (stress reaction) of cells, stage of the active accumulation, stage of the inhibition, stage of the second accumulation. The stage of the self-isolation is the response of the cellular organism to the action of stress factor, in our case the ions of metals. The best isolation function of the cells appears during the action of Mn^{2+} (0.2 and 0.5 mg/dm^3 - to 0.5 h.), Cu^{2+} (0.002 mg/dm^3 - to 0.5 h.), and Pb^{2+} (0.1 and 0.5 mg/dm^3 - to 0.25 h.). Decrease of resistance of the primary cellular membrane to the investigated concentrations of metal ions is characterized by the stage of active accumulation of Mn^{2+} (0.1 mg/dm^3 - from 0.75 to 24 h., 0.2 and 0.5 mg/dm^3 - from 0.5 to 24 h.), Zn^{2+} (1 mg/dm^3 - to 0.5 h., 2 and 5 mg/dm^3 - to 0.75 h.), Cu^{2+} (0.001 mg/dm^3 - to 0.75 h.; 0.002 mg/dm^3 - from 0.5 to 0.75 h.; 0.005 mg/dm^3 - to 1 h.), Pb^{2+} (0.1 and 0.5 mg/dm^3 - from 0.25 to 6 h.; 0.2 mg/dm^3 - to 1 h.), which is followed by the destruction of the primary membrane [2]. Later the cells of chlorella try to control the absorption of the ions at the stage of secondary inhibition.

The observed fluctuating type of accumulation of the ions corresponds with structural and functional reconstructions of the cellular membrane during the action of metal ions, which consists in formation of double concentric membrane systems (Fig. 5.) as additional protection system, which contributes to the normalization of functional and metabolic activity of cells and their survival by unfavorable factors [2].

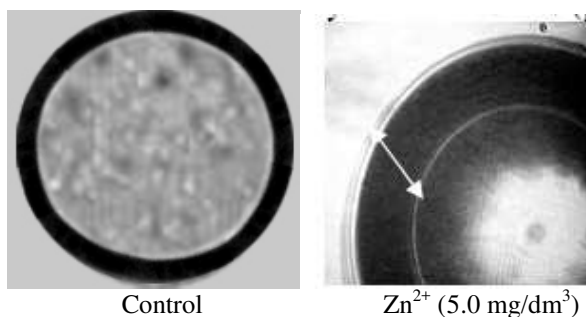


Fig. 5. The formation of secondary concentric membranes in the cells of *Chlorella vulgaris* under the influence of zinc ions (5.0 mg/dm^3), x9000

This process happens already at the first day of stressors action regardless of their nature (biogenic zinc, toxic lead) [2]. In the cells grown in the medium that containing toxic ions detected significant morphological differences related to changes in membrane thickness and size of cells. In particular, the increased granularity of the cytoplasm (24 hours of action); in the cells appears the second concentric circle membranes, granularity of cytoplasmic increases, there is increased vacuolization and condensation the substance of white color (48 h. action); concentric membrane thickens, and the area of nuclear and cytoplasmic space is reduced (168 or more hours of action).

We believe that a system of concentric membranes is one of the essential parts of a specific cellular response at absorption of ions of toxic metals. We assume that the basis of the membrane adaptation to unfavorable factors lies in hyperplasia of endoplasmic reticulum, since it is proved that in the structures formed by smooth endoplasmic reticulum the content of enzymes responsible for the detoxification is increased [13].

The phenomenon of multiplication of membrane system in the cells of water plants is consistent with the established for some organisms cells ability to adapt to the action of stressful factors due to thickening and multiplicative fragmentation of cell membranes. For example, early

in a process of *ascosporogenesis* in *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma simii* [14, 15], dehydrated pollen *Pyrus communis* L. [16], while growing chlorella and micrococcus in radioactive according to deuterium water [17] and testifies about its adaptive value. The process of formation the double concentric membrane observed for the actions of Mn^{2+} (at all investigated concentrations – from 24 h. to 48 h.), Zn^{2+} (5 mg /dm³ – from 0.75 h. to 1 h.), Cu^{2+} (at all investigated concentrations – from 1 h. to 24 h.), Pb^{2+} (0.1 mg/dm³– from 6 год. to 24 год.; 0.5 mg/dm³ – 6 h. to 12 h.). Thus, one could argue that the formation of secondary membrane is a universal response of cells to toxic stress, and takes place already during the first hours of action stressors regardless of their nature, and calculated energy of activation at this stage indicates the increase of energy expenditure of maintaining cell activity in *Chlorella* in toxic environment that may be necessary to factor the formation of secondary membrane.

We assume that secondary membrane functions as primary, as evidenced by protein-lipid composition of membranes, mainly activation the synthesis of phospholipids (PL) and triacylglycerol (TAG) during intoxication. Growth content of these classes of lipids is consistent with their participation in compensatory and adaptive activity of cells under stress conditions. Increase of TAG - one of the factors stabilization of cell membranes, which are precursors to the formation of DAG (diacylglycerol) and NEFA (nonetherified fatty acids) [18], and increase their number in a cell corresponds with consolidation and reduced fluidity of membrane [19]; TAG is also reserve energy substrate and increasing their content testifies to energy deficit resulting from toxic effects. As a result, activated lipolysis, order to provide the necessary energetic material for a cell, the level of triacylglycerols after an initial increase their content decreases significantly, that accompanied by an increase in the content of DAG and NEFA. Phospholipids affect not only the fluidity of membranes, but also form a microenvironment for membrane enzymes, ion channels, and regulate the communication of cell with the environment [20]. The increase of their content can be interpreted as a general mechanism of toxic resistance of cells to the action of heavy metal ions, that formed depending on the concentration and duration action of toxicants. It is possible that the intensity of this process explained by the high sorption ability of charged phospholipids [21], or performance of their functions of messengers which transfer the information into the cell about changes in the environment [22]. Also toxicants stimulate the biosynthesis of proteins, but their number is much less than number of lipids, because the synthesis of protein are longer in time and energy-dependent process. It is proved that the more aggressive toxicant, the greater the weight of accumulating proteins, that indicating of their participation in process of formation of double concentric membranes. As for the indicators of enzymes activity (ATP-ase, alkaline phosphatase), whose activity after its initial decrease by the action of toxicants is resumed synchronously with the formation of a secondary membrane [23, 24]. Reconstructions of the membrane during the action of metal ions are also consistent with violation of the functioning of the membranous ATP-ases [1], particularly Na^+ / K^+ ATP-ase, that participates in the regulation of ions [25]. Thus, Zn^{2+} do not practically impact on the membranous ATP-ases, except for high concentrations (5 mg/dm³), because they have high permeability, mobility in the cell, and complexing ability [26]. Pb^{2+} inhibit the activity of ATP-ase [1], because they are characterized by high affinity to proteins and strong restraining of this metal within metallothioneins [26]. A certain number of Cu^{2+} can bind with cellular membranes, and other ones make the complexes with low-molecular organic substances and proteins up to the saturation of their centers of binding [27]. The highest affinity to the proteins among investigated ions is Cu^{2+} , and the least - Zn^{2+} . Mn^{2+} supplant Ca^{2+} from cellular membranes [28], and therefore their accumulation is limited by duration of antyport.

Next stage of the reactivation process of accumulation, that is observed during the actions of Mn^{2+} (0.1 and 0.5 mg/dm³ - from 48 to 72 h.; 0.2 mg/dm³ - 48 h. to 168 h.), Zn^{2+} (1 and 2 mg/dm³ - from 3 to 168 h., 5 mg/dm³ - from 1 to 72 h.), Cu^{2+} (0.001, 0.002 and 0.005 mg/dm³ - from 24 to 72 h.), Pb^{2+} (0.1 mg/dm³ - 24 to 72 h.; 0.2 mg/dm³ - from 3 to 168 h., 0.5 mg/dm³ - from 12 to 48

h.), is characterized by destruction of the secondary concentric membrane [2], due to exhausting the basic protection of resources in the cell.

The further accumulation of investigated metal ions becomes uncontrolled and can be formed multimembrane system (Fig. 6). But, the following membranes likely is defective and functioning inefficiently and can lead to the formation of pathological structures, and later occurs a natural process the death of cell by increasing the osmotic pressure inside the cell and cracking of cell.

The kinetic indicators conform to the regularity of absorption of metals.. The increase of V_{max} accumulation of Mn^{2+} (0.25-0.5; 12-24; 48-72 h.), Zn^{2+} (0.083-0.5; 0.75-1; 3-6; 24-168 h.), Cu^{2+} (0.083-0.75, 3-12 h.), Pb^{2+} (3-6 h.) shows that metal ions are bound with molecules of the cellular walls of alga and molecules- carriers of membranes according to the noncompetitive type [10]. The absorption of ions is also characterized by the decrease of value of V_{max} : Mn^{2+} (0.083-0.25; 24-48; 72-168 h.), Zn^{2+} (0.5-0.75; 1-3; 6-24 h.), Cu^{2+} (0.75-3, 12-24 h.), Pb^{2+} (1-3 h.), that indicate the competitive inhibition.



Pb^{2+} (0.5 mg/dm³; 336 h.)

Fig. 6. The formation of multimembrane system and apoptosis in cells of *Chlorella vulgaris* under the action of the lead ions, x9000

The energy of the activation of binding of Mn^{2+} (0.25-0.5; 24-72 h.), Zn^{2+} (0.5-3; 12-24 h.), Cu^{2+} (0.5-0.75; 1-3; 6-24 h.), Pb^{2+} (1-3 h.) by surface membrane of algae and penetration through the membrane show that the process of accumulation of metals within this period is energy-dependent.

CONCLUSION

Thus, accumulation of the ions of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} by the cells of *Ch. vulgaris* Beijer. is fluctuating and is determined by the concentration of ions in the environment and duration of its action on the cells.; неконтрольоване накопичення у результаті руйнування вторинної мембрани. There are 4 stages: the stage of protective self-isolation of cells as a result of the primary stress response, the stage of the active accumulation as a result of decrease in resistance and destruction of outer membrane, the stage of inhibition of the accumulation as a result of formation of the secondary concentric membrane [2]; the stage of uncontrolled accumulation as a result of destruction of the secondary concentric membrane. The process of a concentric double membrane system formation is universal and does not depend on the nature of the toxicant (biogenic Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , toxic Pb^{2+}).

The absorption of metal ions goes according to mixed mechanism and is determined by the affinity of metal-binding components of membranes, formation of secondary concentric membrane and its resistance to metals, the duration of its structural and functional activities, and after loss of it and after saturation of the centers of binding of metal ions by cytoplasmic components – the process of accumulation becomes passive and uncontrolled.

REFERENCES

1. Grubinko V.V., Gorda A.I., Bodnar O.I., Klochenko P.D., 2011. Metabolism of Algae under the Impact of Metal Ions of the Aquatic Medium (a Review). *Hydrobiological Journal*, 47 (6), 75 – 88.
2. Kostyuk K.V., Grubinko V.V., 2012. Change of Composition of the Cellular Membranes of the Aquatic Plants under the Impact of Toxic Substances. *Hydrobiological Journal*, 48 (4), 75 –92.
3. Jain S.K., Vasudevan P., Jha N.K., 1995. Taking off some heavy metals from the pollution water helping of water plant: experiences with *Azolla*, *Biological Wastes*, 28 (2), 115 – 126.
4. Whinston A.I., McAuley P.J., Smith V.J., 1986. Removal of metals from wastewater by marine microalgae, *J.Exp. Bot.*, 46 (1), 1 – 3.
5. Schmid K.M., Ohlroge J.B., 2002. Lipid metabolism in plants. Chapter 4./ *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (4th Edn.)* / Eds. D.E. Vance, J.E. Vance. Elsevier Science B.V., 93 – 126.
6. Grubinko V.V., 2012. Features adaptation celled freshwater algae to heavy metals / Actualnue problemy sovremennoy algologii: Tezisy dokladov IV Mezhdunarodnoy konferencii, Kyiv, 83 – 85.
7. Antonov V.F., 1997. Membrannyy transport. *Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal*, 6, 6-14.
8. Khomenchuk V.O., Kurant V.Z., Konovets I.M., Arsan V.O., Grubinko V.V., 2000. Influence of some factors of the aquatic environment on accumulation of heavy metals in the organism of carp. *Dop. NAN Ukraine*, 5, 97 – 100.
9. Methods of physiological and biochemical research of algae in hydrobiological practice, 1975. Ed. A.V. Topachevskiy. *Naukova dumka, Kyiv*, 247 p.
10. Varfolomeev S.D., Gurevych K.G., 1999. *Biokinetyka: prakticheskiy kurs*. FAIR – PRESS, Moscow, 720 p.
11. Findley G., Evans U., 1990. *Biological membranes*. Mir, Moscow, 423 p.
12. Broda B., 1971. *Metody histochemii roslinnej*. Panstwowy zaklad wydawnictw lekarskich. Warszawa, 255 p.
13. Pathoanatomy and physiology, Ultrastructural pathology of cell, Available: <http://www.nedug.ru/library/doc.aspx?item=34099>.
14. Ito H., Hanyaku H., Harada T., Tanaka S., 2000. Fine structure in ascosporegenesis of freeze-substituted *Arthroderma simii*. *Revista Iberoamericana de Micología (Bilbao, Spain)*, Ap. 699, E-48080, 13 – 16.
15. Tanaka S., Fujigaki T., Watanabe S., 1982. Ultrastructure of the concentric membrane system in asci of *Arthroderma vanbreuseghemii*. *Sabouraudia*, 20 (2), 127 – 136.
16. Tiwari S.C., Polito V.S., Webster B.D., 1990. In dry pear (*Pyrus communis* L.) pollen, membranes assume a tightly packed multilamellate aspect that disappears rapidly upon hydration. *Protoplasma*, 153 (3), 157 – 168.
17. Mosin O.V., 2007. About the phenomenon of cellular adaptation to heavy water. Available: <http://www.gaudeamus.omskcity.com>.
18. Lewis R.N.A.H., McElhaney R.N., 2000. Surface charge markedly attenuates the nonlamellar phase-forming properties of lipid bilayer membranes: calorimetric and ³¹P-nuclear magnetic resonance studies of mixtures of cationic, anionic, and zwitterionic lipids. *Biophys. J.*, 79 (3), 1455 – 1464.
19. Dyatlovitskaya E.V., Bezuglov V.V., 1998. Lipids as bioeffectors. Introduction. *Biochimia*, 63 (1), 3 – 5.
20. Abbas C.A., Card G.L., 1980. The relationship between growth temperature, fatty acid composition and the physical state and fluidity of membrane lipids in *Yersinia enterocolitica*. *Biochim. Biophys. Acta*. 602 (3), 469 – 476.

21. Wang L., Zhou Q., Chua H., 2004. Contribution of Cell Outer Membrane and Inner Membrane to Cu^{2+} Adsorption by Cell Envelope of *Pseudomonas putida* 5-x. Journ. Environmental Science and Health. Part A. 39 (8), 2071 – 2080.
22. Vigh L., Horváth I., Thompson G.A., 1988. Recovery of *Dunaliella salina* cells following hydrogenation of lipids in specific membranes by a homogeneous palladium catalyst. Biochim Biophys Acta. 937 (1), 42 – 50.
23. Kostyuk K.V., Grubinko, V.V., 2010. Role of Membrane ATP-ases in Adaptation of Aquatic Organisms to Environmental Factors (a Review). Hydrobiological Journal. 46 (6), 45 – 56.
24. Kostyuk K., Grubinko V., 2010. The effect of zinc, lead ion and diesel fuel on membrane lipid composition of aquatic plants. Visnyk of Lviv university. Biology series. 54, 257 – 264.
25. Lionetto M.G., Giordano M.E., Vilella S., Schettino, T., 2000. Inhibition of eel enzymatic activities by cadmium. Aquat. Toxicol. 48 (4), 561 – 571.
26. Dmitrieva A.G., Kozhanova O.N., Dronina N.L., 2002. Fiziologia rastitelnyh organizmov i rol metallov. MGU im. M.V. Lomonosova, Moscow, 160 p.
27. Kabata-Pendias A., Pendias H., 1989. Microelementy v pochvah i rasteniyah. Myr, Moscow, 439 p.
28. Zolotuhina E.J., Gavrylenko E.E., 1990. Binding of copper, cadmium, iron, zinc and manganese by proteins in water macrophytes. Fiziologiya Rastenii (Moscow). 37 (4), 651 – 658.

АНОТАЦІЯ

СТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА МЕМБРАНИ ПРИ ПОГЛИНАННІ Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} ОДНОКЛІТИННОЮ ЗЕЛЕНОЮ ВОДОРОСТЮ *CH. VULGARIS* BEIJER.

Досліджено структурні та функціональні особливості мембран при поглинанні хлорелою Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} . Накопичення іонів металів має 4 стадії: стадія захисної самоізоляції клітин в результаті первинної реакції на стрес, стадія активного накопичення (зменшення опору і руйнування зовнішньої мембрани), стадія гальмування накопичення (формування вторинних концентричних мембран), і стадія неконтрольованого накопичення (руйнування вторинних концентричних мембран). Процес формування подвійної концентричної мембранної системи є універсальним і не залежить від природи токсиканта (біогенні Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , токсичний Pb^{2+}). Кінетичні параметри накопичення (K_m , V_{max} , EA) показують, що процес поглинання іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} відбувається за змішаним типом інгібування. Під час поглинання металів відбувається структурна перебудова клітинної стінки хлорели шляхом формування системи подвійних концентричних мембран, що є адаптивним механізмом, який функціонує, щоб додатково захистити клітини від токсичних рівнів металу. Послідовність процесу адаптації мембран до токсикантам на структурно-функціональному рівні включає: мембранний механізм ізолювання клітини від токсикантів на початкових стадіях їх впливу, пошкодження токсикантом мембран в концентраційно-часовому градієнті і збільшення їх проникності з подальшим порушенням іонного гомеостазу, відновлення мембранних функцій внаслідок структурно-функціональної перебудови всього мембранного комплексу за рахунок утворення вторинної концентричної мембрани. Виявлена специфічна реакція на дію токсикантів, що виражається в швидкості утворення, товщині і часі дезадаптаційного руйнування внутрішньої концентричної мембрани. Зовнішня (первинна) мембрана при цьому консервативна по товщині, за винятком розривів і виходу з клітин цитоплазматичного вмісту. Мультиплікація мембран – це злагоджений процес, який відбувається дуже швидко і при участі

всіх ресурсів клітини, оскільки основне її завдання – збереження структурної і функціональної стабільності клітини.

Висловлено припущення, що в основі мембранної адаптації водорості до несприятливих факторів може лежати гіперплазія ендоплазматичного ретикулуму, а саме може супроводжуватися утворенням структур, які ідентифікуються як ділянки еозинофільної цитоплазми. Біохімічно доведено, що в структурах, сформованих гладким ендоплазматическим ретикулумом, збільшується вміст ферментів, відповідальних за детоксикацію.

Обговорюється питання про механізм запуску мультиплікації мембран, власне процесів рецепції, сигналізації, а також промоторів даного явища та поетапність синтезу системи вторинних мембран, що дозволить зрозуміти всі шляхи адаптаційного процесу.

Olena Barabash

National transport University

e-mail: el_barabash@ukr.net

COMBINATION OF MANAGEMENT APPROACHES FOR SUCCESSFUL INTRODUCTION AND FUNCTIONING OF THE SYSTEM OF ECOLOGICAL MANAGEMENT

Abstract. The article deals with the problem of development and introduction of the system of ecological management according to the demands of standard State Standard of Ukraine (SSU) ISO 14001:2015 «The system of ecological management. The demands and instructions for its application». The review of ideas concerning effectiveness and efficiency of introduction of the ecological management system at the enterprises with the help of classical management approaches has been presented and effects of its application are examined. The author has carried out the analysis of classical (traditional) approaches to managing the system of ecological management, determined positive features and faults of these approaches. It has been determined that on practice one should combine traditional approaches to the management in order to improve the effect from introduction of the ecological management system.

The author has offered the conception of strategic management based on several approaches for introduction and functioning of successful system of ecological management at an enterprise which will allow forming a new notion about ecological management of industry in long-term perspective, restrict an enterprise, exceed the limits of «black box» system and stimulate its development at the production market due to the clearly formed system of ecological management, through acquirement of new habits by workers, establishment of new aims, contributed to understanding problems of higher management, and to transforming an enterprise into an emergent system.

Key words: management solution, organizing culture of an enterprise, strategic planning, behavioural approach.

INTRODUCTION

For the last decade humanity has been experiencing several crises simultaneously: climatic, biodiversity crisis, fuel, provision, water, and for the last years of financial system crisis as well as of economics in general. The emission increase indicates an increasing threat of rapid climate change, which can contribute to catastrophic issues for humanity [10]. Nowadays market principles of economics are making enterprises change the ecological management system of production management, finding more flexible mechanisms and instruments of management. The necessity of a more effective system of nature-oriented measures on the microlevel and competitors' pressure also dictate the necessity of new approaches to national enterprises management concerning their interaction with the environment [6]. Preserving an enterprises competitive state in the conditions of market relations is based on the application of some innovations in its activity, the greatest meaning among them is given to improvement of approaches to organizing system management with the aim of providing the processes' continuity and improvement [19, 20]. Beyond all question, such a non-traditional change in organisations is not only development, but its effective and successful introduction of the ecological management system (EMS), which forms special management structure and is the part of general management and one of the directions of production activity of the enterprise [3].

The appearance of ISO 14000 – series of international standards for enterprises and organizations is one of the most significant international nature-oriented initiatives. The main function of this series is a system of identification of an enterprise's influence on the natural

environment and execution of legislation demands, the system at the same time is oriented neither on quantitative parameters, nor on technology, but on EMS [5]. Creating such a system at the enterprise is the effective instrument with the help of which the organization can manage all the totality of its influences on the environment and has an opportunity to organize the activity according to the normative legal demands [11, 25].

In the last decade the introduction of EMS on the basis of the international standard orders ISO 14001 has acquired a massive character. On the grounds of international organization's report concerning standardization the number of certified organizations in accordance with the standard ISO 14001 is over 260 000 [22]. Hereby location of present enterprises in the countries with developing economics in the last years has become a significant feature of introduction and certification of EMS. Besides European and the North American countries, traditionally leading in EMS introduction, such Asian countries as China, South Korea, Japan, India, Indonesia, Malaysia became leaders by 2013 [21].

However, it should be indicated that effectiveness and efficiency of EMS introduction sometimes differ depending on conditions of each country reviewed separately. It is prearranged with a different level of legislative base development in the field of environmental protection [15], formation of new generation of instruments (administrative and control, market oriented, spontaneous agreements), suitable for creation conditions of a country's transit to stable economic, ecological and social development [16]. A great role in the process of EMS introduction belongs to the availability of environment-oriented technologies and infrastructure state in the separate examined country, and also to the staff's erudition level of industrial enterprises concerning EMS successful introduction. Besides, EMS introduction at the enterprises in conformity to the demands ISO 14001 takes place rather slowly for some reasons, which are connected with significant financial expenses of the organization for EMS development and certification. One can state that advantages of the effective EMS (conditionally divided into inner which directly influence the organization activity and external – positive changes taking place in the reducing of the enterprise's activity influence on the environmental state) surpass all the expectations and will be more significant than financial expenses of the organization for realizing all the elements of the EMS [28].

Introducing the standard ISO 14001:2015 in action a new problem has arisen whether it will be so effectively introduced at the enterprises as it was with the previous versions of standard. According to the predictions of the most pretentious organizations, that have become leaders of the introduction standard ISO 14001, such as Hydram Engineering, Skanska, Northern and Manchester Metropolitan University more than 250000 organizations all over the world will make the transit to ISO 14001:2015 by September, 2018, but for most of enterprises this problem is still ahead [26]. That's why it is not strange, that ecological problems are taken into consideration at the highest level. The very problems become the main themes at the country summits of Group of eight, G8; ecological responsibility is getting increased in legislation of many countries.

EXPOSITION OF THE MAIN MATERIAL OF THE RESEARCH

The Ukrainian transit of economics on the market basis has led to necessity of changing managers' opinions of national enterprises concerning the system of management production as the national priorities level has acquired outlines of large-scale solutions and introduction of non-traditional management technologies. Under conditions of the market economy there is a high level of economic behaviour of market subjects, when there is a necessity of choice of one or several possible variants of actions and as a result of such choice there is a management solution, which becomes a way of planned aims, organized work of the EMS at present.

It is known, that management solutions at the enterprise are divided into two types: traditional solutions, which were taken repeatedly, in this case one should take one of the present alternative variants and non-traditional, non-standard solutions, which are connected with search

of new alternative variants. EMS introduction at the enterprise is the very non-traditional and non-standard management solution, which needs a new strategy and newly-built conceptual approaches [22].

On territory of Ukraine EMS introduction goes very slowly. This accounts for most enterprises working in the inner sector of economics, where partners are not nominated necessary demands concerning EMS introduction. The main stimulus to EMS introduction at national enterprises can become an interest in relations with foreign partners, development of which is essentially facilitated if there is a certified environmental management system at the enterprise. Besides, the opportunities of getting foreign investments and credits play a significant role for Ukrainian enterprises concerning acceleration of EMS introduction.

That's why it is important to understand on account of what management approaches it is possible to effectively and successfully introduce EMS under conditions of Ukraine, so that already formed EMS would give an essential economical effect on the first stages of its development on account of rational application of stuff, materials, energy resources, technological expenses reduction, production quality rise, reduction of ecological payment for environmental pollution [1]. For this one should consider the concept of ecological management, which includes:

1. The study of possibility and necessity of ecological processes management.
2. The area and object management determination in the ecological management – interaction of human and nature.
3. Formulation and realization of ecological management.
4. Accordance of the problem scale and management scale. Infrastructure of ecological management. Interaction and relation of transnational and regional problems of ecological management.
5. Functional content of ecological management.
6. The principles of ecological management.
7. Methodology and role of science in the ecological management.
8. The organization of ecological management.
9. The system, mechanisms and management technologies in the concept of ecological management.
10. Strategy and effectiveness of ecological management [6].

Coming from the ecological management concept it is possible to create a strategy for effective EMS introduction at enterprises, because the irrefutable and main principle upon ecological processes management is the principle of strategy [24]. Effective EMS direction development is connected with determinate aims and clear management strategy directed on distribution of priorities that will allow distributing functions in a proper way concerning development, functioning and improvement of EMS at the enterprise. Hereby the management strategy must be constantly changed in time as well as conditions of the environment [23].

Management at an enterprise during EMS developing in most cases is conducted on the basis of classical, especially process and systematic approaches.

It is believed, that the most rational and effective variant of EMS introduction is the application of process approach [21]. Such an idea is connected with standard points demands ISO 14001, which suppose combination in unitary processes of passing several stages from preparation and carrying out at the enterprise with the application of Deming cycle improvement methodology or PDCA cycle. With the help of process approach there is provided a process integration and organizing at the enterprise, concentration of efforts on the successfulness and effectiveness of processes, clarity of operations inside the enterprise, expenses reduction on account of rational use of products, clearer understanding of their responsibility by workers. Hence, the process approach allows combining in unitary processes just main standard demands: ecological aspects at the enterprise and determination of significant ecological aspects, and ecological management program and others [7]. Disadvantages of process approach will be unpreparedness in the structure of managing the enterprise and in its organizing structure; mistakes during forming the system of

work indices of EMS and arising the elements of inaccessibility on the way of supporting the system of constant process improvement. Such an approach to management is optimal for organizations with simple organizing structure, when the whole process is concentrated on the frames of one structural unity [17], but its introduction in the complex hierarchical management system is accompanied with reduction of work effectiveness [12].

The systematic approach to management considers an enterprise, at which EMS is introduced as a system with a number of relative and interacted elements combined on the whole. Hereby, an enterprise appears to be a system with its entrance (an influence of the environment on the enterprise), emersion (enterprise influence on the environment, aims and assignments directed on reduction of this influence), feedback (between workers and management, outer sides and enterprise, relations between departments inside an enterprise) and outer influences (legislation, economic and ecological factors). This approach is effective as it complies all the demands of standard, differs by built methodology, but has a special disadvantage – a traditional, functional approach to EMS, which recreates it later into the operating system of orderly documentation of the enterprise. It can happen for some reasons: functional subdivisions directly uninterested in the results of effective EMS introduction, as their evaluation system activity is alienated from effectiveness on the whole, and hereby the EMS improvement is perceived by staff as direct dependence between EMS existence and industrial processes, which are described in procedures. Thus, in this case, a large scale of document circulation at the enterprise can become the only result of EMS introduction.

Considered classical approaches to the management are determined with unidirection of EMS at the enterprise, and from one hand give an accurate result in the identification of significant ecological aspects, development of ecological politics and program of ecological management, relations between all the levels of enterprise, and from the other hand – have disadvantages of methodological and methodical character when using each separate approach [5]. One should mention, that classical approaches are connected with a traditional authoritarian, control-oriented style of management, which can contribute to relations and behaviour destabilization in the collective [29].

In practice EMS introduction needs using several traditional approaches to management, which is connected with voluntary character SSU ISO 14001:2015, and particularly with «human factor» without a right organization of which EMS development and effectiveness is impossible. That's why limit and disadvantages of classical approaches are cut off with supplying one approach to another and also during combination of several approaches. It will allow building up EMS in production recreation and staff motivation.

EMS introduction with totally reviewed philosophy of organization, change of staff psychology and their qualification extension should be begun in order to put into practice all the approaches at the enterprise. The classical quantitative approach with elements of strategic analysis to management can precede the philosophy of changes at the enterprise, the essence of which is the transit from qualitative to quantitative estimates, with the help of mathematical and statistical methods, engineering calculations, estimates of experts on the basis of «brainstorming» with adding strategic instruments – SWOT and PESTLE- analysis for understanding the necessity of EMS development and introduction for detection strong and weak points of the enterprise [32]. In this case it is possible to apply the diagram of Ishikawa or diagram of cause and effect (diagram "fishbone"), which contributes to detect key parameters of processes, that have influence on natural environment characteristics and is used for the purpose of graphic representation of interrelation between decisive problem and reasons, that influence their arising [30, 31]. Hereby it will be reasonable to include the methodology of Factor X type [18], determination of ecological material balance [18], and to pass to identification of ecological aspects of enterprise activity influence on the natural environment, determination of significant ecological aspects (rating of quantitative analysis). The quantitative approach to management on the initial stage of EMS introduction will considerably allow reducing time expenses on solution of complex management

assignments concerning establishment of dependence between different indices of enterprise activity, namely: technologically organizational and economic, quality of goods and expenses during its production and introduction of nature-oriented areas [13]. Due to the quantitative approach with application of strategic instruments, the enterprise manager will immediately estimate advantages of EMS for the enterprise development, ways and stages of its creation and economic appropriateness. After determination by the executives the necessity of EMS development and introduction with the help of quantitative approach one should carry out organizational changes and begin to commit the staff of all subdivisions for list formation of ecological aspects and other necessary documentation. "Three whales" of non-traditional approach concerning behavioural approach are creation of conditions for development and realization of co-workers' opportunities, stimulation of new ideas and practical introduction of novations [14]. That's why when carrying out organizational changes at the enterprise much attention should be paid to work with the staff, hence behavioral approach can become the very one, directed "inside" the organization and the main element, which will influence management subjects by ecological changes and the participants of ecological changes, their supporters and those who do not support changes – all the staff of the enterprise, who feel the influence of organizational changes [4]. There are human factor as a constituent of strategic approach to management – creative, strategic and transformational thinking of all the co-workers of the organization, that will allow increasing purpose, motivation of the staff during organizational changes at the enterprise [27].

The purpose of behavioural approach is providing help to the worker to understand his own opportunities, creative abilities of applying conceptions of behavioural sciences. The enterprise manager will be able to diverse priorities of ecological politics on the activity development with adherence of science-founded ecological demands and to reach improvement of ecological effectiveness of organization on account of efficiency rise of human resources due to right application of this approach. We should not forget about the necessity of applying its leadership properties, which will contribute to working capacity of a separate worker as well as all the participants, who will provide EMS development and introduction, because passing the stages without which EMS development and existence is impossible rely on the very workers of the enterprise – highly qualified experts in the strict segment with a constant will of improvement their knowledge, realizing their creative potential and getting an appropriate reward for this, that's why there is such a necessity for efficiency of introduced EMS [2].

In order to let the workers determine significant ecological aspects of the enterprise influence on the natural environment by workers, the ecological politics was developed and the program of actions was determined, EMS was also constantly strived to improvement, there is a necessity to motivate and study them in such a way, so that the management wouldn't be under conditions of constant circulation of staff problems, but could solve key influences from the outside environment. Hence, after setting of work and relations between enterprise workers the executives can start realizing their ecological strategy of managing. On this stage there is a necessity to take into consideration the very process approach, in frames of which the executives should develop and introduce the series of continuous relative actions on the basis of strategic planning. A simultaneous strategy of the industrial complex, which is based on the quantitative, behavioral and process approaches to management during EMS creation, should provide accomplishment of the main purpose – providing the competitive enterprise on the market, via constant improving all the indices of the activity and reducing influences on the natural environment.

CONCLUSIONS

According to the research results the main demands to the ecological management system of the enterprise can be formulated in such a way: a continuous refusal from managing rationalism of classical managing schools; examination of the enterprise and natural environment as an integral system; recognition of development and realization necessity of the system of strategic

management by the enterprise; business capacity to rule «organizational culture» as a system of values, which are divided by enterprise workers and are related to the final purposes of the organization; understanding the necessity of forming an efficient, successful and effective system of ecological management; understanding the main role of the leader as a carrier of new thinking, oriented on novations; recognition of social responsibility of management to the society on the whole as well as for separate people, working at an enterprise.

The offered ecological strategy of management, which integrates notions of quantitative, behavioural, process and strategic approaches, which supply each other and form new notion concerning the EMS introduction of enterprises on a long-term prospective with an accent on successfulness and efficiency of this system, will contribute to significant and stable economic effects on account of rational applying stuff, materials, reduction of technological expenses and others will allow to combining EMS with existing elements of managing system of the enterprise, will force to take into consideration the training of qualified experts in the field of ecological activity with a special accent on the managing and engineering competences.

REFERENCES

1. Безбородова О. Е., Вершинин Н.Н., 2014. Экологический менеджмент на предприятии. Наука и современность, 31, 100 - 105.
2. Безбородова О. Е., 2011. Документация системы экологического менеджмента / Надежность и качество, 1, 356 - 357.
3. Безбородова О. Е., 2011. Идентификация и оценка экологических аспектов деятельности предприятия. Молодежь. Наука. Инновации, 293 - 295.
4. Божко Л. М., 2013 Современные подходы к управлению организационными изменениями. Экономика и управление предприятиями, отраслями и комплексами в условиях инновационного развития, 16 - 21.
5. Божко Л. М., 2015. Комбинированные научные подходы к управлению изменениями. Вестник Омского университета, Экономика, 2, 77 - 83.
6. Бородин А. И., 2003. Особенности формирования экологически приемлемого управления предприятием. Вестник Казанского технологического университета, 2, 411 - 416.
7. Дмитриченко М. Ф., 2010. Екологічний менеджмент: навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів, 221.
8. Дохолян С. В., Темирбулатов А.М., 2005. Концептуальные подходы к формированию экологического менеджмента на предприятии. Вопросы структуризации экономики, 2, 106-116.
9. ДСТУ ISO 14001:2015 Системи екологічного управління. Вимоги та настанови щодо застосування (ISO 14001:2015, IDT)
10. Егорова М. С., 2011. Экологические инвестиции как путь восстановления экономики Вестник науки Сибири. Экономика и менеджмент, 1, 1, 474-480.
11. Кобелева И. В., 2012. Концепция процессно-системного управления качеством окружающей среды на промышленном предприятии. Основы экономики, управления и права, 3, 67-69.
12. Комиссарова М.А., 2012. Процессная модель системы стратегического управления угледобывающими предприятиями. TerraEconomicus, 10, 1-2, 98-102.
13. Осовська Г.В., 2003. Основи менеджменту: навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів, 556.
14. Палей Т.Ф., 2009. Поведенческий подход к инновационному менеджменту как конструктивный процесс развития организации. Проблемы развития инновационно-креативной экономики, 316-330.

15. Пахомова Н.В. Малышков Г.Б., 2012. Модернизация российского экологического законодательства и импорт институтов: экономико-правовой анализ. Вестник Санкт-Петербургского университета, Экономика 5, 3, 20-35.
16. Пахомова Н. В., Рихтер К. К. Малышков Г. Б., 2013. Стратегия устойчивого развития и переход к зеленой экономике: обновление приоритетов и механизмов. Вестник СПбГУ, 5, 4, 35-54.
17. Переверзев П.П., 2013. Стратегическое управление развитием промышленного комплекса на основе процессного подхода. Вестник Южно-Уральского государственного университета, Экономика и менеджмент, 7, 3, 101 - 105.
18. Сергиенко О. Основы теории эко-эффективности: монография, 223.
19. Смольянова Е. Л., 2012. Совершенствование процесса управления организационными изменениями на предприятии. Организатор производства, 1, 52, 84-92.
20. Трочиковски Т., 2012. Управление инновационными процессами как условие развития экономики, основанной на знаниях. Организатор производства, 4, 55, 84-92.
21. Хорошавин А.В., 2014. Анализ проблем результативного внедрения систем экологического менеджмента. Применение процессного подхода в экологическом менеджменте. Научный журнал НИУ ИТМО, 3, 614-624.
22. Borland H., Ambrosini V., Lindgreen A., Vanhamme J., 2014. Building Theory at the Intersection of Ecological Sustainability and Strategic Management. Intersection of Ecological Sustainability and Strategic Management, Springer Science+Business Media Dordrecht, 293-307.
23. Dan Su, 2009. Review of Ecology-Based Strategy Change Theories. International Journal of Business and Management, 4 (11), 69-72.
24. Firuz D., 2011. Economic instruments of environmental management. Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 1(2), 97-111.
25. Gwen Ch., Fetsko M., Hendrickson Ch., 2004. Environmental Management Systems and ISO 14001. Certification for Construction Firms. Journal of construction engineering and management, 330-336.
26. ISO 14001 certifications reach new high, <http://www.environmentalistsonline.com/article/2012-12-12/iso-14001-certifications-reach-new-high>
27. Jan Dul, 2011. Human factors in business: creating people-centric systems. RSM Insight, 5, 4-7.
28. Matuszak-Flejszman A., 2009. Benefits of Environmental Management System in Polish Companies Compliant with ISO 14001. Polish J. of Environ. Stud., 18 (3), 411-419.
29. Roger B. Mason, 2007. The external environment's effect on management and strategy A complexity theory approach Management Decision, 45 (1), 10-28.
30. Tarun Kanti Bose, 2012. Application of Fishbone Analysis for Evaluating Supply Chain and Business Process – a case study on the St. James Hospital. International Journal of Managing Value and Supply Chains (IJMVSC), 3 (2), 17-24.
31. Watson G., 2004. The Legacy Of Ishikawa. Quality Progress, 37(4), 54-47.
32. Writing Goals and Objectives. A guide for grantees of the smaller learning communities program, 2010. Academy for Educational Development, 32.

АНОТАЦІЯ

ПОЄДНАННЯ ПІДХОДІВ УПРАВЛІННЯ ДЛЯ РЕЗУЛЬТАТИВНОГО ВПРОВАДЖЕННЯ І ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГІЧНОГО МЕНЕДЖМЕНТУ

Виходячи з концепції екологічного менеджменту виникає необхідність розробки стратегії для ефективного впровадження системи екологічного менеджменту (СЕМ) на підприємствах, оскільки незаперечним і основним принципом, після визначення необхідності управління екологічними процесами, виступає принцип стратегічності. Ефективна розробка СЕМ пов'язана з визначеними цілями та чіткою стратегією керівництва направленою на розподіл пріоритетів, що дозволить правильно розділити функції щодо розробки, функціонування та покращення СЕМ на підприємстві.

Управління на підприємстві під час розробки СЕМ, у більшості випадків відбувається на основі класичних підходів. Ці підходи до управління визначаються однонаправленістю до впровадження СЕМ на підприємстві і з однієї сторони дають чіткий результат по виявленню суттєвих екологічних аспектів, створенню екологічної політики та програми екологічного менеджменту, зв'язках між усіма рівнями підприємства, а з другої сторони – мають недоліки методологічного і методичного характеру. На практиці впровадження СЕМ потребує використання декількох традиційних підходів до управління, що пов'язано з добровільним характером ДСТУ ISO 14001:2015, а особливо з «людським фактором» без правильної організації якого, неможлива розробка СЕМ. Тому обмеження і недоліки класичних підходів знімаються при доповненні одного підходу іншим, а також під час комбінування декількох підходів. Це дозволить розбудувати СЕМ в контексті перетворення виробництва та вмотивованості працівників.

За результатами дослідження основні вимоги до системи екологічного менеджменту підприємства можна сформулювати наступним чином: поступова відмова від управлінського раціоналізму класичних шкіл менеджменту; розгляд підприємства і навколишнього природного середовища як цілісної системи; визнання необхідності розробки і реалізації системи стратегічного менеджменту управління підприємством; здатність бізнесу до управління «організаційною культурою» як системою цінностей, які розділяються працівниками підприємства і пов'язані з кінцевими цілями організації; розуміння необхідності формування на підприємствах дієвої, результативної та ефективної системи екологічного менеджменту; усвідомлення головної ролі лідера як носія нового мислення, орієнтованого на новачі.

Запропонована екологічна стратегія управління, яка інтегрує в собі положення процесного, кількісного, поведінкового та власне стратегічного підходів, які доповнюють один одного і формують нове розуміння щодо впровадження СЕМ на підприємствах на довгостроковій перспективі із акцентом на результативність та ефективність цієї системи призведе до суттєвих і стійких економічних ефектів за рахунок раціонального використання сировини, матеріалів, зниження технологічних втрат, дозволить спроектувати СЕМ із вже існуючими елементами системи управління підприємством.

Marcin Dziura, Bernadeta Alvarez

University of Rzeszow, Poland

e-mail: marcindziura@op.pl

PERMANENT GRASSLAND IN THE POLISH CARPATHIANS

Abstract. Floristically rich foothill and mountain meadows with a high proportion of dicotyledonous herbs with colorful flowers are a valuable part of the Carpathian landscape. They are characterized by high biodiversity. Currently, they constitute a gene bank of many plants and animals, including protected and endangered species not found in other parts of Europe. The origin of the meadows, as well as their maintenance, is strongly associated with the extensive type of use (mowing and grazing). Unfortunately, cost-effectiveness of this type of agricultural use is at a low level, which is a major cause of limitation or abandoning its use in recent decades. In this area, the population of livestock decreased significantly, especially sheep that were pastured in hard to reach places where it was impossible to use agricultural machinery. Unfortunately, the abandonment of grassland grazing or mowing results in successive adverse changes in these areas.

Keywords: meadows, pastures, natural conditions, the structure of land use, animal feed

INTRODUCTION

Permanent grasslands in Poland occupy about 10% of the country area, representing 21% of its agricultural area [25]. The vast majority of Polish grasslands are strongly linked to the economic activities of a man. In the moderate climate zones of Europe, they belong to extrazone and seminatural plant community created at former sites of lodging or drained peatlands [19]. Therefore, they substitute plant communities of natural forest and wetland phytocenosis. Existence, dynamics and durability of most meadow communities depends on both natural factors and human impact [21]. One of the basic conditions for maintaining beneficial species composition of meadow and pasture sod is its proper use and regular fertilization [7, 11, 12]. Animal husbandry on a pasture, with a multi-species sod including grasses, herbs and legumes cannot be replaced with even the best feed given to animals in the indoor livestock system. Fresh air, movement, variable weather and wholesome feed have positive influence on health, fitness as well as milk and meat production in cattle and sheep. Refraining from the use of meadows and pastures for several seasons results in dying off of economically valuable species of grasses and legumes. At the same time there are more and more spaces not sodded with vegetation which are colonized by less demanding weeds, and in the following years self-seeding shrubs and trees. Consequently, digression of green mass yields and deterioration of its nutritional value takes place [20].

NATURAL PRECONDITIONS OF MEADOWS CULTIVATION

The development of meadow vegetation in mountain conditions depends largely on the climate, soil and topography [6, 16]. Grassland growing in the mountains are characterized by a slightly greater diversity than that of the lowlands. [28] Definitely more meadow species, including dicotyledonous herbs, can be found in piedmont meadows than in valley ones [30]. In Poland, meadows in the foothills and mountains are at different heights a.s.l., on the slopes of varying exposure and inclination. Grassland vegetation located on the northern slopes is delayed a few days in reference to the southern slopes. Smaller differences can be observed between western and eastern exposition. It was also noted that the northern and eastern slopes are characterized by an increased share of grasses and smaller share of dicots. The length of the growing season of meadow vegetation also depends on the height a.s.l. An important factor in obtaining feed from meadows and pastures in the foothill and mountain slopes is a slope inclination. Slopes, where

collecting hay is impossible due to technical difficulties in harvesting silage, should be allocated to pasture [17: 2].

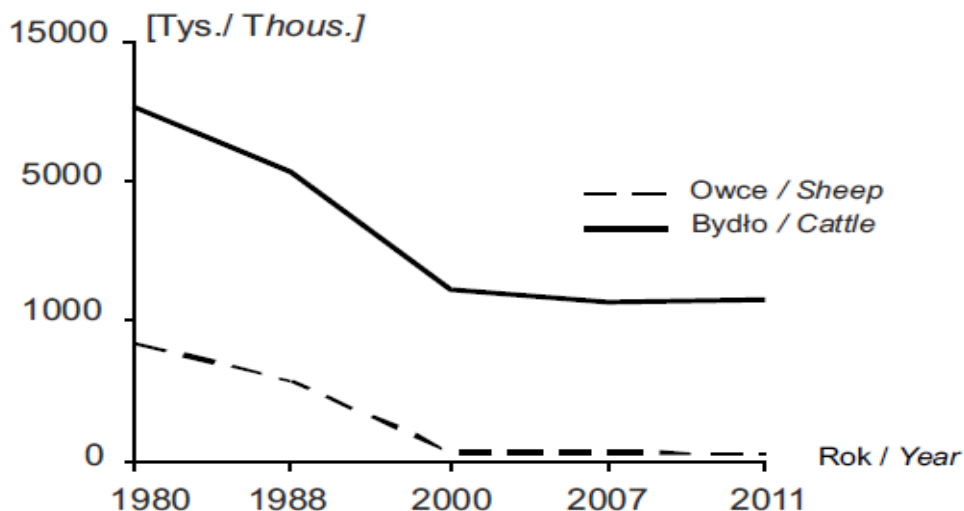


Fig. 1. Change of cattle and sheep number in Poland in years 1980–2011 (Central Statistical Office)

Meadow plant communities compared to forest communities are characterized by high dynamics of changes in species composition. Any modifications of usage cause long-term extinction of some species and the appearance of others [36]. Proper use of meadows and pastures prevents adverse transformations of their species composition. The way they are used, especially for extensive forms of agriculture currently used in mountains, is one of the most important factors that determines the floristic composition of the sod [26, 34, 15]. Many studies support the importance of systematic sod mowing for the richness of pasture [34, 22]. The specificity of mountain meadows is their fertilization using sheep manure. Sometimes this is the only way to fertilize such land, in particular, that located in higher parts of the hills and in the areas with steep sloping [7, 11, 12, 32].

The species composition of mountain meadows have a significant share of dicotyledonous herbs. These usually amount to more than 50%. These species are characterized by the most considerable sum of surface. They are distinguished by diversity of color and aromatic flowers, most of which is food for bees [29]. Mountain herbs definitely increase mineral content including macro- and microelements in feed generated from the Carpathian halls, which positively affects their total fodder value. Large differences exist between the feed hay from various types of halls and mountain meadows. As is generally known, its value is affected by a floristic composition of individual grassland [24]. Mountain soils in Poland are not rich in essential nutrients and have acidic pH [6, 13]. It is influenced by frequent precipitation and, consequently, leaching of nutrients, less weathering of rocks and frequent in these areas lack of fertilization. Despite this facts, feed from the foothills and mountain meadows is highly appreciated. Its value is largely contributed to significant share of herbs in the sod [19].

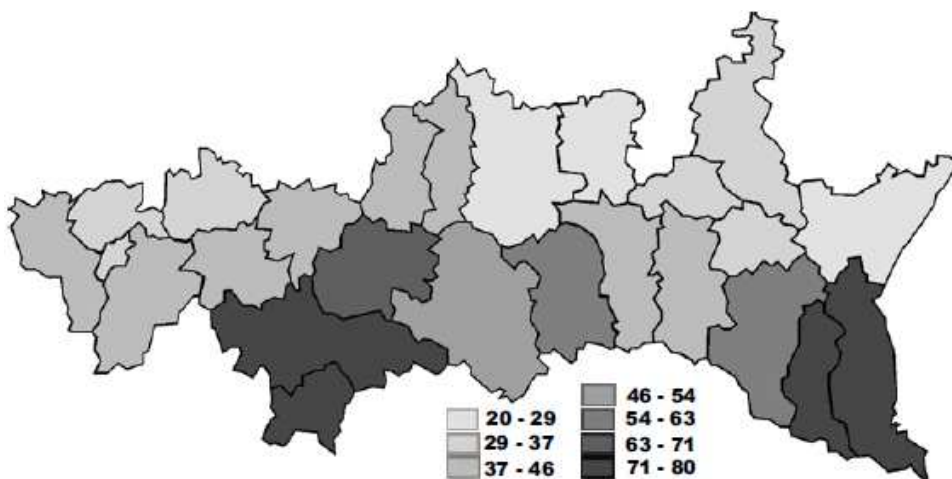


Fig. 2. Share of grassland in agriculture area [%] in the Carpathians districts in 2010 (Central Statistical Office)

Mountain meadow herbs contain large amounts of nutrients, particularly potassium and calcium [8]. The amount of these elements varies in considerable ranges, however it is usually several times higher than their content in the best fodder grasses in the lowland meadows. Dicotyledonous herbs have a beneficial effect on the health of the animals, their condition and weight gain. Multi-species meadow sod with a large share of valuable herbs fully covers the needs of animals for nutrients [5]. It has long been known that meadow herbs in terms of nutrient content can compete with grasses [1]. Some of them are characterized not only with a high protein content, basic minerals and trace elements [9], but also contain vitamins (B1, B2, C, PP) and hormonal substances. In addition, due to the presence of biologically active compounds; alkaloids, glycosides, phytoncides, coumarins, tannins, essential oil, etc. they positively affect the health of animals. They also facilitate digestion, have expectorant, diuretic, regulating function and stimulate metabolic processes, as well as have stimulating and strengthening effect on the body. In addition, they enhance the appetite of animals and increase feed intake. They stimulate the body of animals to better development, and various organs to function better. They act in immunostimulating way on enzymes in animal organisms [4].

CHANGES IN MANAGEMENT STRUCTURE OF GRASSLANDS

Despite the obvious climate change [23], the main cause of changes observed recently in grasslands are socio-economic transformations, which sometimes result in enormous changes in agriculture [3]. The introduction of market economy after 1989 significantly reduced the profitability of agricultural crops cultivated extensively, which dominated in the large area of southern Poland. Meadows and pastures are places of feed production for livestock, therefore, the scope of their occurrence and intensity of use are highly dependent on the size of animal herds. In the 90s of the twentieth century in the whole country there has been a significant decline in livestock [36, 14] (Fig. 1). Sheep population underwent most significant reduction, especially in mountainous areas traditionally dominated by sheep [18].

Lower demand for fodder from permanent grassland, as well as the decline in yields of food crops i.e.: potatoes and grains in the foothill and mountainous areas resulted in the transfer of production of feed from the higher location to former arable land, where meadows and pastures were formed through self-sodding and sowing. Their acreage increased by 60-70% comparing to the end of the 80s [31]. In 2010, the share of grassland in agricultural land amounted to 80% (Fig. 2). Along with the increase in height a.s.l., the arable land decreases and the area of permanent

grassland increases. Currently, in the hypsometric range of 700-1100 m a.s.l. arable land constitutes 5,6-16,3%, meadows and pastures 65,4-68,7% of the total area of agricultural land [10].

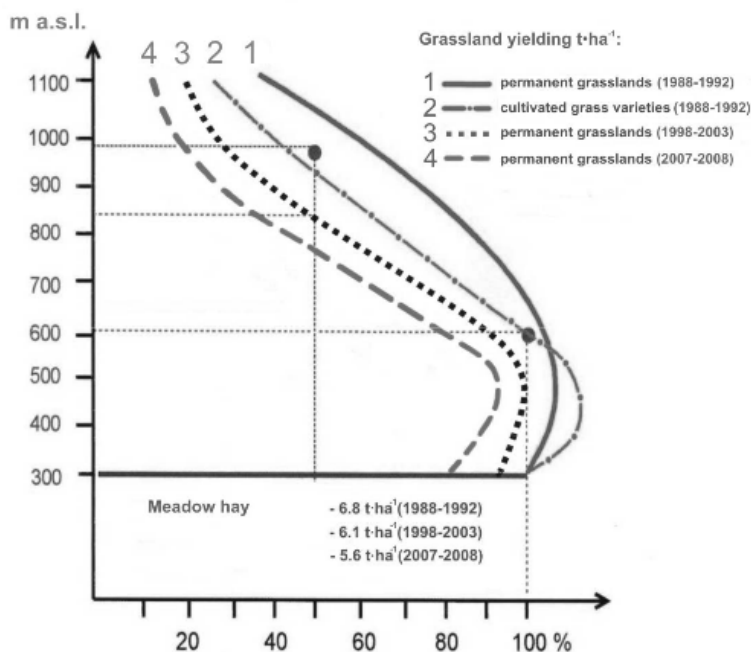


Fig. 3. Variability of grassland yielding in relation to altitude a.s.l. (Twardy i in. 2011).

YIELD OF GRASSLANDS IN POLAND

Grassland and mountainous areas apart from production have also protective functions. Therefore, the intensity of their use is reduced which diminishes the amount of biomass obtained. Volatility of sod yielding in Poland in terms of place and time is shown graphically on the example of permanent grassland yielding (Fig. 3). In the years 1988-1992 it was assessed at the average of 6.8 t ha^{-1} , and in 2007-2008 only 5.6 t ha^{-1} of meadow hay. The reason for such a significant reduction in yields was farmers significantly decreased interest in ruminants husbandry [33].

Livestock density per 1 ha of meadows and pastures (expressed in livestock units - LU) was negligible, less than 0.3 LU per 1 ha of grassland in particular in Podkarpackie (Fig. 4). These were usually meadows mowed exclusively for obtaining direct farming subsidies [36]. According Zarzycki [34] meadows established in the past several years on arable land are characterized by different floristic composition, than those existing in the past [34]. This is a result of both short period of the formation of plant communities, but also the location for better habitats. This results in the development of meadow communities with a large proportion of strongly growing grass crops. From the perspective of the feed, it is very beneficial, but it is a factor inhibiting the growth of many species which are small and attached to not very fertile habitats. Undoubtedly, a lot of rare and protected plants belong to this group [27, 36].

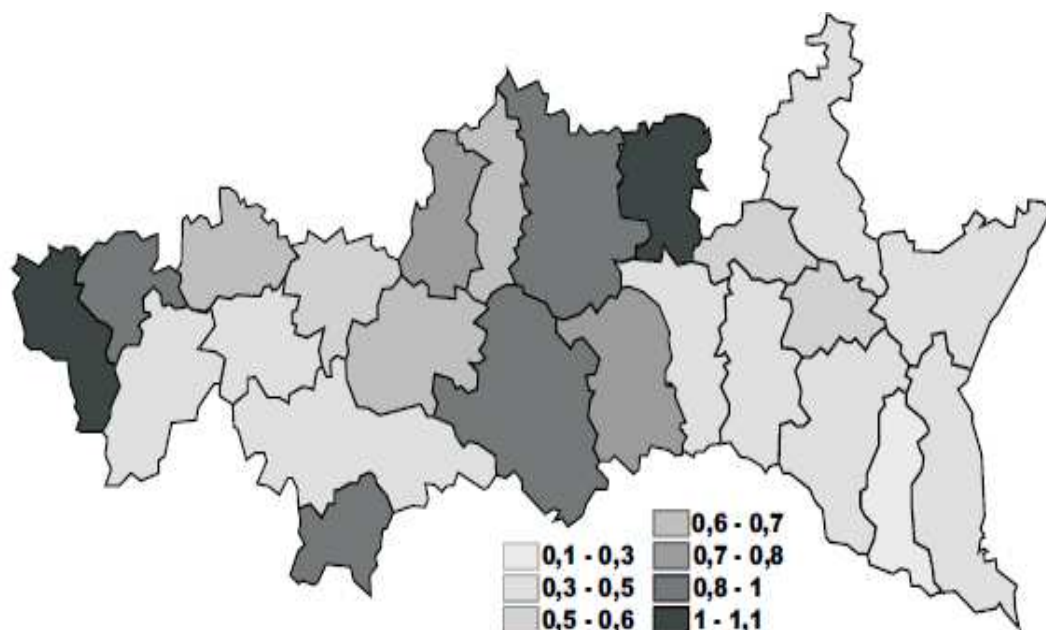


Fig. 4. Livestock number [LU] per 1 ha of grassland in the Carpathians districts in 2010 (Central Statistical Office).

REFERENCES

1. Benedycki S., Bałuch A. Puczyński J. 1999. Wybrane gatunki ziół jako źródło makroelementów w mieszance z życią trwałą. *Fol. Univ. Agric. Stetin.* 197, Agricultura 75, 31-34.
2. Borkowski J., Mikołajczak Z.: 1997. Wpływ nawożenia mineralnego na właściwości gleb darniowych i plonowanie runi w Sudetach. *Zesz. Probl. Podst. Nauk Rol.* 337: 221–223.
3. Burzyńska I. 2014. Zróżnicowane użytkowanie łąki a jakość wód gruntowych. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie.* 14. 3(47) 5–18.
4. Dębska- Kalinowska Z. 2000. Zioła łąkowe, ich znaczenie dla zwierząt i ludzi. *Wię Jutra* 4(21), 9-10.
5. Falkowski M., Kukułka I., Kozłowski S. 2000. Właściwości chemiczne roślin łąkowych. *Wyd. AR Pozn., s.* 132.
6. Gąsior J., Jakobińczuk W., Oliwa B. 2003. Gospodarowanie metodami ekologicznymi na tle zrównoważonego rozwoju pld.-wsch. Polski. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie*, 89. 71-79.
7. Gąsior J., Kaniuczak J., 1996. Wpływ nawożenia mineralnego na plon i zawartość różnych frakcji azotu w sianie łąki górskiej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., z.* 440, 101-108.
8. Gąsior J., Kaniuczak J., 1997. Bilans i proporcje niektórych makroskładników w sianie łąki górskiej. *Zesz. Nauk. IMUZ Falenty*, nr 38, 101-106.
9. Grzegorzczk S., Alberski J. 2000. Zawartość niektórych mikroelementów w wybranych gatunków ziół łąkowo-pastwiskowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 471, 705-710.
10. Jankowska - Huflejt H. 2006. The function of permanent grasslands in water resources protection. *Journal of water and land development J. Water land dev.* 10, 55–65.

11. Kaniuczak J., Gąsior J., 1996. Wpływ nawożenia organicznego na plon i skład chemiczny siana łąki górskiej. Cz. I. Nawożenie organiczne a plon siana i skład florystyczny. Zesz. Nauk. AR Szczecin, nr 172, 197-203.
12. Kaniuczak J., Gąsior J., 1996. Wpływ nawożenia organicznego na plon i skład chemiczny siana łąki górskiej. Cz. II. Nawożenie organiczne a skład chemiczny runi łąkowej. Zesz. Nauk. AR Szczecin, nr 172, 205-211.
13. Kasperczyk M., Szewczyk W., 1999. Skład florystyczny runi górskich użytków zielonych po zaprzestaniu użytkowania. Zeszyty Naukowe AR w Szczecinie, Rolnictwo, 75, 163-166.
14. Kopacz M., Twardy S. 2014. Analiza zmian trwałych użytków zielonych w Karpatach na przykładzie zlewni górnego Dunajca i Raby. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. 13. 3(43) 91-103.
15. Metera E., Sakowski T., Słoniewski K., Romanowicz B. 2010. Grazing as a tool to maintain biodiversity of grassland – a review. . Anim. Sci. Pap. Rep. 28(4), 315-334, Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzębiec, Poland.
16. Mikołajczak Z., Wolski K., Baranowski M., Jurkowski M., 2006. Wartość użytkowa górskich pastwisk Kotliny Jeleniogórskiej. Zeszyty Naukowe UP we Wrocławiu, Rolnictwo LXXXVIII. 545. 189-193.
17. Mikołajczak Z., Wolski K., Bartmański A., Gawęcki J.: 1997. Proekologiczna technologia produkcji pasz na obszarze Sudetów z uwzględnieniem metod odnawiania zdegradowanych użytków zielonych oraz roli terenów zadarnionych w ochronie środowiska naturalnego. Wrocław. MRiGŻ, Katedra Uprawy Łąk i Pastwisk we Wrocławiu, WODR w Jeleniej Górze: 74.
18. Musiał W. 2006. Problemy rozwoju rolnictwa na obszarach górskich. W: Harasim A. (red.) Regionalne zróżnicowanie produkcji rolniczej w Polsce. Wydawnictwo IUNG – PIB w Puławach, 169-182.
19. Nowiński M. 1967. Polskie zbiorowiska trawiaste i turzycowe. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 284.
20. Nowiński M. 1970. Chwasty łąk i pastwisk. PWRiL Warszawa, 413.
21. Pawlaczek P., Jermaczek A. 2000. Poradnik lokalnej ochrony przyrody. Wyd. Lubuskiego Klubu Przyrodników, Świebodzin, 287.
22. Pławska-Olejniczak J., Żywiczka A. 2009. Wpływ wypasu koników polskich i szkockiego bydła górskiego na florę naczyniową ekstensywnie użytkowanych łąk Skoszewskich. Łąkarstwo w Polsce 12, 131-140.
23. Przybylak R. 2006. Zmiany klimatu Polski w ostatnich stuleciach. W: Długookresowe przemiany krajobrazu Polski w wyniku zmian klimatu i użytkowanie ziemi (red. M. Gutry-Korycka, A. Kędziora, L. Starkl, L. Ryszkowski.). Komitet Narodowy IGBP i Zakład Badań Środowiska Rolniczego i Leśnego PAN, Poznań, 29-48.
24. Ralski E. 1993. Stosunki pobierania niektórych składników mineralnych przez roślinność ważniejszych zespołów halnych Karpat Zachodnich w zależności od nawożenia. Roczn. N. Roln. i Leś. 30, 3, 429.
25. Rocznik Statystyczny Rolnictwa 2013. GUS Warszawa.
26. Rogalski M., Wieczorek A., Kardyńska S., Płatek K. 2001. Wpływ pasących się zwierząt na bioróżnorodność florystyczną runi. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 478: 65-70.
27. Snopek A., Rogala Sz., J., 2013. Roślinność łąkowa jako stadium sukcesji wtórnej na terenach dawnej wsi w Bieszczadach – przykład doliny Łopienki. Roczniki Bieszczadzkie 21, 92-101.
28. Trąba C., Wolański P., Oklejewicz K. 2005. Share of legumes in selected non-forest plant communities in the San valley. Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation, Tartu, Estonia, 173-177.

29. Trąba Cz., Wolański P. 2011. Łąki i pastwiska w gospodarstwach ekologicznych. [w:] Kompendium rolnictwa ekologicznego. Błażej J. (red). Wyd. Uniwersytetu Rzeszowskiego, 256.
30. Trzaskoś M. 1996. Florystyczne, paszowe i krajobrazowe walory łąk zielonych. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 442, 417-430.
31. Twardy S. 2009. Tendencje zmian użytkowania przestrzeni rolniczej obszarów karpaccich. Studia i Raporty IUNG – PIB, 17, Stan i kierunki zmian w produkcji rolniczej (wybrane zagadnienia), Puławy, 49–58.
32. Twardy S., 1992. Plonowanie i skład botaniczny koszarzonej i podsiewanej runi pastwisk owczych. Wiadomości IMUZ, 17/2, 369–382.
33. Twardy S., Jankowska – Huflejt H., Wróbel B. 2011. The role of grasslands in the formation of structural and spatial order of rural areas. Journal of water and land development J. Water land dev. 15, 99–113
34. Warda M., Rogalski M. 2004. Zwierzęta na pastwisku jako element krajobrazu przyrodniczego. Ann. UMCS., Sect. E 59(4), 1985.1991.
35. Zarzycki J. 2011. Sposób użytkowania gruntów w przeszłości (XIX i koniec XX w.) jako czynnik kształtujący aktualny stan roślinności łąkowej w paśmie Radziejowej (Beskid Sądecki). Roczniki Bieszczadzkie 19, 33–42.
36. Zarzycki J., Korzeniak J., 2013. Łąki w polskich Karpatach – stan aktualny, zmiany i możliwości ich zachowania. Roczniki Bieszczadzkie 21, 18-34.

STRESZCZENIE

TRWAŁE UŻYTKI ZIELONE W POLSKICH KARPATACH

Łąki i pastwiska stanowią ważny element dziedzictwa kulturowego, wyróżniają się przy tym znaczącą różnorodnością gatunkową, zarówno roślin jak i zwierząt. Wielogatunkowe, ekstensywnie użytkowane łąki górskie należą na świecie do zbiorowisk o najwyższej liczbie gatunków roślin. Do najcenniejszych łąk i pastwisk należą wielogatunkowe, ekstensywnie użytkowane zbiorowiska roślinne, zajmujące zazwyczaj siedliska o niskiej produktywności. Nieopłacalne dla intensywnej gospodarki rolnej. Są to w głównej mierze zbiorowiska półnaturalne, uzależnione wprawdzie od działalności człowieka, charakteryzujące się jednak wysoką różnorodnością biologiczną. Przykładem tego typu zbiorowisk są łąki podgórskie i górskie występujące m.in. w Karpatach. Większość roślin łąkowych to gatunki rodzime, które jednak dzięki działalności człowieka znacznie się rozprzestrzeniły. Obszary górskie cechują się dużą zmiennością warunków siedliskowych, związanych w głównej mierze z wysokością nad poziomem morza a także ukształtowaniem powierzchni terenu. Wyznaczają one potencjalne możliwości występowania poszczególnych gatunków łąkowych.

Jednak o tym, które gatunki utrzymają się na danych powierzchniach rozstrzygną zabiegi stosowane przez człowieka. Najistotniejszym czynnikiem jest regularne usuwanie biomasy poprzez wypas lub koszenie. Uniemożliwia to rozwój krzewów i drzew oraz zmniejsza konkurencję ze strony innych roślin o dużej sile wzrostu, co zwiększa liczbę gatunków w runi łąkowej. Pasące się zwierzęta powodują rozwój traw niskich oraz innych drobnych roślin, odpornych na zgryzanie. Liczba gatunków znajdujących się na pastwiskach jest zazwyczaj niższa niż na łąkach kośnych. Przy kośnym użytkowaniu łąk kolosalne znaczenie ma termin pierwszego pokosu oraz ich liczba. Nawożenie powoduje zwiększenie plonu zielonej masy, co zwykle prowadzi do zubożenia składu gatunkowego i przewagi gatunków pospolitych. Jednak niektóre cenne przyrodniczo zbiorowiska łąkowe potrzebują niewielkiego nawożenia organicznego.

Niestety obecnie na trwałych użytkach zielonych coraz częściej widoczne jest koszenie runi łąkowej przez rolników wyłącznie w celu uzyskania płatności bezpośrednich. Powodem tego procederu jest m.in. fakt, że pasza uzyskiwana na tego typu użytkach nie spełnia wymagań współczesnego, intensywnego chowu zwierząt. Pasza o niskiej jakości nadaje się tylko dla zwierząt o niskich wymaganiach (konie, owce), a w chowie bydła – wyłącznie jako dodatek. Na obszarze Karpat przeważa jeszcze drobnotowarowa, ekstensywna gospodarka z niewielką liczbą zwierząt w gospodarstwie. W takim systemie produkcji rolnej dotychczasowe użytki zielone spełniają swoją funkcję. Jednak opłacalna gospodarka rolna przymusza zwiększenie skali i intensywności produkcji, a to spowoduje zanik tradycyjnych łąk.

Інна Грод, Любов Шевчик

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка,
Тернопіль, Україна
e-mail: shevchyk.lubov@i.ua

ОЦІНКА ТАКСОНОМІЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ КОЛЕКЦІЇ РЯДУ ГОРОБЦЕПОДІБНІ (Passeriformes) ФОНДІВ КАФЕДРИ БОТАНІКИ ТА ЗООЛОГІЇ ТЕРНОПІЛЬСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПЕДАГОГІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА

Анотація. У статті автори звертають увагу на основні функції зоологічних фондів навчальних закладів України, а саме на зберігання природних ресурсів регіональної фауни, науково-дослідну, освітньо-виховну та інформаційну функції.

Проаналізовано внесок видатних науковців університету (Татарінова К.А., Марісової І.В., Талпоша В.С., Орчук К.І., Майхрука М.І., теріологів Пилявського Б.Р. та Тарєєва В.М.) у формування фондів досліджуваної колекції.

Встановлено, що колекція птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) закритої експозиції фондів кафедри ботаніки та зоології налічує 287 тушок, що належать до 57 видів, 19 родин та 37 родів.

В статті містяться результати аналізу таксономічної структури колекції, проведеного на основі одномасштабної таксономічної шкали (вид – рід – родина) з залученням складової офісного пакету Microsoft Excel.

Характеристику кількісних показників здійснювали на основі результатів обчислення видового багатства та видового різноманіття колекції. Таксономічне багатство обчислювали як суму показників усіх таксономічних рангів ($57 + 19 + 37 + 1 = 114$). Видове різноманіття вивчали за чисельністю (%%) видів усіх досліджуваних родин

З метою аналізу якісної структурованості колекції визначали показник таксономічного різноманіття, обчислюючи його через інформаційний індекс Шеннона котрий для більшості родин коливається в межах H' : 1,511 – 4,339. Для семи родин, представлених одним видом, що належить до одного роду, ієрархічні схеми мінімізуються, а індекс Шеннона не перевищує 1.

Ключові слова: зоологічні фонди, науковці, таксономічна структура, таксономічне багатство, таксономічне різноманіття, видове багатство та видове різноманіття.

ВСТУП

Утримання зоологічних колекцій навчальними закладами не самоціль, а невід’ємна складова матеріальної бази кафедр, що забезпечує як зберігання чучел і тушок тварин представників регіональної фауни [1,3, 7, 17], так і визначає науково-дослідну, освітньо-виховну, інформаційну [11] та природоохоронну функції їх діяльності [8, 9, 12, 13, 15].

Надзвичайно цікавою в цьому відношенні є колекція фондів кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету, що протягом тривалого часу була зібрана у різних регіонах західної України. Тушки тварин постачали до фондів спеціально організовані експедиції та поодинокі дослідники, їх привозили і приносили студенти університету.

Найбільш активна робота по накопиченню наукових матеріалів датується серединою минулого століття. Здійснювалась вона викладачем, а згодом і завідувачем кафедри зоології Тернопільського педагогічного інституту Татаріновим К.А., співробітниками кафедри Марісовою І.В., Талпошем В.С., Орчук К.І., Майхруком М.І., теріологами Пилявським Б.Р. та Тарєєвим В.М. [19].

Мета роботи зводилась до оцінки таксономічного різноманіття колекції птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) зоологічних фондів кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчення таксономічного різноманіття, та структури колекції закритої експозиції [16] зоологічних фондів кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету, для чого опиралися на індекси, які певним чином пов'язують об'єм вибірки N з кількістю видів S [14]. Робота проводилася в рамках каталогізації матеріалів наукової колекції [3, 10]. Реалізувалася шляхом фоторафування тушок, аналізу та оцифрування змісту етикеток [18], сформованих з використанням «Визначника птахів УРСР» М. А. Воїнственського, О. Б. Кістяківського (1962) [4].

Аналіз таксономічної структури здійснювали на основі одномасштабної таксономічної шкали (вид – рід – родина) [6] з залученням складової офісного пакету Microsoft Excel.

Таксономічне багатство обчислювали як суму показників усіх таксономічних рангів.

Для оцінки видового різноманіття використовували популярний в екологічних дослідженнях індекс Шеннона (H'), який дозволяє кількісно оцінити рівномірність реєстрації різних видів кожної досліджуваної родини:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

де p_i – частка i -го виду по кількості; S – число видів [20].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Колекція птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) закритої експозиції фондів кафедри ботаніки та зоології налічує 287 тушок, що належать до 57 видів, 19 родин та 37 родів.

У процентному відношенні найбільш чисельною є родина в'юркові Fringillidae (18,5%); на другому місці – родина дроздові Turdidae (16,4%); третє місце розділили між собою родини воронів Corvidae (10,5%) та мухоловові Muscicapidae (по 10,1%). Висока частка зразків родин плискові Motacillidae (8,4%), кропив'янкові Sylviidae (7,7 %), горобцеві Passeridae (6,3%), вівсяникові Emberizidae (5,9%), синицеві Paridae (5,6%) та сорокопудові Laniidae (5,2%). Дещо менше у фондах представлена родина жайворонкові Alaudidae (1,7%). Поодинокими тушками представлені родини: вивільгові Oriolidae, повзикові Sittidae, воловоочкові Troglodytidae (по 0,7%), шпакові Sturnidae, ластівкові Hirundinidae, підкоришникові Certhiidae, золотомушкові Regulidae, тинівкові Prunellidae (по 0,3%) [5].

По одному роду з одним видом у кожному налічують родини вивільгові – вивільга звичайна *Oriolus oriolus*; шпакові – шпак звичайний *Sturnus vulgaris*; ластівкові – ластівка берегова *Riparia riparia*; підкоришникові – підкоришник звичайний *Certhia familiaris*; повзикові – повзик звичайний *Sitta europaea*; воловоочкові – волове око *Troglodytes troglodytes*; золотомушкові – золотомушка жовточуба *Regulus regulus* (рис. 1). По два види одного роду та родину горобцеві – горобець хатній *Passer domesticus*, горобець польовий *P. Montanus* (табл.1). Три види одного роду – сорокопуд-жулан *Lanius collurio*, сорокопуд чорнолобий *L. minor* та сорокопуд сибірський *L. cristatus*¹ – представляють родину сорокопудові. представляють родину вівсянкові – вівсянка звичайна *Emberiza citronella*, просянка *Em. calandra*

Подібна картина спостерігається і у родинах: плискові (плиска біла *Motacilla alba*, гірська *M. cinerea*, жовта *M. flava*) та кропив'янкові (вівчарик ковалик *Phylloscopus collybita*, весняний *Ph.trochilus*, жовтобровий *Ph.sibilatrix*).

¹ Видова назва потребує уточнення.

Рід *Parus* з родини синицеві представлений в колекції 5 видами: синиця чубата *Parus cristatus*, блакитна *P. caeruleus*, чорна *P. ater*, велика *P. major*, гаїчка болотяна *P. palustris*.

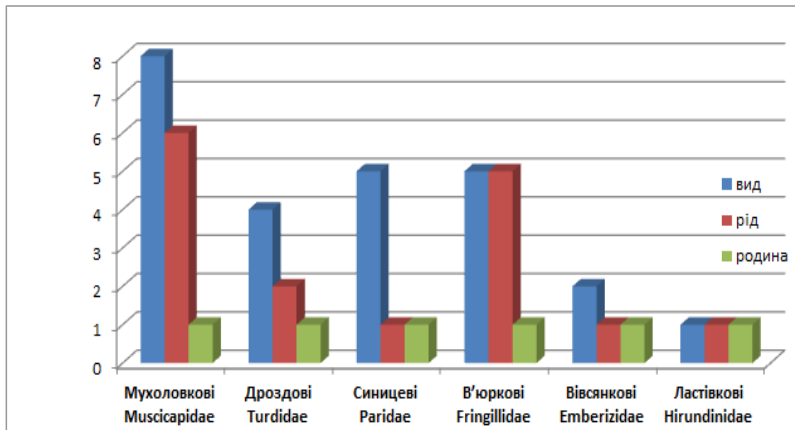
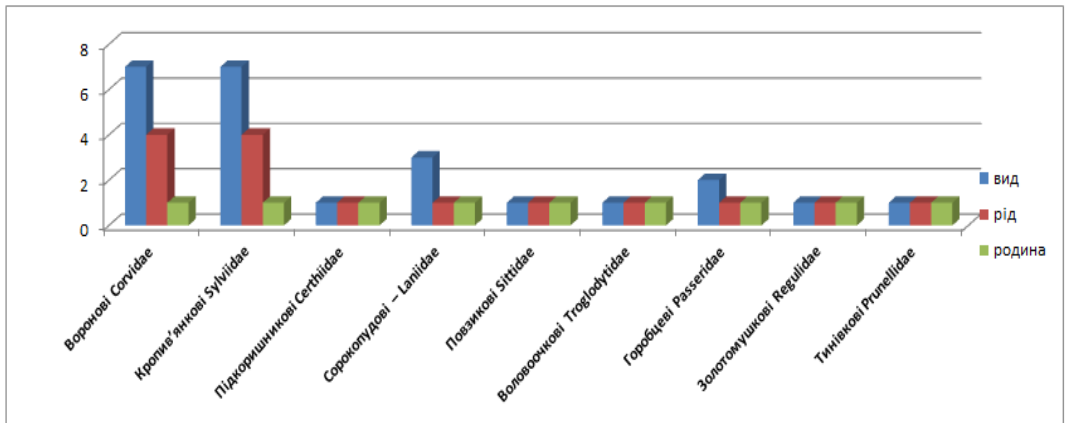
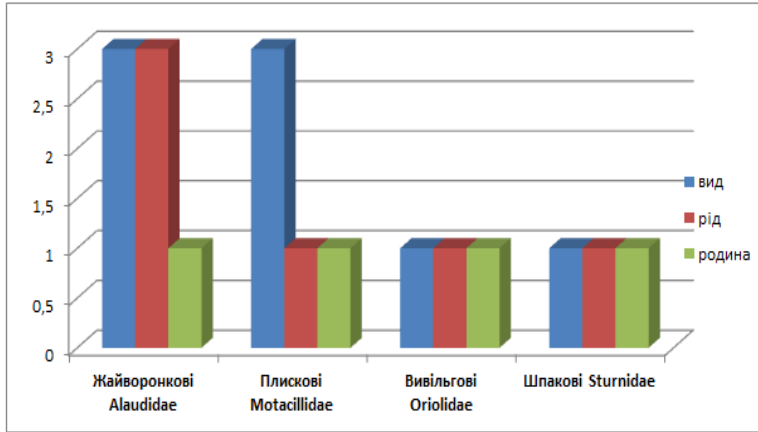


Рис.1. Таксономічна структура основних родин ряду Горобцеподібні колекції зоологічних

Fig.1. Taxonomic structure of basic families of Passeriformes order of zoological collection funds of Botany and Zoology department

Два роди налічує родина дроздові: скеляр строкатий *Monticola saxatilis*, дрізд гірський *Turdus torquatus*, дрізд чорний *T. merul*, дрізд співочий *T. Philomelos*. Родина жайворонкові налічує три роди по одному виду в кожному: жайворонок чубатий *Galerida cristata*, жайворонок польовий *Alauda arvensis*, жайворонок лісовий *Lullula arborea*.

По чотири роди налічують родини воронові: сорока *Pica pica*, галка *Corvus monedula*, грак *C. cornix*, крук *C. corax*, ворона чорна *C. corone*, сойка *Garrulus glandarius*, горихівка *Phoenicurus ochruros*; кропив'янкові з сімома видами: вівчарик-ковалик *Phylloscopus collybita*, весняний *Ph. trochilus*, жовтобровий *Ph. sibilatrix*, берестянка звичайна *Hippolais icterina*, очеретянка чагарникова *Acrocephalus palustris*, кропив'янка сіра *Sylvia communis* та садова *S. borin*.

Родина в'юркові налічує п'ять родів з одним видом у кожному: зяблик *Fringilla coelebs*, коноплянка *Acanthis cannabina*, зеленяк *Carduelis chloris*, снігур *Pyrrhula pyrrhula*, костогриз *Coccothraustes coccothraustes*. Родина мухоловкові налічує вісім видів шести родів: мухоловка строката *Ficedula hypoleuca*, мухоловка білошия *F. albicollis*, трав'янка лучна *Saxicola rubetra*, горихвістка чорна *Phoenicurus ochruros*, горихвістка звичайна *Ph. phoenicurus*, кам'янка звичайна *Oenanthe oenanthe*, вільшанка *Erithacus rubecula*, соловейко східний *Luscinia luscinia*.

В процесі опрацювання матеріалів аналізували таксономічне багатство колекції. Для чого шукали суму таксонів кожного рангу $57 + 19 + 37 + 1 = 114$.

Таблиця 1. Частка родин у структурі зоологічних фондів кафедри ботаніки та зоології
Table 1. The proportion of families in the structure of zoological collection funds of Botany and Zoology department

| РОДИНА / FAMILIA | РІД / TYPE | ВИД / KIND | Частка у фондах / Part in funds | |
|--|----------------------------------|---|---------------------------------|-----|
| | | | шт. | % % |
| Жайворонкові Alaudidae H'=1,511976(%) | <i>Galerida</i> | Посмітюха <i>Galerida cristata</i> | 2 | 0,7 |
| | <i>Alauda</i> | Веснівка <i>Alauda arvensis</i> | 2 | 0,7 |
| | <i>Lallula</i> | Жайворонок лісовий <i>Lallula arborea</i> | 1 | 0,3 |
| Плискові Motacillidae H'=0,193643(%) | <i>Motacilla</i> | Плиска біла <i>Motacilla alba</i> | 10 | 3,5 |
| | | Плиска гірська <i>Motacilla cinerea</i> | 8 | 2,8 |
| | | Плиска жовта <i>Motacilla flava</i> | 6 | 2,1 |
| Вивільгові Oriolidae H'=0,360201(%) | <i>Oriolus</i> | Вивільга звичайна <i>Oriolus oriolus</i> | 2 | 0,7 |
| Шпакові Sturnidae H'=0,52109(%) | <i>Sturnus</i> | Шпак звичайний <i>Sturnus vulgaris</i> | 1 | 0,3 |
| Воронові Corvidae H'=2,906648(%) | <i>Pica</i> | Сорока <i>Pica pica</i> | 4 | 1,4 |
| | <i>Corvus</i> | Галка <i>Corvus monedula</i> | 9 | 3,1 |
| | | Грак <i>Corvus frugilegus</i> | 7 | 2,4 |
| | | Крук <i>Corvus corax</i> | 3 | 1 |
| | | Ворона чорна <i>Corvus corone</i> | 2 | 0,7 |
| <i>Garrulus</i> | Сойка <i>Garrulus glandarius</i> | 4 | 1,4 | |

| | | | | |
|---|---------------------|---|-----|-----|
| | <i>Nucifraga</i> | Горіхівка <i>Nucifraga caryocatactes</i> | 1 | 0,3 |
| Кропив'янкові Sylviidae H'=1,735035(%) | <i>Phylloscopus</i> | Вівчарик-ковалик <i>Phylloscopus collybita</i> | 3 | 1 |
| | | Вівчарик весняний <i>Phylloscopus trochilus</i> | 1 | 0,3 |
| | | Вівчарик жовтобровий <i>Phylloscopus sibilatrix</i> | 14 | 4,9 |
| | <i>Hippolais</i> | Берестянка звичайна <i>Hippolais icterina</i> | 1 | 0,3 |
| | <i>Acrocephalus</i> | Очеретянка чагарникова <i>Acrocephalus palustris</i> | 1 | 0,3 |
| | <i>Sylvia</i> | Кропив'янка сіра <i>Sylvia communis</i> | 1 | 0,3 |
| Кропив'янка садова <i>Sylvia borin</i> | | 1 | 0,3 | |
| Мухоловкові Muscicapidae H'=3,164083(%) | <i>Ficedula</i> | Мухоловка строката <i>Ficedula hypoleuca</i> | 3 | 1 |
| | | Мухоловка білошия <i>Ficedula albicollis</i> | 1 | 0,3 |
| | <i>Saxicola</i> | Трав'янка лучна <i>Saxicola rubetra</i> | 6 | 2,1 |
| | <i>Phoenicurus</i> | Горихвістка чорна <i>Phoenicurus ochruros</i> | 3 | 1 |
| | | Горихвістка звичайна <i>Phoenicurus phoenicurus</i> | 3 | 1 |
| | <i>Oenanthe</i> | Кам'янка звичайна <i>Oenanthe oenanthe</i> | 4 | 1,4 |
| | <i>Erithacus</i> | Вільшанка <i>Erithacus rubecula</i> | 5 | 1,7 |
| | <i>Luscinia</i> | Соловейко східний <i>Luscinia luscinia</i> | 4 | 1,4 |
| Дроздові Turdidae H'=1,793393(%) | <i>Monticola</i> | Скеляр строкатий <i>Monticola saxatilis</i> | 1 | 0,3 |
| | <i>Turdus</i> | Дрізд гірський <i>Turdus torquatus</i> | 23 | 8 |
| | | Дрізд чорний <i>Turdus merula</i> | 9 | 3,1 |
| | | Дрізд співочий <i>Turdus ericetorum</i> | 14 | 4,9 |
| Синицеві Paridae H'=1,973942(%) | <i>Parus</i> | Синиця чубата <i>Parus cristatus</i> | 1 | 0,3 |
| | | Синиця блакитна <i>Parus caeruleus</i> | 1 | 0,3 |
| | | Синиця чорна <i>Parus ater</i> | 7 | 2,4 |
| | | Синиця велика <i>Parus major</i> | 4 | 1,4 |
| | | Гаїчка болотяна <i>Parus palustris</i> | 3 | 1 |

| | | | | |
|--|--------------------|---|----|------|
| В'юркові Fringillidae H'=4,339635(%) | <i>Fringilla</i> | Зяблик <i>Fringilla coelebs</i> | 47 | 16,4 |
| | <i>Acanthis</i> | Коноплянка <i>Acanthis cannabina</i> | 2 | 0,7 |
| | <i>Chloris</i> | Зеленьк <i>Chloris chloris</i> | 2 | 0,7 |
| | <i>Pyrrhula</i> | Снігур <i>Pyrrhula pyrrhula</i> | 1 | 0,3 |
| | <i>Coccothra</i> | Костогриз <i>Coccothraustes coccothraustes</i> | 1 | 0,3 |
| Вівсянкові Emberizidae H'=3,74865(%) | <i>Emberiza</i> | Вівсянка звичайна <i>Emberiza citronella</i> | 16 | 5,6 |
| | | Просянка <i>Emberiza calandra</i> | 1 | 0,3 |
| Ластівкові Hirundinidae H'=0,52109(%) | <i>Riparia</i> | Ластівка берегова <i>Riparia riparia</i> | 1 | 0,3 |
| Підкоришникові Certhiidae H'=0,52109(%) | <i>Certhia</i> | Підкоришник звичайний <i>Certhia familiaris</i> | 1 | 0,3 |
| Сорокопудові – Laniidae H'=0,747653(%) | <i>Lanius</i> | <i>Lanius cristatus</i> | 9 | 3,1 |
| | | Сорокопуд жулан <i>Lanius collurio</i> | 5 | 1,7 |
| | | Сорокопуд чорнолобий <i>Lanius minor</i> | 1 | 0,3 |
| Повзикові Sittidae H'=0,360201(%) | <i>Sitta</i> | Повзик звичайний <i>Sitta europaea</i> | 2 | 0,7 |
| Воловоочкові Troglodytidae H'=0,360201(%) | <i>Troglodytes</i> | Волове очко <i>Troglodytes troglodytes</i> | 2 | 0,7 |
| Горобцеві Passeridae H'=2,092469(%) | <i>Passer</i> | Горобець польовий <i>Passer montanus</i> | 8 | 2,8 |
| | | Горобець хатній <i>Passer domesticus</i> | 10 | 3,5 |
| Золотомушкові Regulidae H'=0,52109(%) | <i>Regulus</i> | Золотомушка жовточуба <i>Regulus regulus</i> | 1 | 0,3 |

Примітка: ■ – показник індексу Шенона коливається в межах 1,511 – 4,339; □ – відносно низьке значення показника індексу Шенона; ■ – показник індексу Шенона близький до нуля.

Показник таксономічного різноманіття (табл.1), демонструючи кількісну і якісну структурованість колекції птахів ряду Горобцеподібні, коливається в межах H': 1,511 – 4,339 для родин з достатньо високим показником таксономічного багатства кожної родини (7 - 15), зменшуючись у лінійці родин: в'юркові (4,339/11), вівсянкові (3,748/4), мухоловові (3,164/15), вороніві (2,906/12), горобцеві (2,092/4), синицеві (1,973/7), дроздові (1,793/7), кропив'янкові (1,735/12), жайворонкові (1,511/7) (рис.2). Для семи родин (таксономічне багатство яких рівне 3) один вид належить до одного роду, тобто ієрархічні схеми мінімізуються, індекс Шенона не перевищує 1.

Достатньо високий показник цього індексу для родин вівсяникові (3,748) та горобцеві (2,092) при відносно низькому значенні показника таксономічного багатства (4), рівній кількості видів (по два види в кожній родині), подібній сумарній чисельності родин (17 тушок родини вівсяникові та 18 – родини горобцеві) пояснюється різною структурою домінування видів (рис. 2).

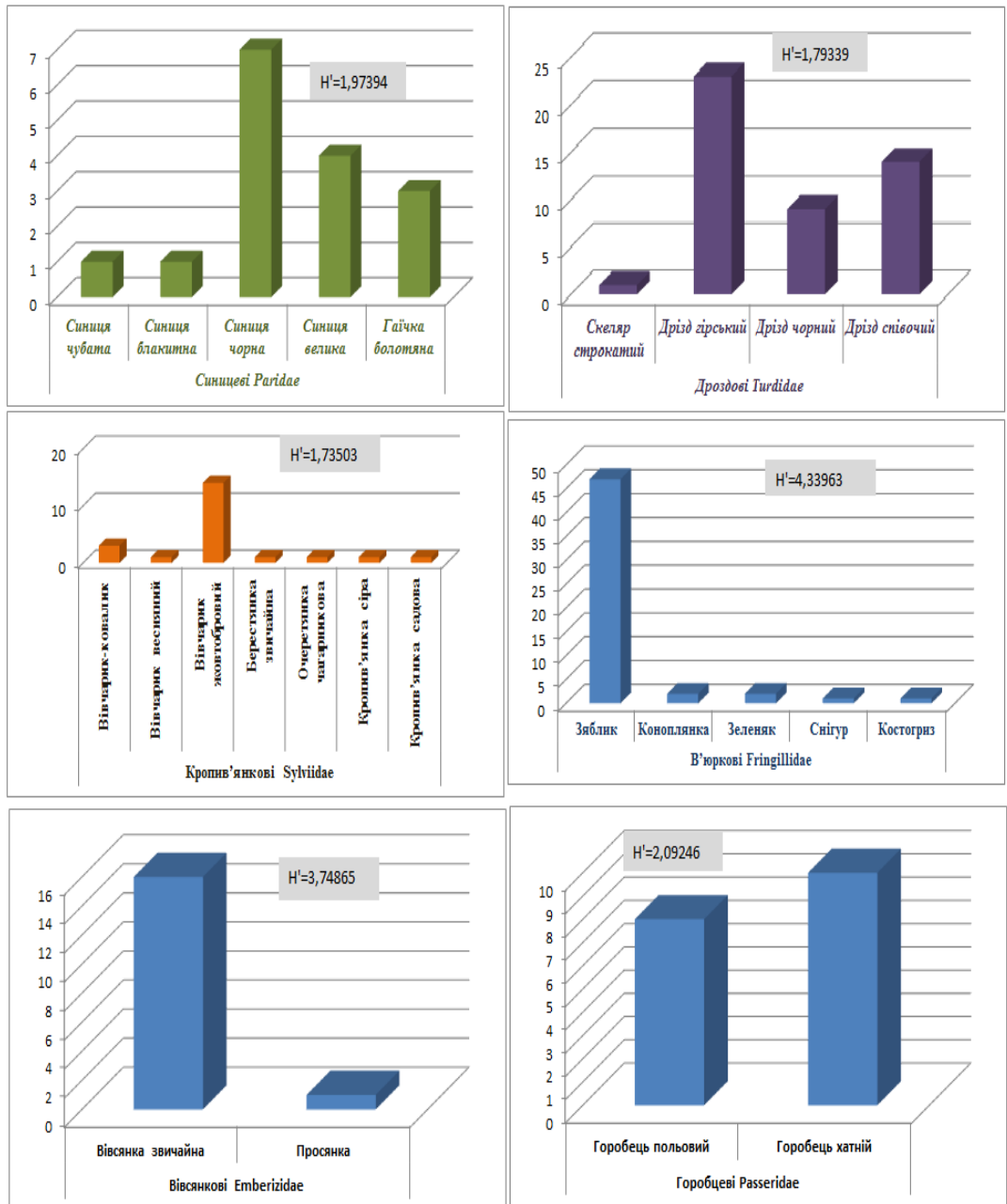


Рис.2 Таксономічне різноманіття основних родин ряду Горобцеподібні за інформаційним індексом Шеннона
Fig.2. Taxonomic diversity of basic families of Passeriformes order according to Shannon index

Найвищий показник індексу Шеннона родини в'юркові пояснюється як високим числом таксономічного багатства (11), так і абсолютним переважанням числа тушок зяблика (47 екземплярів) у колекції.

ВИСНОВКИ

1. Орнітофауна ряду (Passeriformes) закритих фондів зоологічного музею кафедри ботаніки та зоології налічує 287 тушок, що належать до 57 видів, 19 родин та 37 родів.

2. Кількісне багатство родин ряду Горобцеподібні колекції фондів кафедри ботаніки та зоології зменшується у лінійці: Fringillidae, Turdidae, Corvidae, Muscicapidae, Motacillidae, Sylviidae, Passeridae, Emberizidae, Paridae, Laniidae, Alaudidae. Поодинокими тушками представлені родини: Oriolidae, Sittidae, Troglodytidae, Sturnidae, Hirundinidae, Certhiidae, Regulidae, Prunellidae.

3. По одному роду налічують родини вивільгові, шпакові, ластівкові, підкоришникові, повзикові, воловоочкові, золотомушкові, вівсяникові, горобцеві, сорокопудові, плискові, синицеві та тинівкові. Два роди – родина дроздові, три роди – родина жайворонкові. По чотири роди представляють родини воронів та кропив'янкові. Родина в'юркові нараховує п'ять родів та шість родів – родина мухоловові.

4. За кількістю видів, представлених в орнітофауні закритих фондів кафедри, родини розмістилися в порядку зростання: вивільгові, шпакові, ластівкові, підкоришникові, повзикові, воловоочкові, золотомушкові, тинівкові, що налічують по одному виду у кожній; родини вівсяникові та горобцеві (по 2 види). Три види представляють родини сорокопудові, плискові, жайворонкові. Родину дроздові представляють чотири види. Родини синицеві та в'юркові представлені в колекції 5 видами. Найбільш чисельними в колекції є родини воронів, кропив'янкові (по 7 видів) та мухоловові (8 видів).

5. Сума таксонів зростає в лінійці родин: вівсяникові, горобцеві (2 – 1 – 2), синицеві (1 – 1 – 5), жайворонкові (1 – 3 – 3), дроздові (1 – 2 – 4), сорокопудові, плискові, кропив'янкові (3 – 1 – 3), вивільгові, шпакові, ластівкові, підкоришникові, повзикові, воловоочкові, золотомушкові (7 – 1 – 1), в'юркові (1 – 5 – 5), воронів і кропив'янкові (2 – 4 – 7), мухоловові (1 – 6 – 8), що зумовлено, в основному, великим числом таксонів нижчого рангу.

6. Показник таксономічного різноманіття, демонструючи кількісну і якісну структурованість колекції птахів ряду Горобцеподібні, коливається в межах H' : 1,511 – 4,339 для родин з достатньо високим показником таксономічного багатства кожної родини (7 - 15). Для семи родин (таксономічне багатство яких рівне 3) один вид належить до одного роду, тобто ієрархічні схеми мінімізуються, а індекс Шенона не перевищує 1.

ЛІТЕРАТУРА

1. Деркач О. М., 2003, Біорізноманіття як ключовий елемент збалансованого розвитку: регіональний аспект : матеріали Всеукр. конф. молодих вчен. Миколаїв. держ. ун-т, Півд. філія Ін-ту екології Нац. екол. центру України, Регіон. чорномор. мережа громад. орг., Миколаїв, 234 с.
2. Бокотей А.А., Дзюбенко Н.В., 2015, Концептуальні засади тематико-експозиційної структури основної експозиції Державного природознавчого музею НАН України: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, Київ: 16 – 18.
3. Верещагін В.Л., 2015, Досвід створення та впровадження спеціалізованих музейних інформаційних технологій у музеях природничої спрямованості: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, Київ: 19 – 20.
4. Воїнственський М. А., Кістяківський О. Б., 1962, Визначник птахів УРСР, Київ, 371 с.
5. Грод І. М. Шевчик Л. О., 2016, Огляд колекції птахів ряду Горобцеподібні (Passeriformes) закритої експозиції зоологічних фондів кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка: збірник матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, Дрогобич: 61-64.

6. Загороднюк И. В., Емельянов И. Г., Хоменко В. Н., 1995, Оценка таксономического разнообразия фаунистических комплексов: 145 – 148.
7. Загороднюк І. Червоненко О., 2015, Природничі колекції як основа фундаментальних досліджень природного різноманіття: матеріали IV Міжнародної наукової конференції – Київ: С. 23 – 25.
8. Мовчан Я.І, Шеляг-Сосонко Ю.Р., 2003, Збереження біорізноманіття України : Друга національна доповідь, Київ, 110 с.
9. Гардашук Т., 2003, Збереження біорозмаїття: традиції та сучасність Київ: 119 с.
10. Пісулінська Н. А., Шидловський І. В., Гнатина О. С., Затушевський А. Т., Сенік М. А., 2016, Каталог орнітологічної колекції Ф.Й.Страутмана Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка, Львів, 211 с.
11. Климишин О. С., 2015, Завдання інформаційно-аналітичної функції природничих музеїв: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, Київ: 28 – 30.
12. Марушевський, Г.Б. Мельничук В.П., Костюшин В.А.,2008, Збереження біорізноманіття і створення екомережі : Інформаційний довідник, Київ: 167-168.
13. Давидок В. П., 2003, Національна доповідь України про збереження біологічного різноманіття; Міжвідомча координаційна комісія з питань збереження біологічного та ландшафтного різноманіття, Київ, 62 с.
14. Протасов А. А.,2002, Биоразнообразие и его оценка. Концептуальная диверсикология, Київ, 105 с.
15. Страшнюк Н.М., 2000, Проблема збереження біорізноманіття на природно-заповідних територіях та з використанням біотехнологічних методів // Семінар “Охорона біорізноманіття та господарська діяльність на природних територіях, що охороняються; раціональне природокористування, екологічний моніторинг, Київ: 46–48.
16. Третяк І. П., Червоненко О. В., 2015, Засади експонування науково- природничих колекцій: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, Київ: 35 – 37.
17. Царик Й. В., Горбань І. М., Решетило О. С., Дикий І. В., Іванець О. Р., Леснік В. В., Затушевський А. Т., Назарук К. М. , Шидловський І. В., Костюк О. С., Кусьнеж О. В., Горбань О. І., Хамар І. С., 2016, Фактори загроз біорізноманіттю заповідних територій Українських Карпат, Розточчя та Західного Полісся, Львів, 120с.
18. Шевченко Л. С., 2015, Информация о фондовых зоологических коллекциях в Национальном научно-природоведческом музее НАН Украины: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, Київ: 72 – 73.
19. Шевчик Л. О, Кравець Н. Я., 2015, Огляд колекції горобцеподібних (Passeriformes) у зоологічних фондах кафедри ботаніки та зоології Тернопільського педагогічного університету: матеріали IV Міжнародної наукової конференції, Київ: 74 – 75.
20. Шеннон К., 1963, Работа по теории информации и кибернетики, Москва, 830 с.

ABSTRACT

EVALUATION OF TAXONOMIC DIVERSITY OF THE BIRD COLLECTION OF THE ORDER PASSERIFORMES OF ZOOLOGICAL FUNDS OF THE DEPARTMENT OF BOTANY AND ZOOLOGY OF TERNOPIL VOLODYMYR HNATIUK NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY

The article focuses on main functions of zoological funds of Ukrainian educational establishments, namely preserving natural resources of regional fauna, research, educational and informational functions.

The most active work on accumulating research materials dates back to the middle of the last century and was conducted by prominent scientists of the university: Tatarynov K.A., Marisova I.V., Talposh V.S., Orchuk K.I., Maikhruk M.I., mammalogists Pyliavskiy B.R. and Tareiev V.M.

The analysis of the collection taxonomic structure has been conducted on the basis of a taxonomic scale limited to species, genus and family using the MS Excel application.

The taxonomic richness has been calculated as the sum of all taxonomic ranks. For the purpose of the analysis of qualitative structuredness of the collection the Shannon index (H') has been used for estimating taxonomic diversity.

It has been determined that the collection of birds of the order Passeriformes in the closed exposition of the Department of Botany and Zoology funds contains 287 carcasses belonging to 57 species, 19 families and 37 genera.

In terms of percentage ratio the most numerous family is the family Fringillidae (18,5%); the family Turdidae (16,4%) is in the second place; the third place is shared between the family Corvidae (10,5%) and the family Muscicapidae (10,1%). The great part of specimens represent the families of Motacillidae (8,4%), Sylviidae (7,7 %), Passeridae (6,3%), Emberizidae (5,9%), Paridae (5,6%) and Laniidae (5,2%). The family Alaudidae (1,7%) is less represented in the collection. Solitary carcasses represent the families of Oriolidae, Sittidae, Troglodytidae (0,7% each), Sturnidae, Hirundinidae, Certhiidae, Regulidae, Prunellidae (0,3% each).

The families of Oriolidae, Sturnidae, Hirundinidae, Certhiidae, Sittidae, Troglodytidae, Regulidae, Emberizidae, Passeridae, Laniidae, Motacillidae, Paridae and Prunellidae include one genus each. The family Turdidae has two genera, the family Alaudidae numbers three genera. The families of Corvidae and Sylviidae number four genera each. The family Fringillidae includes five genera and the family Muscicapidae has six genera.

According to the number of species presented in the avifauna of the closed funds of the department the families have been placed in ascending order: Oriolidae, Sturnidae, Hirundinidae, Certhiidae, Sittidae, Troglodytidae, Regulidae, Prunellidae that include one species each; the families of Emberizidae and Passeridae that include two species each. Three species represent families Laniidae, Motacillidae, Alaudidae. The family Turdidae are represented in four species. The families of Paridae and Fringillidae are represented in five species in the collection. The most numerous families represented in the collection are the families of Corvidae, Sylviidae (7 species each) and Muscicapidae (8 species).

The taxonomic richness of the collection has been analyzed while studying the funds. Consequently, the sum of taxa of each rank has been sought: $57 + 19 + 37 + 1 = 114$.

The calculated taxonomic diversity index (H') for the majority of families ranges from 1,511 to 4,339. Seven families have one species each that belongs to one genus and at the same time hierarchic schemes are minimized and the Shannon index doesn't exceed 1.

Mateusz Rybak¹, Anita Pajaczek¹, Łukasz Peszek², Natalia Kochman-Kędziora², Teresa Noga¹, Jadwiga Stanek-Tarkowska¹

¹Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów,

²Katedra Agroekologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów
e-mail: anita.pajaczek@gmail.com

THE OCCURRENCE OF *FALLACIA LENZI* (HUST.) LANGE-BERT. IN SOUTH-EASTERN POLAND

Abstract. Diatoms from the genus *Fallacia* develop in different types of waters, both fresh and saline. Studies conducted between 2007–2015 in watercourses in south-eastern Poland showed the occurrence of *Fallacia lenzii* (Hust.) Lange-Bert., a species considered endangered (category E) in Poland. This diatom was recorded in many rivers and streams in the drainage areas of the San, Wisłok and Wisłoka rivers and in the Rzeszów reservoir, but always in the form of individual specimens. The taxon was most often recorded in meso- and eutrophic waters with moderate to high electrolyte content and alkaline or circumneutral pH. Studies have shown that *F. lenzii* is a widely distributed species, preferring alkaline waters, rich in calcium.

Keywords: *Fallacia lenzii*, flowing and standing waters, SE Poland

INTRODUCTION

Diatoms from the *Fallacia* genus have linear, lanceolate or elliptical valves, usually with blunt, rounded poles. Lyre-shaped canals are a characteristic feature of this genus, visible under light microscope. A large group of marine and freshwater epipellic diatoms belong to this genus [1, 2, 13].

Fallacia lenzii have linear valves with a slightly gibbous central part. It is a widespread species in flowing alkaline waters and lakes, but rarely creates large populations [1, 2]. It is included on the Polish Red List of Algae in the ‘endangered’ category (E) [14]. It also develops in many rivers and streams in south-eastern Poland, but always in the form of single cells [4, 6–12, 16].

The aim of the study was to present the occurrence of the endangered species *Fallacia lenzii* (Hust.) Lange-Bert. in south-eastern Poland, considering ecological and habitat preferences.

METHODS

Studies were conducted between 2007–2015 within the territory of the Subcarpathian Province, mainly in flowing waters (rivers and streams in the drainage areas of the Wisłok, Wisłoka, San and Biała rivers) and in the Rzeszów reservoir – Fig. 1.

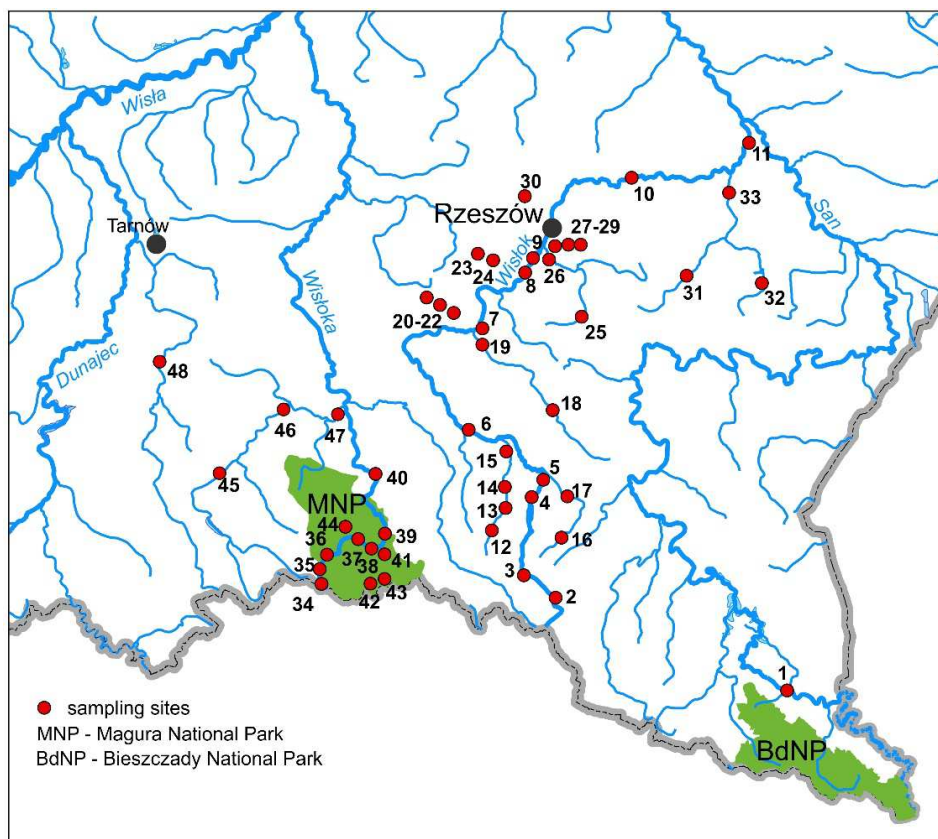


Fig. 1. Sampling site locations: 1 – San, 2-11 – Wisłok (9 – Rzeszów Reservoir), 12-15 – Morwawa, 16, 17 – Pielnica, 18, 19 – Stobnica, 20-22 – Różanka, 23, 24 – Lubcza, 25 – Ryjak, 26 – Strug, 27-29 – Matysówka, 30 – Przyrwa, 31-33 – Mlecza, 34-40 – Wisłoka, 41 – Krempna, 42 – Baranie, 43 – Zimna Woda, 44 – Rzeszówka, 45-47 Ropa, 48 – Biała.

Material for studies were sampled from stones, silt and aquatic macrophytes from spring to autumn of one year at each sampling site. Next, the collected material was prepared per typical methods used in this type of study [3]. pH and electrolytic conductivity were measured in situ. Collected samples were preserved in a 4% formalin solution. To obtain pure diatom valves, each sample was subjected to maceration in a chromic cleaning mixture and rinsed in distilled water via centrifugation (2500 RPM for 5 min.). Permanent diatom slides were encased in Pleurax synthetic resin.

Diatoms were identified using a Nikon ECLIPSE 80i light microscope, a Carl Zeiss Axio Imager A2 under 1000× magnification and a Hitachi SU8010 Scanning Electron Microscope per the key of Krammer & Lange-Bertalot [5] and Hofmann et al [2]. The number of a given species was obtained by calculating specimens in a random sample through the ocular fields of an optical microscope until a total number of 400 valves was obtained. Species with a participation above 5% in each community were found to be most numerous.

RESULTS

During the survey conducted in south-eastern Poland, single specimens of *Fallacia lenzii* (Hust.) Lange-Bert. (Fig. 2) were observed in the Wisłok River and its tributaries: the Lubcza, Morwawa, Pielnica, Stobnica, Mlecza, Przyrwa, Różnaka, Matysówka and Strug (with its tributary, the Ryjak).

Moreover, single cells were noted in the Rzeszow reservoir, the San in Sękowiec, the upper reaches of the Wisłoka River and its tributaries: the Baranie, Krempna, Rzeszówka, Zimna Woda, and Ropa, as well as the Biała stream – a tributary of the Dunajec River.

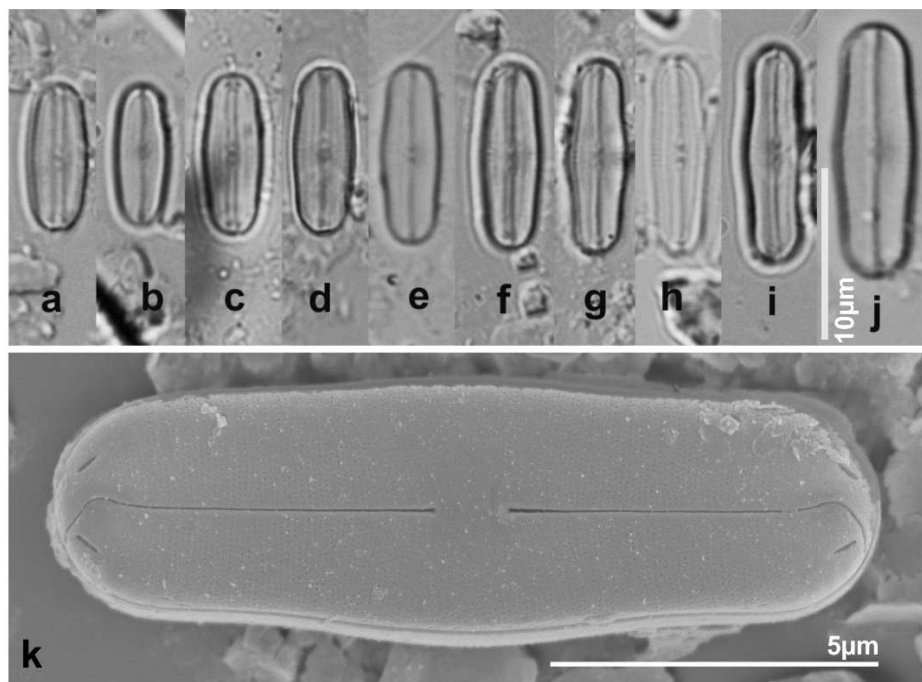


Fig. 2. *Fallacia lenzii*: a–j light microscope image, k – scanning electron microscope image (SEM).

The dimensions of *Fallacia lenzii* valves are: length 8.9–20 μm , width 3.6–5.2 μm . Striae are not visible under light microscope (LM).

Rivers and streams on which the algological research was conducted are characterized by an alkaline or approximately neutral pH, mostly in the range of 6.5 to 8.5 and with slightly increased electrolytic conductivity (between 100 and 600 $\text{mS} \times \text{cm}^{-1}$). Concentration of calcium was average to high (mainly 40–50 $\text{mg} \times \text{l}^{-1}$) at locations where it was measured, and in the Mlecza stream reached 120 $\text{mg} \times \text{l}^{-1}$. *Fallacia lenzii* developed in different types of habitats; in mud and sand, on stones and among aquatic vegetation (including mosses). It was observed more frequently in the middle and lower sections of rivers and streams in meso- or eutrophic waters. The following diatom taxa dominated studied samples: *Achnanthydium minutissimum* var. *minutissimum*, *A. pyrenaicum*, *Amphora pediculus*, *Cocconeis pediculus*, *C. placentula* var. *lineata*, *Cyclotella meneghiniana*, *Gomphonema olivaceum* var. *olivaceum*, *Melosira varians*, *Navicula lanceolata*, *N. gregaria*, *N. tripunctata*, *N. trivialis*, *Nitzschia acidoclinata*, *Nitzschia palea*, *N. dissipata* ssp. *dissipata*, *Planothidium lanceolatum*, *Rhoicosphenia abbreviata*, and *Surirella minuta*.

DISCUSSION

Fallacia lenzii is a very rare species, known from sources in the Warta Valley [17, 18]. It is classified as an endangered species (category E) on the Polish Red List of Algae [14].

This species is still little known, and according to Krammer and Lange-Bertalot [5], it develops in Central Europe in oligosaprobic lakes rich in electrolytes. Hofmann et al. [2] report that the species is widely distributed in alkaline flowing and standing waters, and always develops

as single specimens. *Fallacia lenzii* is noted often in various types of waters in south-eastern Poland, but never develops in large numbers. It is mainly found in the middle and lower reaches of rivers, most often in meso- or eutrophic waters (less commonly in oligotrophic waters), with a high calcium content [4, 6-12, 16].

Partly due to the small number of study sites in Poland at which it was observed, *Fallacia lenzii* has the status of 'endangered' on the Polish Red List of Algae [14]. Research conducted in recent years, mainly within the Subcarpathian province but also in the Lesser Poland province, indicates that the species develops in many rivers and streams, but always as single cells [4, 6-12, 16]. It never forms numerous populations. Its small valve dimensions may explain why it is often overlooked or confused with small cells of *Fallacia subhamulata* (Grunow) D.G. Mann. Moreover, the environmental conditions in which it grows indicate that this species prefers water with a high calcium content. Many rivers and creeks in south-eastern Poland flow through an area where the bedrock consists of layers of sedimentary rock called Carpathian flysch [15], and therefore the waters are usually alkaline and rich in calcium. These favourable conditions for development may explain why *F. lenzii* is observed more often here than in other areas of Poland.

REFERENCES

1. Bąk M., Witkowski A., Żelazna-Wieczorek J., Wojtal A.Z., Szczepocka E., Szulc A., Szulc B., 2012, Klucz do oznaczania okrzemek w fitobentosie na potrzeby oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce, Biblioteka Monitoringu Środowiska, Główny Inspektorat Ochrony Środowiska, Warszawa, ss. 452
2. Hofmann G., Werum M., Lange-Bertalot H., 2011, Diatomeen im Süßwasser – Benthos vom Mitteleuropa. Bestimmungsflora Kiesialgen für die ökologische Praxis. über 700 der häufigsten Arten und ihre Ökologie, [W:] H. Lange-Bertalot (red.), A.R.G. Gantner Verlag K.G, ss. 908
3. Kawecka B., 2012, Diatom diversity in streams of the Tatra National Park (Poland) as indicator of environmental conditions, Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, ss. 213
4. Kocielska-Streb M., Pajączek A., Peszek Ł., Kochman N., Noga T., Stanek-Tarkowska J., 2014, Okrzemki (Bacillariophyceae) Zalewu Rzeszowskiego, Rocznik Przemyski 50(4): 21–40
5. Krammer K., Lange-Bertalot H., 1986, Bacillariophyceae. 1. Naviculaceae. [W:] H. Ettl, J. Gerloff, H. Heyning, D. Mollenhauer (red.), Süßwasserflora von Mitteleuropa 2(1), G. Fischer Verlag, Stuttgart – New York, ss. 876
6. Noga T., 2012, Diversity of diatom communities in the Wisłok River (SE Poland), [W:] K. Wołowski, I. Kaczmarek, J.M. Ehrman & A.Z. Wojtal, (red.), Phycological Reports: Current advances in algal taxonomy and its applications: phylogenetic, ecological and applied perspective. Institute of Botany Polish Academy of Sciences, Krakow, s. 109–128
7. Noga T., Stanek-Tarkowska J., Kocielska-Streb M., Ligęzka R., Kloc U., Peszek Ł., 2012, Endangered and rare species of diatoms in running and standing waters on the territory of Rzeszów and the surrounding area [W:] J. Kostecka, J. Kaniuczak (red.), Practical Applications of Environmental Research. Nauka dla Gospodarki. nr 3/2012, s. 331–340
8. Noga T., Stanek-Tarkowska J., Peszek Ł., Pajączek A., Kowalska S., 2013, Use of diatoms to assess water quality of anthropogenically modified Matysówka stream, Journal of Ecological Engineering 14(2): 1–11
9. Noga T., Kochman N., Peszek Ł., Stanek-Tarkowska J., Pajączek A., 2014a, Diatoms (Bacillariophyceae) in rivers and streams and on cultivated soils of the Podkarpacie Region in the years 2007–2011, Journal of Ecological Engineering 15(1): 6–25

10. Noga T., Stanek-Tarkowska, Pajęczek A., Kochman N., Peszek Ł., 2014b, Ecological assessment of the San River water quality on the area of the San Valley Landscape Park, *Journal of Ecological Engineering* 15(4): 12–22
11. Noga T., Stanek-Tarkowska J., Pajęczek A., Peszek Ł., Kochman-Kędziora N., Irlík E., 2015, Wykorzystanie okrzemek (Bacillariophyta) do oceny jakości wód rzeki Białej Tarnowskiej, *Inżynieria Ekologiczna* 42: 17–27
12. Pajęczek A., Musiałek M., Pelczar J., Noga T., 2012, Diversity of diatoms in the Mleczka River, Morwawa River and Różanka Stream (tributaries of the Wisłok River, SE Poland), with particular reference to threatened species, [W:] K. Wołowski, I. Kaczmarska, J. M. Ehrman, A. Z. Wojtal (red.), *Phycological Reports: Current advances in algal taxonomy and its applications: phylogenetic, ecological and applied perspective*, Institute of Botany Polish Academy of Sciences, Krakow s. 129–152
13. Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G., 1990, *The diatoms. Biology & morphology of the genera*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, ss. 747
14. Siemińska J., Bąk M., Dziedzic J., Gąbka M., Gregorowicz P., Mrozińska T., Pełechaty M., Owsiany P.M., Pliński M. & Witkowski A., 2006, Red list of the algae in Poland. [W:] Red list of plants and fungi in Poland, Z. Mirek, K. Zarzycki, W. Wojewoda & Z. Szelaąg (red.), W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, s. 37–52
15. Sieradzki S., 2002, Geologia doliny Sanu. In: F. Oberc (ed.): *San, rzeka ziemi sanockiej*, *Zeszyty Archiwum Ziemi Sanockiej* 2: 10–12
16. Tambor A., Noga T., 2011, Różnorodność flory okrzemek w rzece Lubcza i potoku Lubienia (Podgórze Rzeszowskie, Polska SE), *Rocznik Przemyski* 47(3): 105–118
17. Żelazna-Wieczorek J., 2011, Diatom flora in springs of Łódź Hills (Central Poland). Biodiversity, taxonomy and temporal changes of epipsammic diatom assemblages in springs affected by human impact, *Diatom Monographs* 13. A.R.G. Gantner Verlag K.G., ss. 419
18. Żelazna-Wieczorek J., Mamińska M., 2006, Algoflora and vascular flora of a limestone spring in the Warta River Valley, *Acta Soc. Bot. Pol.* 75(2): 131–143

STRESZCZENIE

WYSTĘPOWANIE *FALLACIA LENZII* (HUST.) LANGE-BERT. W POŁUDNIOWO-WSCHODNIEJ POLSCE

Rodzaj *Fallacia* charakteryzuje się linearnymi, lancetowatymi bądź eliptycznymi okrywami, zazwyczaj z wyraźnie zaokrąglonymi biegunami. Cechą charakterystyczną rodzaju są widoczne w mikroskopie świetlnym na okrywach lirowatego kształtu kanały po obu stronach rafy. Do rodzaju *Fallacia* należy duża grupa epipelicznych morskich i słodkowodnych okrzemek. Badany gatunek – *Fallacia lenzii* (Hust.) Lange-Bert. posiada linearne okrywy z prawie równoległymi lub w środku lekko wypukłymi brzegami i często słabo wyciągniętymi końcami. Okrzemka ta jest szeroko rozprzestrzeniona w alkalicznych wodach płynących i jeziorach, zazwyczaj jednak rozwija się w postaci pojedynczych okazów. Gatunek został umieszczony w Polskiej Czerwonej Liście Głonów w kategorii E – wymierające. Do niedawna znany był z niewielkiej liczby stanowisk z centralnej Polski (m.in. ze źródeł Warty). Od kilku lat *Fallacia lenzii* jest oznaczana w wielu rzekach i potokach na terenie południowo-wschodniej Polski. Badania były prowadzone w latach 2007–2015 na obszarze województwa podkarpackiego, najczęściej w wodach płynących, rzadziej w stojących (w Sanie, Wisłoku i Wisłoce oraz wielu ich dopływach, a także w rzece Białej oraz w Zalewie Rzeszowskim). *Fallacia lenzii* rozwijała się w różnych typach siedlisk: na mule i na piasku, na kamieniach oraz wśród roślin wodnych (najczęściej mchów). Nigdy jednak

nie była obserwowana licznie, zawsze rozwija się w postaci pojedynczych komórek. Na stanowiskach, gdzie była oznaczana, w zbiorowisku okrzemek najliczniej rozwijały się: *Achnanthydium minutissimum* var. *minutissimum*, *A. pyrenaicum*, *Amphora pediculus*, *Cocconeis pediculus*, *C. placentula* var. *lineata*, *Cyclotella meneghiniana*, *Gomphonema olivaceum* var. *olivaceum*, *Melosira varians*, *Navicula lanceolata*, *N. gregaria*, *N. tripunctata*, *N. trivialis*, *Nitzschia acidoclinata*, *Nitzschia palea*, *N. dissipata* ssp. *dissipata*, *Planothidium lanceolatum*, *Rhoicosphenia abbreviata* oraz *Surirella minuta*. Ta niewielka okrzemka (długość od 8.9 do 20 μm , szerokość od 3.6 do 5.2 μm ; prążki niewidoczne w mikroskopie świetlnym) może być mylona z małymi komórkami *Fallacia subhamulata* lub nawet pomijana podczas oznaczania, ze względu na małe rozmiary okryw i występowanie niejednokrotnie w postaci pojedynczych komórek w materiale. Na większości badanych stanowisk rozwijała się w wodach o odczynie zasadowym lub zbliżonym do obojętnego, ze średnią lub podwyższoną zawartością elektrolitów oraz średnią lub wysoką zawartością wapnia (w rzece Mlecza nawet do 120 $\text{mg}\times\text{l}^{-1}$). Znacznie częściej występowała w środkowych i dolnych odcinkach cieków, w warunkach mezo- i eutroficznych; w odcinkach górnych, oligotroficznych znajdowana była tylko sporadycznie. Przeprowadzone badania nie wskazują, iż *Fallacia lenzii* na terenie południowo-wschodniej Polski jest gatunkiem wymierającym. Prawdopodobnie gatunek na badanym terenie znajduje sprzyjające warunki do rozwoju, dlatego jest często oznaczany w różnych typach wód. Nie tworzy jednak masowych populacji, lecz zawsze rozwija się pojedynczo.

Iryna Sukhodolska

Rivne State Humanitarian University

e-mail: irchukmail@gmail.com

THE ROLE OF *TYPHA ANGUSTIFOLIA L.* IN THE CHANGE OF AMMONIUM CONTENT IN THE RIVERS WITH DIFFERENT ANTHROPOGENIC PRESSURE LEVELS

Abstract. The article analyzes the role of higher aquatic vegetation (*Typha angustifolia L.*) in the ecological state formation of river ecosystems. It was determined that the water plants have several enzyme systems converting nitrogen-containing compounds, especially ammonium binding, which are activated in terms of water pollution. Change in the ammonium content ions in the water depending on the level of human activity is found. It was established that the presence of *Typha angustifolia L.* in the rivers of studied areas increases the efficiency of ammonium utilization. It is shown that the activity of nitrogen metabolism enzymes in higher water plants is closely related to the of NH_4^+ content in water: in terms the natural level of NH_4^+ , its binding is sequentially performed by activation ammonia binding enzymes in plants, and case of the increased content, it is mainly performed due to the NADP-glutamatedehydrogenase. In particular, the high activity of the enzyme, which rapidly assimilated ammonium in September, its content in river water with different levels of anthropogenic pressure decreased significantly (2-4 times).

Keywords: hydrochemical parameters, *Typha angustifolia L.*, ammonium, glutamate-dehydrogenase, glutamine synthetase, anthropogenic pressure.

INTRODUCTION

In aquatic ecosystems, biogeochemical migration of elements is carried out with the direct participation of higher aquatic plants that take up large areas of shallow water, producing greater biomass and are a powerful natural biofilter. Concentrating on water and bottom sediments of various elements, they deposited them in the roots and rhizomes and removed from hydro biotic turnover for a long time. The ability of aquatic plants to accumulate material depends on the coefficient determined for bioaccumulation and ecological features of species, adaptive capacity, chemical structure, the of role compounds in the plants metabolism and the anthropogenic impact intensity [6, 17, 18].

In terms of long-term exposure to chemical environmental factors, higher aquatic plants more adequately reflect the ecological status of certain areas of the reservoir. In particular, large macrophytes are able to remove significant quantities of physiologically active substances - phenols, heavy metals, pesticides and nutrients from the water reducing the degree of water bodies eutrophication [9, 14, 20]. Most of these elements remain in the dead remains of plants, particularly in the leaves, stems and inflorescences [19, 21], which could adversely affect water quality, causing deterioration in gas mode, increased ammonia content, and substances accumulated earlier may again fall into the water. However, it was established [17, 18] that with a decrease in water temperature significantly slows down the degradation process of macrophytes. It means that higher aquatic plants are not significant polluters with indigenous substances in the autumn-winter period [17].

Typha angustifolia L. is one of the most common representatives in higher aquatic vegetation, which shows substantial adaptive capacity in terms of integrated water pollution. Having a well-developed root system, it absorbs nitrogen compounds directly from the soil, so the high ammonium content ions is usually found in its bushes [5, 6, 24]. The ability for inorganic nitrogen utilization in *Typha angustifolia L.* is about 28% and is determined by the pH in the water environment, dissolved oxygen, water temperature, anthropogenic influence, etc. [13, 23].

Thickets of higher aquatic vegetation dramatically alter the chemical properties of the water environment, accelerate the nitrification phase, reduces the ammonia nitrogen content, etc. [13, 14,

20]. This ability is provided ammonia binding properties of plants. The following is the most effective among the binding of ammonia [19]:

a) glutamatdehydrogenase reaction: $2\text{-oxoglutarate} + \text{NH}_4^+ + \text{NAD(P)H} \rightarrow \text{glutamate} + \text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O}$

b) glutamine synthetase reaction: $\text{NH}_4^+ + \text{glutamate} + \text{ATP} \rightarrow \text{glutamine} + \text{ADP} + \text{P}_n$

The purpose of the study was to clarify the role of *Typha angustifolia* L. to change the ammonia content in rivers with different levels of anthropogenic load.

MATERIALS AND METHODS

During the study, 4 types of areas with different levels of anthropogenic load were relatively isolated in Rivne region: recreational, rural, urban and technogenically transformed territory. Zarichnensky district was classified as the recreational area because an important object of Rivne natural reserve fund - Regional Landscape Park "Pripyat-Stokhid" is located there. One of the plowed southern districts, Dubno, was selected as rural area. The urban area included the Rivne city, and technogenically transformed territory included Zdolbuniv district, where the largest enterprises of the Rivne region ("Ukrtsemremont" LLC and JSC "Zdolbuniv Mechanical Plant") are concentrated.

48 water samples and 24 samples of *Typha angustifolia* L. were selected during June and September 2013 in various small rivers of Rivne according to the level of anthropogenic load for the area.

The ammonium content was determined by photometric method for qualitative reaction with Nessler reagent at a wavelength of 420 nm. pH of the water was determined with ion meters Ev-74, the oxygen content in the water was determined using oxygen meter АЖА-101М. Glutamatdehydrogenase activity (КФ 1.4.1.2) was determined by spectrophotometric method for speed oxidation of NADH at 340 nm [16]. The glutamine synthetase activity (КФ 6.3.1.2) was studied during synthetase reaction [7].

RESULTS AND DISCUSSION

Hydrochemical indicators. Ammonium plays an important role in the functioning of aquatic ecosystems. Its content in water is determined to some extent by the pH and water temperature [3, 22].

In June, the exceeding for the MPCfishery norm of ammonium content in the pond of recreational area amounted to 3.6 times, urban - 4.8 times, rural - 2.4 times, technogenically transformed - 1.6 times. As for September, NH_4^+ content is significantly reduced comparing to June. Thus, exceeding the MPCfishery norm of the ponds at the recreational area amounted to 1.2 times in September, for waters at urban and rural areas it was 1.3. NH_4^+ concentration in the ponds at technogenically-transformed territory was within normal limits for MPCfishery (Table. 1).

Excess content of nitrogen substances leads to lower oxygen levels and deterioration of biological processes in reservoirs. Dissolved oxygen characterizes the productive-destructive processes in water balance, the degree of groundwater contamination of and natural purification. The content of dissolved oxygen in the pond at the recreational area was minimal in June (3.14 mg/dm³ at 15,50°C) and maximum was in September (4.61 mg/dm³ at 16,33°C) compared with all the studied areas. In the pond at urban, rural and technogenically transformed areas, oxygen content increased by 1,37, 1.28 and 1.25 times in September compared to June.

Typically, the higher water vegetation overgrowth significantly affects the oxygen regime (sometimes water aeration of by photosynthesis prevails over atmospheric). However, the oxygen content in dense thickets of *Typha angustifolia* L. is very low. The submerged part of plants uses oxygen for respiration process, and oxygen that is formed during photosynthesis by air-water plants is released into the atmosphere, which reduces the reaeration ability of these groups [17]. In addition, the dissolved oxygen can be spent on the oxidation of excess contaminants that come from sewage, which reinforces the lack of oxygen. Lowering the pH in the water environment is closely related with the

oxygen spent for the oxidation. The pH value determines the development and activity of aquatic plants, resistance of different forms of elements migration and alters the pollutants toxicity [21].

pH in June and September at the recreational area were 5.18 and 5.19. In urban areas, the index varied from 5.90 to 4.89. In the rural area, pH in June amounted to 5.89 and 5.18 in September. In the area technogenically transformed area, pH ranged from 6.04 in August to 4.96 in September.

Table 1. Hydrochemical parameters of water samples from small rivers with different levels of anthropogenic pressure located in Rivne region ($M \pm m$; $n = 5-6$)

| Territory | Hydrochemical indicators | | | |
|---------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------|---------------|
| | NH_4^+ , mg/dm ³ | O_2 , mgO/dm ³ | pH, mol/l | t (water). °C |
| June, 31 | | | | |
| Recreational | 1,814±0,017 | 3,14±0,01 | 5,19±0,03 | 15,50±0,11 |
| Urban | 2,397±0,019 | 3,23±0,01 | 5,90±0,05 | 16,75±0,05 |
| Rural | 1,223±0,018 | 3,20±0,01 | 5,98±0,05 | 16,17±0,05 |
| Technogenic | 0,823±0,012 | 3,26±0,01 | 6,04±0,06 | 15,33±0,10 |
| September, 5 | | | | |
| Recreational | 0,597±0,004 | 4,61±0,00 | 5,18±0,05 | 16,33±0,10 |
| Urban | 0,649±0,013 | 4,44±0,00 | 4,89±0,02 | 16,50±0,11 |
| Rural | 0,626±0,005 | 4,09±0,00 | 5,18±0,05 | 16,67±0,10 |
| Technogenic | 0,423±0,012 | 4,06±0,00 | 4,96±0,02 | 16,00±0,00 |

Glutamatdehydrogenase activity. One of the key enzymes of nitrogen assimilation is considered glutamatdehydrogenase. HDH in plant cells is present in many molecular forms, which quantity and relative content differs in different organs and may change in the development of plants and at environmental conditions [1,4]. Glutamatdehydrogenase catalyzes the interconversion of α -ketoglutarate and glutamate, in which both inorganic nitrogen is mutually transformed in ammonium and organic α -amino nitrogen. NADH or NADPH may play a role of reductant [4]. NADPH and NADH are involved in energy provision for nitrates reduction [8, 10]. Next step is a redistribution of glutamic acid transaminase nitrogen, which is included into other amino acids [11].

It is known that the glutamatdehydrogenase activity is determined by the type of metabolism in specific organism, organ or tissue, in physiological stage of development and state of metabolic reactions within a specified time [10, 12].

Fig. 1 shows the average values of NADH-glutamatdehydrogenase (NADH-HDH) and NADPH-glutamatdehydrogenase (NADPH-HDH) activity in *Tupha angustifolia L.*

The activity of NADH-HDH in *Tupha angustifolia L.* for the reservoirs at the recreation area during June and September was almost the same and amounted to $0.21 \cdot 10^{-3}$ and $0.22 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADH/mg of protein} \cdot \text{min}$. The activity of NADH-HDH in *Tupha angustifolia L.* for the reservoirs at urban area in June was $0.19 \cdot 10^{-3}$, and increased to $0.55 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADH/mg of protein} \cdot \text{min}$. In the reservoirs at rural area, the NADH-HDH activity was $0.28 \cdot 10^{-3}$ in June, $0.66 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADH/mg of protein} \cdot \text{min}$. In September. The activity of NADH-HDH in *Tupha angustifolia L.* in the reservoir at technogenically transformed area was quite high for two months studied compared to other areas. Thus, the activity of NADH-HDH in June was $0.95 \cdot 10^{-3}$, $1.23 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADH/mg of protein} \cdot \text{min}$ in September.

In the reservoir at the recreational area, the activity of NADPH-HDH in June and September was $2.10 \cdot 10^{-3}$ and $2.14 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADPH/mg of protein} \cdot \text{min}$. In the reservoirs at urban areas, this index was $1.81 \cdot 10^{-3}$ in June and $1.97 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADPH/mg of protein} \cdot \text{min}$ in September. Apparently, the enzyme activity of NADPH-HDH for *Tupha angustifolia L.* in the reservoir at the rural area in June and September differs insignificantly and not is $3.05 \cdot 10^{-3}$ and $3.13 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADPH/mg of protein} \cdot \text{min}$. The exception is *Tupha angustifolia L.* at the technogenically transformed area in the reservoir, which activity of NADPH-HDH varies from $1.87 \cdot 10^{-3}$ in June to $2.93 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{mol NADPH/mg of protein} \cdot \text{min}$. in September.

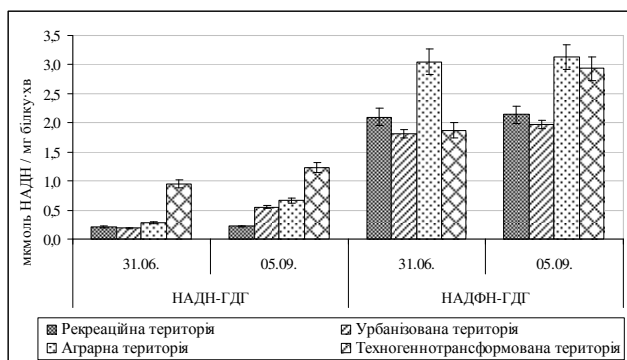


Fig 1. Activity of NADH and NADPH dependent glutamate dehydrogenases in *Typha angustifolia* L. ($M \pm m$, $n = 3$)

The most significant increase in the activity of NADPH-HDH was observed in the reservoir of rural area.

Glutamine synthetase activity. Glutamine synthetase catalyzes the key assimilation reaction of ammonia, and the reaction product - glutamine donor amide or amine groups are involved in the synthesis of all major nitrogen-containing cell metabolites (adenosine monophosphate (AMP) citidinetriphosphate (CTF), para-aminobenzoic acid, NAD, tryptophan, histidine, asparagine, etc.) [7, 10].

In studying the activity of glutamine synthetase (GS) in *Typha angustifolia* L., both inhibition and activation of enzymatic reactions depending on the study period was observed (Fig. 2).

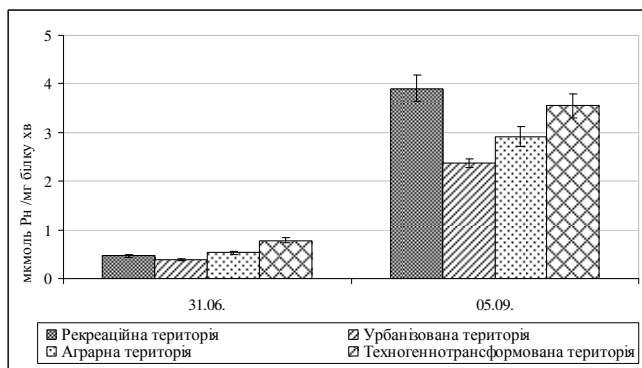


Fig. 2. Glutamine synthetase activity in *Typha angustifolia* L. ($M \pm m$, $n = 3$)

In water bodies of all areas of studied activity of GS in *Typha angustifolia* L. increased from June to September. Thus, the GS activity for reservoirs at recreation area ranged from 0.464 to 3.91 $\mu\text{mol Rn/mg}$ of protein·min., urban - from 0.388 to 2.370 $\mu\text{mol Rn/mg}$ of protein·min., rural - from 0.531 to 2.920 $\mu\text{mol Rn/mg}$ of protein·min, and technogenically transformed - from 0.786 to 3.550 $\mu\text{mol Rn/mg}$ of protein·min. GS enzyme has high affinity for ammonium [8, 9, 25], so its significant concentrations observed in June, quickly losses its functional activity.

CONCLUSIONS

Regulation of enzyme activity in higher water plants depends on many factors. The most important ones include water, gas, temperature and light regimes. In cell factors limiting the work of enzymes is the availability of substrate, intermediate donors, acceptors, activators, cofactors, inhibitors, because the rate of enzymes work in most cases is far from its peak.

Key enzymes of nitrogen metabolism in *Typha angustifolia* L. is closely related to the NH_4^+ content in water. Thus, its binding is performed by sequential activating of ammonia binding enzymes in plants at the natural rate of NH_4^+ , and mainly due to the NADP-glutamatedehydrogenase at its the high content. In particular, at the high activity of the enzyme, which rapidly assimilated ammonium in September, its content in river water with different levels of anthropogenic load decreasing 2 to 4 times.

REFERENCES

1. Барінова С.С., Клоченко П.Д., Белоус Е.П., 2015. Водоросли как индикаторы экологического состояния водных объектов: методы и перспективы. Гидробиологический журнал, 51, 4, 3–23.
2. Большакова М. О., Грубінко В.В., 1996. Поглинання аміаку вищими водними рослинами та його екологічне значення. Екологія, охорона природи, екологічна освіта і виховання, 47–59.
3. Бочаров В.Л., 2004. Экологическая гидрохимия. Русско-английский словарь справочник основных терминов и понятий, 220.
4. Грубінко В. В., Боднар О. І., Василенко О. В., Луців А. І., Вінярська Г. Б., 2014. Функціонування глутаматдегідрогеназного шляху зв'язування амонію у прісноводних водоростей, Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія, 3(60), 31–36.
5. Дубина Д.В. 2006. Вища водна рослинність, 412 с.
6. Дубына Д., Гейны С., Гроудова З., 1993. Макрофиты – индикаторы изменений природной среды, 434.
7. Евстигнеева З.Г., Громько Е.А., Асеева К.Б., 1980. Определение активности глутаминсинтетазы. Биохимические методы, 84–86.
8. Измайлов С.Ф., 1986. Азотный обмен в растениях. 319.
9. Капитонова О.А., Платунова Г.Р., Капитонов В.И., 2012. Рогозы Вятско-Камского края: Монография, 190.
10. Кретович В.Л., 1987. Усвоение и метаболизм азота в растениях, 486.
11. Мещлер Д., 1990. Биохимия. В 3-х т. 2, 608.
12. Незбрицька І.М., Курейшевич А.В., Василенко О.В., 2015. Вплив температурних умов на ростові процеси та активність глутаматдегідрогенази у деяких видів Chlorophyta і Cyanoprokaryota, 51, 5, 112–120.
13. Ратушняк А.А., Абрамова К.И., Муравьева А.С., Иванов Д.В., 2008. К вопросу о некоторых адаптационных физиолого-биохимических и анатомо-морфологических перестройках *Typha angustifolia* L. в условиях нагрузки по азоту. Вестн. Нижегород. ун-та, 3, 98–104.
14. Ратушняк А.А., 2002. Оценка роли сообществ макрофитов в формировании качества воды мелководий Куйбышевского водохранилища. Экологическая химия, 2, 133–139.
15. Романенко В.Д., 2006. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод, 408.
16. Софьин А.В., Шатилов В.Р., Кретович В.Л., 1984. Глутаматдегідрогеназы одноклеточной зеленой водоросли *Ankistrodesmus braunii*. Кинетические свойства. Биохимия, 2, 334–343.
17. Федорчук І., Мусієнко М., 2006. Вища водна рослинність та її роль у формуванні екологічного стану річкових систем природоохоронних територій. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка, 10, 42–45.
18. Цаплина Е.Н., 1994. Влияние разложения погруженных макрофитов при низких температурах на содержание органического вещества в воде. Гидробиол. журн., 5, 100–104.
19. Davis S.M., 1991. Growth, decomposition, and nutrient retention of *Cladium jamaicense* Crantz and *Typha domingensis* Pers. in the Florida Everglades. Aquat. Bot., 40, 203–224.
20. Ellenberg H., 1973. Chemical data and aquatic vascular plants as indicators for pollution in the Moosach river system near Munich. Arch. Hydrobiol., 72, 533–549.

21. Fedorchuk I., 2003. Ecomonitoring of the main river systems of the National Park Podilski Tovtry. Sixth international symposium & exhibition on environmental contamination in Central and Eastern Europe and the Commonwealth of independent states, 102.
22. Galloway J., Dentener F., Capone D., 2004. Nitrogen cycles: past, present and future. *Biogeochemistry*, 70, 2, 153–226.
23. Grace J.B., Wetzel R.G., 1981. Phenotypic and genotypic components of growth and reproduction in *Typha latifolia*: Experimental studies in marshes of differing successional maturity. *Ecology*, 62(3), 699–801.
24. Grase J.B., 1988. The effects of nutrients addition of mixtures of *Typha latifolia* L. and *Typha domingensis* Pers. Along a water depth gradient. *Aquatic Botany*, 31.
25. Gryuk I., Grubinko V., Brynzia I., Sukhodolska I., 2014. The Role of Plants in Supporting The Level of Nitrogen in Freshwater Ecosystems. 2nd International Conference on Environmental Science and Technology, 303–304.

АНОТАЦІЯ

РОЛЬ *TYPHA ANGUSTIFOLIA* L. У ЗМІНІ ВМІСТУ АМОНІЮ У РІЧКАХ З РІЗНИМ РІВНЕМ АНТРОПОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Природні річкові води є динамічною системою, що містить у своєму складі складний комплекс компонентів, включно значну кількість іонів амонію. Вміст амонію у гідроекосистемах визначається дією взаємозалежних чинників біотичної та абіотичної природи. Метою нашого дослідження було проаналізувати вміст амонію у річках та визначити фактори, які впливають на його зміни. Об'єктом дослідження була вода з річок Рівненщини, територію якої ми умовно поділили за характером антропогенного навантаження на чотири частини – рекреаційна, урбанізована, аграрна та техногеннотрансформована.

Проаналізовано 48 проб води та 24 зразки *Typha angustifolia* L. відібраних впродовж червня та вересня 2013 р. з різних створів малих річок Рівненщини відповідно до рівня антропогенного навантаження території. Вміст амонію визначали фотометричним методом за якісною реакцією з реактивом Несслера при довжині хвилі 420 нм. рН води визначали за допомогою іонміра ЭВ-74, вміст кисню у воді – за допомогою киснеміра АЖА-101М. Активність глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2) встановлювали спектрофотометричним методом за швидкістю окиснення НАДН при 340 нм. Активність глутамінсинтетази (КФ 6.3.1.2) досліджували в синтетазній реакції.

Виявлено перевищення норми ГДКрибгосп. щодо вмісту амонію у водоймах всіх досліджуваних територій. Зокрема, перевищення норми ГДКрибгосп. в червні та вересні у річці рекреаційної території складало 3,6 та 1,2 рази, у річці урбанізованої – 4,8 та 1,3 рази, у річці аграрної – 2,4 та 1,3 рази. У річці техногеннотрансформованої території – 1,6 рази у червні та без перевищень у вересні. Показано, що вищі водянні рослини виконують численні функції у функціонуванні водних екосистем. Зокрема, великі макрофіти здатні вилучати з води у значних кількостях фізіологічно активні речовини – феноли, солі важких металів, пестициди, азот і фосфор знижуючи ступінь евтрофікації водойм. *Typha angustifolia* L. широко поширений в різних водоймах та проявляє значні адаптаційні можливості в умовах комплексного забруднення водного середовища. Встановлено, що присутність *Typha angustifolia* L. у річках досліджуваних територій підвищує ефективність утилізації амонію. Зокрема, при високій активності ферментів *Typha angustifolia* L., які інтенсивно асимілювали амоній у вересні, його вміст у воді річок зменшувався (у 2–4 рази).

Активність ензимів азотного обміну у вищих водяних рослин тісно пов'язана з вмістом NH_4^+ у воді: за природного рівня NH_4^+ його зв'язування здійснюється послідовним активуванням амонійзв'язуючих ензимів рослин, а за підвищеного вмісту – переважно за рахунок НАДФ-глутаматдегідрогенази.

Olena Prokopchuk, Vasyl Grubinko

Ternopil National Pedagogical University named after Volodymyr Hnatiuk, Ternopil, Ukraine

E-mail: olenka13pro@mail.ru

THE CONTENT OF PHOSPHORUS IN THE HYDROECOSYSTEM OF SMALL RIVER AND ITS RELATIONSHIP WITH PHYTOPLANKTON GROWTH

Abstract. The seasonal changes in the content of phosphorus in the water of Seret river (Ternopil region, Ukraine) and its connection with the development of diatoms, green and blue-green algae were studied. The studies were conducted during the growing season (spring, summer, autumn) in different parts of river Seret. To identify the content of phosphate in water of river, the monitoring data were analyzed in such sampling points: "agricultural area", "urbanized area", "recreation area". Analysis of the impact of hydrobionts on fluctuation of the phosphorus level in water was carried out for three types of algae: diatoms, green and blue-green. The phosphorus concentration is in the range of 0.01 – 0.31 mg/dm³. It is established that phosphorus is associated with the development and functioning of abundance of algae in the river Seret on all areas regardless the level of anthropogenic load. Seasonal changes in water content of the phosphorus depend on the intensity of phytoplankton growth, as revealed elevated levels of phosphorus in the spring and, mainly, in the autumn, when both the number and biomass algae are characterized by minimum values. During the period of research on species and intraspecific diversity the domination was by green algae and on biomass – domination of diatoms. It is shown that with an increase in algae biomass study, a reduction in the phosphorus content in the water appears, with the exception of the territory of Ternopil reservoir, where with the biomass increase occurs also increasing in the concentration of phosphorus. It is established that as the flow of water to promote estuary anthropogenic load on the system increases, thereby increases the concentration of phosphorous, but its involvement in the binding of algae decreases. It was found that in all studied areas the number of algae and phosphorus concentration is in inverse relationship. A direct relationship was established between biomass and phosphorus concentration only in the Ternopil reservoir, and in other cases – inverse.

Keywords: river water, numerosity, biomass, Bacillariophyta, Chlorophyta, Cyanophyta.

INTRODUCTION

One of the key factors in the development and functioning of aquatic ecosystems is the development of autotrophic components of the trophic chain, the basis of which is phytoplankton. It directly affects the formation of water quality, the trophic status of the water body and determines the ecological status of the aquatic ecosystem as a whole [1;17;19].

The content of phosphorus is one of the primary determinants of the productivity of ponds and streams [2;13;20]. An increase of their content in the water basins contributes to increasing of phytoplankton biomass, and phosphate hypertrophy of reservoirs promote the increasing production of growth factors, resulting in abundant growth of algae [6].

Since the bulk of the phosphorus is associated with the life of planktonic organisms, their influence on the content and dynamics in natural waters is obvious. However, it is not clear enough which of its part is available for biological aquatic organisms intake, which is largely determined by associated environmental factors, the main among which, is often anthropogenic influence [9].

The aim of this work was to study seasonal changes in the content of phosphorus with the view to the development of phytoplankton in the water of small river in areas with different levels of anthropogenic load.

MATERIAL AND METHODS OF RESEARCH

The studies were conducted during the growing season (spring, summer, autumn) in different parts of river Seret, Ternopil region, Ukraine (fig. 1).

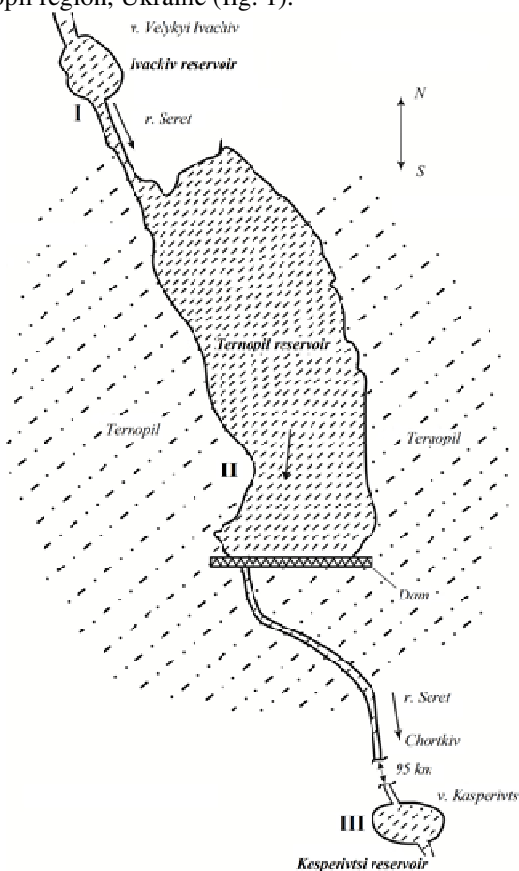


Fig. 1. Schematic map of location of the stations of phytoplankton observations: 1 – river above Ternopil reservoir, 2 - Ternopil reservoir, 3 – river below Ternopil reservoir.

To identify the content of phosphate in water of river, the monitoring data were analyzed in such sampling points: "agricultural area" (1) - characterized by active farming and animal husbandry; "urbanized area" (2) - part of the river, which flows within the city limits of Ternopil; "recreation area" (3) - the territory of the reserve. The placement of these areas is the order of the river flow from north to south at a distance of about 60-80 km from one another.

Separation of the above-mentioned areas was carried out according to eco-geographical zoning of Ternopil region [5], developed on the basis of the impact of human activities on the environment.

Determination of the phosphate content were performed according to procedure [8], based on the interaction of the orthophosphate with ammonium molybdate in acidic medium in the presence of antimonate potassium with formation of heteropoly acid, which forms the "molybdenum blue" during reduction. As the reducing agent ascorbic acid was used.

Sampling of phytoplankton, its fixation, concentration, cameral processing, calculation of abundance and biomass was carried out by well-known hydrobiological methods [7;16]. Analysis of the impact of hydrobionts on fluctuation of the phosphorus level in water was carried out for three types of algae: diatoms, green and blue-green.

RESULTS AND DISCUSSION

Brief description of the research objects. River Seret is a left flow of the Dnister. Its length is 248 km, the catchment area - 3900 sq. km. The width of the river 10-20 m, depth - 1.5-2.5 m, the flow rate is negligible (0.6 m/s), the bottom is muddy, viscous. The delivery of the river is mixed, but is mainly due to snowmelt and rain water, so clearly highlighted during the spring flood and low summer-autumn drought period with significant rain floods. The river is divided into multiple lakes and reservoirs.

Ternopil reservoir is regulated watercourse of river Seret. Placement - Ternopil. The distance from the mouth of the river to the hydroscheme is 182 km. Type - riverbed, the type of flow regulation – seasonal [18].

Species composition and abundance of algae

According to our research in the plankton ecosystem "river - reservoir - river" 409 species were found represented by 428 intraspecific taxonomic units, including those, containing nomenclatural type of species belonging to 13 classes, 32 orders, 141 genus and 8 divisions (Table. 1). Representatives of Chlorophyta compose 34% of the total structure of planktonic algal groups (144 intraspecific taxonomic units - ITU), almost at the same level with the last were Bacillariophyta - 31% (133 ITU), the third place was shared between Euglenophyta and Cyanophyta - 10% (43 ITU) and 10% (41 ITU), the following were Chrysophyta - 8% (34 ITU). Dinophyta - 3% (14 ITU), Xanthophyta - 2% (10 ITU), Cryptophyta - 2% (9 ITU) characterized by significantly lower rates (table 1).

Table 1. The spatial distribution of the taxonomic composition of phytoplankton on river Seret and Ternopil reservoir

| Division | The observation stations | | |
|------------------------|--|-----------------------------|--|
| | The area of the river Seret above the Ternopil reservoir | Ternopil Reservoir | The area of the river Seret below the Ternopil reservoir |
| Cyanophyta | $\frac{12}{7}$ (13) (7) | $\frac{32}{10}$ (34) (10) | $\frac{6}{5}$ (7) (6) |
| Euglenophyta | $\frac{20}{12}$ (23) (13) | $\frac{22}{7}$ (26) (8) | $\frac{7}{6}$ (7) (6) |
| Dinophyta | $\frac{6}{3}$ (6) (3) | $\frac{8}{3}$ (9) (3) | $\frac{2}{2}$ (2) (2) |
| Cryptophyta | $\frac{5}{3}$ (5) (3) | $\frac{8}{3}$ (8) (2) | $\frac{0}{0}$ |
| Chrysophyta | $\frac{14}{8}$ (14) (8) | $\frac{29}{9}$ (29) (9) | $\frac{9}{7}$ (9) (7) |
| Xanthophyta | $\frac{2}{1}$ (2) (1) | $\frac{9}{3}$ (9) (3) | $\frac{1}{1}$ (1) (1) |
| Bacillariophyta | $\frac{65}{37}$ (69) (38) | $\frac{82}{26}$ (88) (26) | $\frac{48}{39}$ (51) (40) |
| Chlorophyta | $\frac{50}{29}$ (50) (28) | $\frac{125}{39}$ (130) (39) | $\frac{51}{41}$ (51) (40) |

Notes:

1. The numerator - number of species (intraspecific taxonomic units - ITU);
2. The denominator – intraspecific taxonomic units, the content of each department in percentages of the total number of taxonomic units taken as 100%.

Studied areas of the river

Agricultural area (the area of the river Seret above the Ternopil reservoir - I)

In algal flora reservoir within agricultural area, leading position in terms of species and intra-species diversity of algae takes Bacillariophyta (51% of the total number of studied species). Representatives of Chlorophyta make 40%, which appears subdominant, and Cyanophyta form only 9% of the total number of species and intra-specific taxonomic units (fig. 2).

Analysis of the dynamics of phytoplankton throughout the growing season showed that Bacillariophyta was determined by the total quantities of biomass (up to 63% of the total algal biomass) in all phytoplankton. In most cases they were dominant or subdominant in association of microalgae in conjunction with other departments (green and blue-green).

Seasonal dynamics of phosphorus in the water depends on hydrometeorological conditions and the level of development of aquatic organisms. In this case, the minimum concentration in the water of the river Seret above the Ternopil reservoir (I) was characterized by the summer, and the maximum – by autumn period (respectively 0.007 and 0.06 mg P/dm³). Summer minimum is associated with high levels of aquatic organisms (especially diatoms) and their live-sustaining activity, as well as with active sedimentation of suspended phosphorus at low water level and low speed of river flow. Autumn increase of phosphate content is associated with the regeneration of phosphorus during the die away of phytoplankton. It should be mentioned that April decrease of phosphorus is caused by a low level of development of aquatic organisms in conjunction with low water temperatures at the beginning of the spring flood, and the May increase with its peak. Thus, simultaneously with a decrease in both, the number and biomass of algae on the tested area of the river, there is an increase of phosphorus in the water.

This pattern allowed to establish between the above mentioned indicators an inverse relation, characterized by a negative correlation of coefficients: $r = -0,335$ (for the number of algae and phosphorus concentration) and $r = -0,282$ (for algal biomass and phosphorus concentration) with weak bounding force.

Urbanized territory (Ternopil Reservoir - II)

In a sample of water from the reservoir the dominant were representatives of Chlorophyta with content of intraspecific taxonomic units - 52% of the total number of the studied taxonomic units (fig. 3).

Total biomass values (up to 67% of the total algae biomass), total phytoplankton as well as on agricultural areas was determined by Bacillariophyta.

Seasonal dynamics of phosphorus in the water of Ternopil reservoir has a few differences from the previous area. Thus, the maximum phosphorus content is in August, which is primarily due to the hydrological conditions of the reservoir, the physical-chemical parameters of water, as well as changes in the qualitative composition of total phosphorus. Relatively high phosphate content in the spring is due to the flux of municipal and domestic waste water on the one hand, and a relatively low level of development of aquatic organisms consuming it on the other. Thus, on the urban area with a decrease in the number of algae there is an increase in the content of phosphorus in water, and with an increase in the biomass – the increase in the level of phosphate in water.

This pattern allowed to establish between the number of algae and phosphorus concentration the reverse ($r = -0,297$), and between the biomass and the concentration of phosphorus - direct ($r = 0,463$) dependence. Only representatives of Cyanophyta biomass correlated with the content of phosphorus are in the inverse relation ($r = -0,223$).

Recreational area (section of the river Seret lower from the Ternopil reservoir - III)

On the area of river Seret below the Ternopil reservoir (III), as well as in the reservoir, the basis of phytoplankton was formed by the abundance of Chlorophyta with content of intraspecific taxonomic units, 48% of the total studied taxonomic units. Not less indicators showed Bacillariophyta, occupying 46% of the species found (fig. 4).

The total value of the biomass (up to 58% of the total algal biomass) in all phytoplankton as well as in previous areas was determined by Bacillariophyta.

Seasonal dynamics of phosphorus in the water reservoir of Ternopil is similar to the previous two territories, but since July tends to increase, reaching a maximum concentration in October - 0.31 mg P/dm³. As part of the river within the recreation area runoff accumulates throughout the whole river Seret, the anthropogenic load on the system increases due to the movement of the water flow to the mouth of the river that result in increasing of phosphorus content. It should be noted also that the high content of phosphorus in the autumn period stimulates Cyanophyta (2,1 mg/dm³) - the main agent of water "flowering".

The analysis allows to establish, as well as in the previous areas of river Seret that the decrease in the number of algae leads to an increase in the level of phosphates in the water. The same pattern can be traced to changes in algal biomass, with the exception of blue-green algae.

Between abundance of biomass of algae and phosphorus concentration an inverse relationship with the strong bounding force is discovered ($r = -0,704$). Only biomass of Cyanophyta correlated with phosphorus is in direct relation ($r = 0,542$).

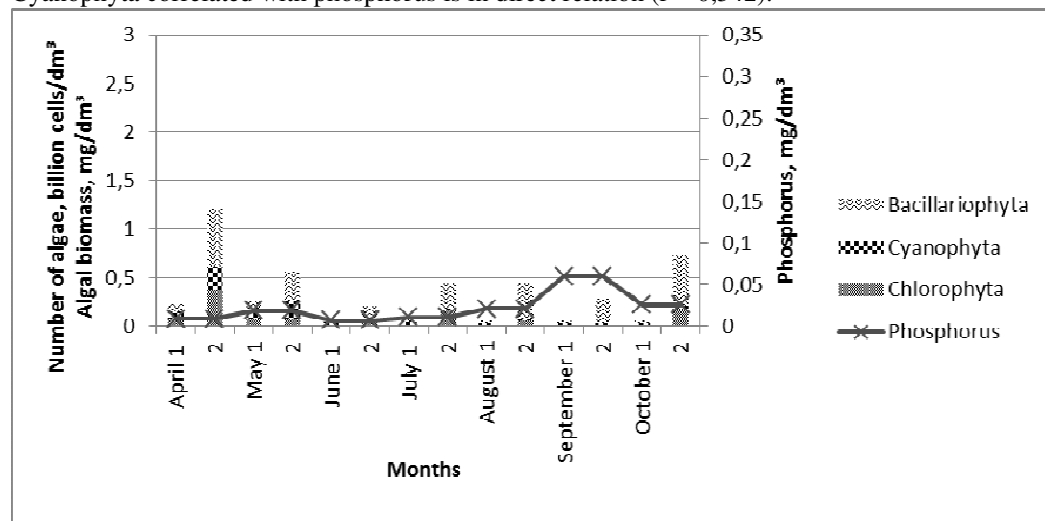


Fig. 2. Changes in the content of phosphorus, number of algae (1) and algal biomass (2) in the water of the river Seret above the Ternopil reservoir (I)

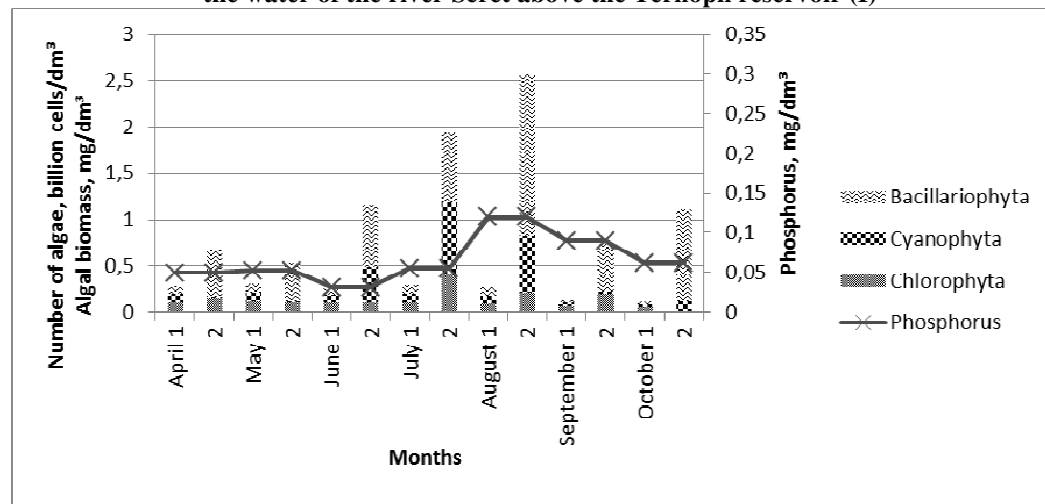


Fig. 3. Changes in the content of phosphorus, number of algae (1) and algal biomass (2) in Ternopil reservoir (II)

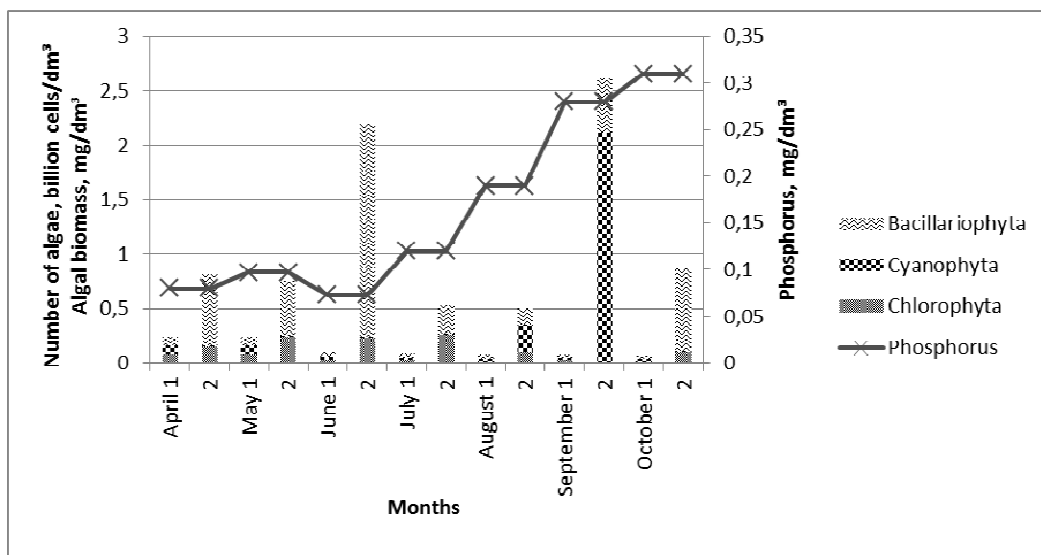


Fig. 4. Changes in the content of phosphorus, number of algae (1) and algal biomass (2) in water of river Seret below Ternopil reservoirs (III)

CONCLUSIONS

Thus, phosphorus is associated with the development and functioning of abundance of algae in the river Seret on all areas regardless the level of anthropogenic load. Seasonal changes in water content of the phosphorus depend on the intensity of phytoplankton growth, as revealed elevated levels of phosphorus in the spring and, mainly, in the autumn, when both the number and biomass algae are characterized by minimum values.

During the study period green algae dominated by the number of species and intraspecific taxonomic units, averaging 46%, and on the biomass - diatoms with a share of presence - 62%.

It was found that in all studied areas the number of algae and phosphorus concentration is in inverse relationship. A direct relationship was established between biomass and phosphorus concentration only in the Ternopil reservoir, and in other cases - inverse.

The main factors that determine the mode of phosphorus compounds in different areas of river Seret are anthropogenic load (farm, municipal and industrial effluents) and meteorological conditions that regulate inter-reservoir biochemical and chemical processes. High background levels of phosphates in the water below the Ternopil reservoir (0.073 - 0.31 mg/dm³) and a sharp increase in the concentration of phosphorus in the end of the growing season reflect the strong anthropogenic pressure from overlying cities (Ternopil, Chortkiv) and increase the scope of recreation on the water object. So, as an area above the Ternopil reservoir does not have antropogenic pressures, and farm runoff is characterized by minimum values, hydroecosystem most effectively regulate the content of phosphorus in the water by phytoplankton, unlike recreational area, where phytoplankton cannot process all the phosphorus.

REFERENCES

1. Bizsel N., Benli H., Bizsel K., Metin G., 2001. A synoptic study on the phosphate and phytoplankton relationship in the hypereutrophiceted Izmir bay (Aegean Sea). Turkish Journal Engineering Environmental Science, 25, 89-99.

2. Conley, D., Paerl, H., Howarth, R., Boesch, D., Seitzinger, S., Havens, K., Lancelot, C., Likens, G., 2009. Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus. *Science Magazine* 323, 1014–1015.
3. Costa, A., Rolim, M., Bonfim-Silva, E., Neto, D., Pedrosa, E., Silva, E., 2016. Accumulation of nitrogen, phosphorus and potassium in sugarcane cultivated under different types of water management and doses of nitrogen. *Australian Journal of Crop Science* 10(3), 362–369.
4. Dacenko Ju., 1993. Rezhim i balans fosfora v Uchinskom vodohranilishhi [Regime and Balance of Phosphorus in the Uchinskoe Reservoir]. *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 2(29), 76-84 (in Russian).
5. Jankov's'ka L., 2003. Ekologo-geografichne rajonuvannja Ternopil's'koj oblasti [Ecological and geographical regionalization of Ternopil region]. *Naukovi zapiski TNPU im. V.Gnatjuka. Serija «Geografija»*, 2, 31-36 (in Ukrainian).
6. Kureyshevich A., 2005. Otklik fitoplanktona evtrofnyh vodohranilishh na uvelichenie soderzhaniya v vode fosfora i azota [Response of phytoplankton of eutrophic reservoirs on increase of the content of phosphorus and nitrogen in water], *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 4(41), 3-23 (in Russian).
7. Lure, Yu., 1973. Unifitsirovanye metody analiza vod [Unify methods of water analysis]. *Khimiia, Moscow* (in Russian).
8. Metodyka vykonannja vymirjuvan' «Poverhnevi ta ochyshheni stichni vody. Metodyka vykonannja vymirjuvan' masovoi' koncentracii' rozchynenyh ortofosfativ fotometrychnym metodom» [Methods of measurement "Surface and treated wastewater. Methods for measuring the mass concentration of dissolved orthophosphates photometric method]. *MVV081/12-0005-01 vid 16.11.2001* (in Ukrainian).
9. Morozova A., 2006. Rezhim vzveshennogo fosfora v nizhnem techenii Dnepra [Regime of suspended phosphorus in the lower Dnieper current], *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 5(42), 105-111 (in Russian).
10. Paytan, A., 2011. Tracing the Sources and Biogeochemical Cycling of Phosphorus in Aquatic Systems Using Isotopes of Oxygen in Phosphate. *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry, Advances in Isotope Geochemistry*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
11. Prokopchuk, E.I., 2015. Korreljacionnyj analiz zavisimosti urovnja fosfatov v rekah ot fiziko-himicheskikh pokazatelej vody (na primere Ternopol's'koj oblasti) [Correlation analysis depending on the level of phosphates in rivers from the physico-chemical parameters of water (by the example of Ternopil region)]. *Biologija: vid molekuly do biosfery*. FOP Shapovalova T. M., Harkiv (in Russian).
12. Prokopchuk, O., Kurta, Ju., 2015. Vodnevij pokaznyk (pH) jak faktor reguljacji' rivnja spoluk fosforu u vodi malyh richok [pH as a factor in the regulation of phosphorus in the water of small rivers]. *Molod' i postup biologii'*. SPOLOM, L'viv (in Ukrainian).
13. Prokopchuk, O.I. Grubinko, V.V., 2013. Fosfaty u vodnyh ekosystemah [Phosphates in aquatic ecosystems]. *Naukovi zapysky TNPU im. V. Hnatiuka. Seria Biologija* 3 (56), 78–85 (in Ukrainian).
14. Romanenko, V., 2001. Osnovy hidroekologhii: pidruchnyk [Basics of hydroecology: textbook]. *Oberehu, Kyiv* (in Ukrainian).
15. Ruttenberg, K., 2003. The Global Phosphorus Cycle. *Treatise on Geochemistry* 8, 585–633.
16. Shherbak V., 2002. Metodi doslidzhennja fitoplanktonu. Metodichni osnovi gidrobiologichnih doslidzen' vodnih ekosistem [Methods of phytoplankton research", Methodological bases of hydrobiological studies of aquatic ecosystems]. *Kiev*, 41-47 (in Ukrainian).
17. Shherbak V., Zadorozhnaja A., 2013. Sezonnaja dinamika fitoplanktona Kievskogo uchastka Kanevskogo vodohranilishha [Seasonal dynamics of phytoplankton in Kiev section of Kanev Reservoir], *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 2(49), 28-37 (in Russian).

18. Syvyi, M. Ya., Tsaryk, L. P., 2011. Pryrodni umovy ta resursy Ternopilshchyny [Natural conditions and resources of Ternopil region]. Terno-hraf, Ternopil (in Ukrainian).
19. Zhezherja T., Zadorozhnaja A., Linnik P., 2014. Soderzhanie i formy nahozhdenija kremnija v vode Kanevskogo vodohranilishha i ih svjaz' s razvitiem fitoplanktona [The content and forms of Silicon Occurrence in the water of the Kanev Reservoir and Their Dependence on Phytoplankton Development], *Gidrobiologicheskij zhurnal*, 2(50), 106-116 (in Russian).
20. Zhukova T., 1989. Rezhim fosfora, ego rol' v bioticheskom krugovorote i evtrofirovanii (na primere ozer Narochanskoj grupy) [Conditions of Phosphorus, its Significance in the Biotic Cycle and Eutrophication (as Exemplified by Lakes of the Narochanian Group)], *Hydrobiological journal*, 4(25), 24-28 (in Russian).

АНОТАЦІЯ

ВМІСТ ФОСФОРУ В ГІДРОЕКОСИСТЕМІ МАЛОЇ РІЧКИ І ЙОГО ЗВ'ЯЗОК З РОЗВИТКОМ ФІТОПЛАНКТОНУ

Досліджували сезонні зміни вмісту фосфору у воді річки Серет (Тернопільська обл., Україна) і його зв'язок з розвитком діатомових, зелених і синьо-зелених водоростей. Дослідження проводилися протягом вегетаційних сезонів (весна, літо, осінь) на різних ділянках р. Серет. Для виявлення вмісту фосфатів у воді річки були проаналізовані моніторингові дані в таких точках відбору: «аграрна територія», «урбанізована територія», «рекреаційна територія». Аналіз впливу гідробіонтів на коливання рівня фосфору у воді проводили для трьох видів водоростей: діатомові, зелені та синьо-зелені. Концентрація фосфору у водоймах коливалася в межах 0,01 – 0,31 мг / дм³. Простежено, що фосфор пов'язаний з розвитком і функціонуванням водоростей в р. Серет на всіх її ділянках, незалежно від рівня антропогенного навантаження. Встановлено, що сезонні зміни вмісту фосфору у воді залежать від інтенсивності розвитку фітопланктону, оскільки виявлено підвищення вмісту фосфору у весняний і, головним чином, в осінній періоди, коли як чисельність, так і біомаса водоростей характеризується мінімальними значеннями. Протягом періоду досліджень за видовим та внутрішньовидовим складом переважали зелені водорості, а за біомасою – діатомові. В альгофлорі водойми з аграрної території основне місце серед водоростей займали Bacillariophyta, які визначили і сумарні величини біомаси (до 63%). У пробах води з урбанізованої території переважали представники Chlorophyta, а за сумарними показниками біомаси – Bacillariophyta (до 67%). На ділянці річки, що характеризується рекреаційною діяльністю, основне місце серед водоростей займали Chlorophyta, а за показниками біомаси – Bacillariophyta (до 58%).

Показано, що одночасно із збільшенням біомаси досліджуваних водоростей відбувається зниження вмісту фосфору у воді, за винятком території Тернопільського водосховища, де зі зростанням біомаси відбувається і зростання концентрації фосфору. Відмічено, що в міру просування водного потоку до гирла річки антропогенне навантаження на гідроекосистему зростає, в результаті чого збільшується концентрація фосфору, а участь водоростей у його зв'язуванні зменшується. Встановлено, що на всіх досліджуваних територіях між чисельністю водоростей і концентрацією фосфору існує зворотна залежність. Пряма залежність встановлена між біомасою і концентрацією фосфору тільки на території Тернопільського водосховища, а в решті випадків – зворотна.

Iryna Bryndzia

Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, Ukraine,

e-mail: ira_3107@ukr.net

ROLE OF BRYOPHYTES IN THE METABOLISM OF NITROGEN

Abstract. The role of bryophytes *Amblystegium serpens* and *Brachythecium mildeanum* in the metabolism of nitrogen in the wells of Carpathian region is analysed. The study of species composition in wells within the Carpathian Region showed that the bryophytes plants were found in all studied objects. In particular, *Amblystegium serpens* was found in wells within the rural area. *Brachythecium mildeanum* was found in the wells located at the technogenically transformed, recreational and urban areas.

We studied the adaptation potential for the bryophytes to ammonium compounds and general principles for binding or withdrawal of glutamine dehydrogenase and glutamine synthetase and its compounds from the cells. Seasonal changes in enzyme activity for studied mosses were established. In particular, the trend of a sharp increase in NADH- glutamine dehydrogenase at the technogenically transformed areas was observed in the autumn. The same trend was observed for changes at the recreational and urban areas, although the changes are fairly minor. The opposite situation was for the rural area, where decreased activity of NADH-glutamine dehydrogenase was observed in autumn and the increased activity was indicated in summer. The activity of NADPH-glutamine dehydrogenase increased at all investigated areas. GLS activity was higher than GLDH for the studied mosses, which determines its primacy in the process of ammonia assimilation. The content of chlorophyll a and b grew at technogenically transformed and recreational areas in autumn, and the increase for urban and rural territories in June. In urban and rural areas, the tendency to reduce carotenoids activity in the autumn, and the tendency to decrease in summer and increase in spring was observed for technogenically transformed and recreational areas. The growth of feopigment content was observed at the recreational and technogenically transformed areas in autumn; and, for the urban and rural areas, the feopigment contend in contrary decreased.

Keywords: bryophytes, ammonium, glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase, chlorophyll “a” and “b”, carotenoids, feopigments.

INTRODUCTION

Aquatic ecosystems are exposed to intensive influence of anthropogenic factors causing changes in biota and formation of new biological compounds. The leading role in the functioning of freshwater ecosystems belongs to phytoplankton, through which photosynthesis energy flows and fund autochthonous organic matter is generated in water. Together with allochthonous organic matter, the primary production forms material and energy basis for all subsequent stages of the production process in aquatic ecosystems, defining the livelihoods for the latter. As a result of changing environmental conditions in the hydro ecosystem, phytoplankton responds first, and its structural and functional characteristics are an important element in assessing the degree of anthropogenic impact [2]. Phytoplankton is also actively involved in the freshwater reservoirs self-cleaning. Another area of biological analysis for conditions in hydro ecosystems is the study of physiological and biochemical parameters for both biological groups and individual organisms. The change of enzymatic activity in plants is largely dependent on high concentrations of reactive oxygen species (ROS) in photosynthetic tissues that are produced in response to biotic and abiotic stress factors, including the possible water deficit, salinity, low or high temperature, the effect of herbicides, heavy metals, radiation, pathogens infection [21].

MATERIALS AND METHODS

The material for our study were the samples of mosses taken from the wells of Carpathians during the summer and autumn periods, which territory we conventionally divided according to the nature of human load into four parts – technogenic, recreational, rural and urban territory [2]. The outskirts of Truskavets are the main objects of Carpathians natural reserve fund, and the wells located within this territory were identified as the recreation area. The territory of Drohobych and Stryi districts was identified as rural. Mykolaiv district, where the large enterprise (OJSC “Mykolaivtsement”) is located, and the city Drohobych (where JSC “SPC – Galicia” is located) were identified as the technogenically transformed area. The cities Boryslav, Drohobych, and Stryi were identified as the urbanized area. Identification of the species was carried out at the Institute of Hydrobiology of NAAS of Ukraine.

Protein content in the biomass of bryophytes was determined by Lowry method [15].

To determine the enzyme activity, homogenates from algae biomass (cells separated from the environment through Synpor No.4 membrane filters) were prepared at 0.005 M tris-HCl buffer (pH 7.6) containing 0.002 M of magnesium sulfate and 0.002 M EDTA with the 1: 5 ratio (raw mass: buffer) in a mechanical homogenizer at 7000 rpm; then homogenates were centrifuged at 5000 rpm for 15 minutes. The resulting slurry was used for further experimental work.

Chlorophyll “a” and “b” content, the total content of carotenoids was determined by extracting method using spectrophotometry and was calculated by the respective formulas [18].

Glutamine synthetase activity was studied in synthetase reaction. The reaction mixture in determining the activity of GS by phosphate method contained 25 mM of tris-HCl buffer (pH 7.2), 16 mM of sodium glutamate, 6 mM NH₄Cl, 6 mM MgSO₄, 15 mM ATP and buffer extract in an amount necessary to form 1-10 μmol of glutamine for 45 min. at 35 - 37°C. The reaction was stopped by adding 4.0 ml of 1.8% FeSO₄ in 0.3 M H₂SO₄ and 0.4 ml 606 % (NH₄)₆Mo₇O₂₄ in 7.5 M H₂SO₄, and photometered on a spectrophotometer CФ-46 at 700 nm against the test solution. Enzymatic activity is expressed in mmol P_n/mg protein·min.

Glutamate dehydrogenase activity (EC 1.4.1.2) was found by spectrophotometric method for oxidation rate of NADH at 340 nm [9] in the reaction mixture, consisting of 0.05 M tris-HCl buffer (pH 7.2); 0.01 M 2-oxoglutarate; NADH 0.000025 M and 0.2 M (NH₄)₂HPO₄. The enzyme activity is expressed in μmol NADH/mg protein · min.

Statistical analysis for the data was performed using Statistica 5.5 software and Microsoft Office Excel 2007.

DISCUSSION

Study of the species composition in water bodies showed that all investigated wells contain bryophytes plants. In particular, creeping *Amblystegium* (*Amblystegium serpens*) was found in the wells of rural area. *Brachythecium mildeanum* was found in the wells at technogenic, recreational and urban areas - (table 1).

Table 1. Species composition of bryophytes found in wells

| Type of bryophytes | Type of territory | | | |
|--------------------------------|-------------------|--------------|-------|-------|
| | Technogenic | Recreational | Urban | Rural |
| Amblystegium serpens | - | - | - | + |
| Brachythecium mildeanum | + | + | + | - |

Water regime of bryophytes has some features caused by their simple anatomical and morphological structure. Because of the absence of stomata, bryophytes are unable to regulate transpiration. [22] In accordance with the adaptation to their existence in the certain hydrological regime, the bryophytes have different accumulation and retention mechanisms. It was found that of the dead part of moss has a very high hydrolytic acidity, due to which the moss litter is characterized by considerable absorption capacity and can contain large quantities not only hydrogen ions but also other elements such as nitrogen compounds necessary for plants [10]. It was found that the loss of nitrogen in the ecosystem exceeds its income. [13] The high calcium content combined with high pH is fatal for almost all bryophytes [12].

The main form of nitrogen assimilation into organic compounds is known to be ammonium ions. Numerous studies have found [16] that the enzymes of glutamate synthetase cycle are important for the assimilation of ammonium nitrogen into amino acids and proteins of plant cells. Key enzyme among them is the enzyme glutamine synthetase (EC 6.3.1.2). It was proved [17] that the glutamine formed with the participation of the enzyme system is one of the important forms of primary accumulation and transportation for organic nitrogen in the plant. This way of nitrogen assimilation is universal for all living cells - from bacteria to animals. [14, 23]. Later, glutamine synthetase (GS) synthesizes glutamine by adding ammonium ion to the glutamic acid residue.

The literature data indicate that in the extreme conditions of technogenic ecotopes qualitative and quantitative changes in the regulation of enzymes lead to changes in isoenzyme spectra. These changes in enzyme component are considered as one of the most subtle adaptation mechanisms of plants during the stress effects of different nature. Babenko V. I. and F. Nariychuk D. [1], indicate the reduced HDH activity in isolated chloroplasts for the actions of low temperatures during hardening. V. Pahlich [19] observed increased HDH activity for the plants after SO₂ fumigation. Thus, a number of stress factors causes increased HDH activity.

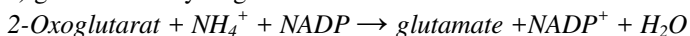
The literature contains the evidence of the induction and/or increased HDH synthesis influenced by endogenous ammonium responsible for the increased enzyme activity under the influence of unfavorable factors. The results of experiments for excessive concentration of Fe²⁺ and Cr³⁺ in the environment lead to the increase of NH₄⁺ in the vegetative organs tissues. This is accompanied by inhibition of GS activity - an enzyme that, along with the GTS is a leading agent in primary ammonium assimilation [4]. Thus, the activation of HDH by the action of phytotoxic concentrations of Fe²⁺ and Cr³⁺ is possibly associated with an increase in ammonia content in the tissues.

In terms of lack for reduced nitrogen in the cell, the genes, which products are involved in the assimilation of hard assimilable sources of nitrogen, are activated. Then, as the whole plant enzymes are exposed to external factors not directly but through a change in orientation of the physiological processes of metabolites and their transport characteristics. GS and HDH regulation and the relative contribution of these enzymes in the process of ammonium assimilation in various organs during the growth and development for various nutrition types are studied insufficiently [20].

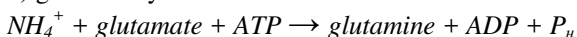
Knowledge of basic mechanisms regulating the activity of ammonium assimilating enzymes, implemented in stages during ontogenesis, is possible only after understanding the whole process of nitrogen assimilation by plants [4].

Among them, the most effective are:

a) glutamate dehydrogenase reaction:



b) glutamin synthetase reaction:



Glutamate dehydrogenase catalyzes the interconversion of α -ketoglutarate and glutamate, when also takes place mutual transformation of inorganic nitrogen, ammonium and organic α -amino nitrogen. The reducing agen may be NADH or NADPH [11]. Then after the action of glutamic acid transaminase, the nitrogen is redistributed, being included in other amino acids. [7]

NADH-HDH is a catabolic enzyme and carries mostly deamination and NADPH-HDH is anabolic and performs amination [6].

Table 2 shows the mean values of enzyme activity HDH-NAD (P) H, GDS, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids and feopigments in each of studied plants - *Amblystegium serpens*, *Brachythecium mildeanum* in the particular areas.

Table 2. Enzymes activity in bryophytes ($\bar{m} \pm m$, n=3)

| Indices | Type of territory | | | |
|---|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Technogenic | Recreational | Urban | Rural |
| June | | | | |
| NADH-glutamate dehydrogenase mkmol NADH/mg protein · min | $(0.05 \pm 0.003) \cdot 10^{-3}$ | $(0,03 \pm 0,002) \cdot 10^{-3}$ | $(0.15 \pm 0.01) \cdot 10^{-3}$ | $(1.55 \pm 0.15) \cdot 10^{-3}$ |
| NADPH-glutamate dehydrogenase, mkmol NADPH/mg protein · min | $(0.17 \pm 0.02) \cdot 10^{-3}$ | $(0.06 \pm 0.002) \cdot 10^{-3}$ | $(1,02 \pm 0,009) \cdot 10^{-3}$ | $(0,25 \pm 0,026) \cdot 10^{-3}$ |
| Glutamine synthetase | 1.516 ± 0.010 | 0.979 ± 0.065 | 0.642 ± 0.023 | 0.807 ± 0.026 |
| α-oxoglutamate-dehydrogenase | 4.393 ± 0.124 | 8.507 ± 0.198 | 1.453 ± 0.064 | 3.028 ± 0.040 |
| Chlorophyll «a» mkg/mg of dry weight | 3.44 ± 0.23 | 1.53 ± 0.13 | 3.47 ± 0.12 | 1.62 ± 0.15 |
| Chlorophyll «b», ug/mg of dry weight | 1.28 ± 0.12 | 0.55 ± 0.49 | 1.25 ± 0.097 | 0.59 ± 0.52 |
| Carotenoids, mkSPU/mg of dry weight | 0.88 ± 0.053 | 0.28 ± 0.019 | 2.10 ± 0.18 | 0.34 ± 0.029 |
| Feopigments, ug/mg of dry weight | 0.67 ± 0.042 | 0.61 ± 0.058 | 2.55 ± 0.21 | 2.11 ± 0.17 |
| NH ₄ ⁺ mg N/L | 2.75 ± 0.3 | 3.8 ± 0.22 | 3.9 ± 0.3 | 3.6 ± 0.27 |
| September | | | | |
| NADH-glutamate dehydrogenase mkmol NADH/mg protein · min | $(0.58 \pm 0.43) \cdot 10^{-3}$ | $(0.05 \pm 0.002) \cdot 10^{-3}$ | $(0,20 \pm 0,018) \cdot 10^{-3}$ | $(1,08 \pm 0,079) \cdot 10^{-3}$ |
| NADPH-hlutamatdehidrohenaza, NADPH mmol/mg protein · min | $(0.39 \pm 0.023) \cdot 10^{-3}$ | $(0,07 \pm 0,004) \cdot 10^{-3}$ | $(1.07 \pm 0.01) \cdot 10^{-3}$ | $(0,07 \pm 0,065) \cdot 10^{-3}$ |
| Glutamine synthetase | 3.03 ± 0.05 | 2.43 ± 0.07 | 4.88 ± 0.25 | 9.76 ± 0.76 |
| α-oxoglutamate-dehydrogenase | 5.95 ± 0.35 | 11.68 ± 0.48 | 11.79 ± 0.44 | 4.93 ± 0.21 |
| Chlorophyll "a", pg/mg dry weight | 3.53 ± 0.12 | 1.83 ± 0.16 | 1.91 ± 0.09 | 1.02 ± 0.054 |
| Chlorophyll «b», ug/mg of dry weight | 1.21 ± 0.068 | 0.54 ± 0.052 | 0.85 ± 21.54 | 0.37 ± 0.033 |
| Carotenoids, mkSPU/mg of dry weight | 1.01 ± 0.080 | 0.41 ± 0.023 | 0.48 ± 0.04 | 0.26 ± 0.015 |
| Feopigments, ug/mg of dry weight | 2.69 ± 0.13 | 0.95 ± 0.056 | 1.15 ± 0.12 | 1.60 ± 0.10 |
| NH ₄ ⁺ mg N/L | 2.25 ± 0.2 | 0.77 ± 0.06 | 6.8 ± 0.4 | 0.7 ± 0.07 |

Seasonal changes were observed in the study of enzyme activity for mosses. In particular, the trend a sharp increase in NADH-glutamate dehydrogenase at technogenic territory 10 times from (0.05

$\pm 0.003) \cdot 10^{-3}$ in June to $(0.58 \pm 0.43) \cdot 10^{-3}$ was observed in September. The same trend is observed for changes in the recreational area from $(0.03 \pm 0.002) \cdot 10^{-3}$ in June to $(0.05 \pm 0.002) \cdot 10^{-3}$ in September and urban - from $(0.15 \pm 0.01) \cdot 10^{-3}$ in June to $(0.20 \pm 0.018) \cdot 10^{-3}$ in September, although the changes are fairly minor. A somewhat different situation was for the rural area. The decrease in activity of NADH-glutamate dehydrogenase from $(1,55 \pm 0.15) \cdot 10^{-3}$ in June to $(1.08 \pm 0.079) \cdot 10^{-3}$ in September was observed. The activity of NADPH-glutamate dehydrogenase increased in all studied areas. In particular, for the technogenic area - from $(0.17 \pm 0.02) \cdot 10^{-3}$ in June to $(0.39 \pm 0.023) \cdot 10^{-3}$ in September; for recreational area - from $(0.06 \pm 0.002) \cdot 10^{-3}$ to $(0.07 \pm 0.004) \cdot 10^{-3}$; in urban area - from $(1.02 \pm 0.009) \cdot 10^{-3}$ to $(1.07 \pm 0.01) \cdot 10^{-3}$. In the rural area, downward trend in activity from $(0.25 \pm 0.026) \cdot 10^{-3}$ to $(0.07 \pm 0.065) \cdot 10^{-3}$ remained again. The lowest activity of NADPH-glutamate dehydrogenase was observed in the recreational area, and the largest - in rural area.

The differences in activity of both glutamate dehydrogenases was found on the basis of studies. For *Amblystegium serpens*, rather low activity of both glutamate dehydrogenases was found, that is, most likely due to its low affinity to ammonium ion. The activities of these enzymes in *Brachythecium mildeanum* were significantly higher, that is confirmed in this case by the high content of ammonia in the environment. Scientists state [5] that the maximum glutamine synthetase activity is at minimum concentration of ammonium, which provides the normal growth and development of culture. It could be observed in our studies that the activity of this enzyme is lower in the summer, and increases significantly in the autumn.

It is known that glutamate dehydrogenase is one of the most common enzymes, and it was not found almost no body, where it would be absent [11]. Kretovych V. L. et al. [6] supposes that HDH in plants can effectively participate in the ammonium assimilation only at high concentrations when glutamate synthesis and GS activity are suppressed.

The conducted studies showed the changes in glutamine synthetase activity. In particular, the activity at the technogenic territory doubled from 1.516 ± 0.010 in June to 3.03 ± 0.05 in September. The activity grew 2.5 times at the recreational territory - from 0.979 ± 0.065 in June to 2.43 ± 0.07 in September. In urbanavantzheniy territory glutamine synthetase activity increased 6 times from 0.642 ± 0.023 in June to $4,88 \pm 0.25$ during the autumn. The rapid growth in the activity at rural area from 0.807 ± 0.026 to $9,76 \pm 0.76$ is also observed.

Glutamine synthetase catalyzes the key reaction of ammonia assimilation and reaction product - glutamine, amide or amine groups donor is involved in the synthesis of all major nitrogenous cell metabolites. Glutamine synthetase (GS) is the main enzyme in nitrogen metabolism as a reaction catalyzed by this enzyme, on the one hand, is the only donor in glutamine synthesis, and on the other hand, is a source of glutamine amino groups for the biosynthesis of cell metabolites [8]. Among the studied mosses GS activity was higher than HDH, which determines its primacy in the process of ammonia assimilation.

The study of oxoglutamate α -dehydrogenase showed the following changes. In particular, an increase from 4.393 ± 0.124 in June to 5.95 ± 0.35 in the autumn was observed for the technogenic area, from 8.507 ± 0.198 to 11.68 ± 0.48 - for the recreation area, from 1.453 ± 0.064 to 11.79 ± 0.44 - for the urban area, and from 3.028 ± 0.040 to 4.93 ± 0.21 - for the rural area respectively.

The function of α -oxoglutamate dehydrogenase is to transport ammonia released as a result of amino acids catabolism. α -ketoglutarate is the major ammonia carrier in the metabolic pathways. Amino groups of amino acids are attached to α -ketoglutarate in the transamination reactions and tolerated.

In technogenic and recreational areas there was a slight increase in chlorophyll "a" from 3.44 ± 0.23 mg/mg dry weight to 3.53 ± 0.12 mg/mg dry weight and from 1.53 ± 0.13 mg/mg dry to 1.83 ± 0.16 mg/mg of dry weight during the studied period, respectively. However, chlorophyll «b» content decreased slightly in September compared to June: from $1,28 \pm 0.12$ mg/mg dry weight to $1,21 \pm 0.068$ pg/mg dry weight for technogenic area, in the recreational area - from 0.55 ± 0.49 mg/mg dry weight to

0.54 ± 0.052 pg/mg dry weight. In urban and agricultural area, the chlorophyll "a" pigment decreased: from 3.47 ± 0.12 mg/mg dry weight to 1.91 ± 0.09 mg/mg dry weight and from 1.62 ± 0.15 mg/mg dry weight to 1.02 ± 0.054 pg/mg of dry mass. The same pattern was observed for chlorophyll «b» from 1.25 ± 0.097 pg/mg of dry weight to $0.85 \pm 0.21,54$ mg/mg of dry weight and from 0.59 ± 0.52 mg/mg dry weight to 0.37 ± 0.033 pg/mg of dry weight.

In urban and agricultural areas, the activity of carotenoids tended to reduce throughout the study period. Particularly in urban areas this pigment decreased four times from June to September: from $2,10 \pm 0.18$ mkSPU/mg of dry weight to 0.48 ± 0.04 mkSPU/mg of dry weight. In the agricultural area, a slight decrease in activity of pigment from 0.34 ± 0.029 mkSPU/mg of dry weight to 0.26 ± 0.015 mkSPU/mg of dry weight was observed. In technogenic and recreational areas, on the contrary, a slight increase in the pigment activity was observed. In particular, the activity of this pigment increased from 0.88 ± 0.053 mkSPU/mg of dry weight to 1.01 mkSPU ± 0.080 mg of dry weight from June to September in the technogenic territory, and in the recreational area - from 0.28 ± 0.019 mkSPU/mg of dry weight to 0.41 ± 0.023 mkSPU/mg of dry weight.

Feopigment activity in the technogenic territory in June amounted to 0.67 ± 0.042 pg/mg of dry weight, but the next study period showed that there was a rapid growth four times to the mark of $2,69 \pm 0.13$ mg/mg of dry weight. In the recreation area, the same growth trend of pigment from 0.61 ± 0.058 pg/mg dry weight to 0.95 ± 0.056 pg/mg dry weight was saved. In urban and agricultural areas, contrary, feopigment activity reduced during the period from 2.55 ± 0.21 mg/mg of dry weight to $1,15 \pm 0.12$ mg/mg of dry weight (twice) and from $2,11 \pm 0.17$ pg/mg of dry weight to $1,60 \pm 0.10$ mg/mg of dry weight.

CONCLUSIONS

Our studies show that the activity of related enzymes of the body exposed to toxic effect permit to assess the status of individual units in the metabolic circuits to determine orientation and metabolic conversion rate in the intermetabolites flow [3]. Maximum activity of glutamine synthetase and glutamine synthetase was observed at the lowest concentration of ammonium, which provides the normal growth and development for the mosses *Amblystegium serpens* and *Brachythecium mildeanum*. The activity of these enzymes is less in the summer, and increases significantly in the autumn.

REFERENCES

1. Бабенко В. И., 1976. Влияние пониженной температуры на малат- и глутамат-дегидрогеназу хлоропластов озимой пшеницы. Доклады АН СССР, 228, 5, 1252–1255.
2. Бриндзя І.В., 2011. Оцінка якості поверхневих вод Прикарпаття за її фізико-хімічними показниками. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологія, 2 (47), 7 – 11.
3. Грубінко В.В., 2005. Інтегральна оцінка токсичного ураження у біологічних системах. Наук. зап. ТНПУ ім. В. Гнатюка. – Сер. Біологія, 3, 111 – 114.
4. Іванченко О. С., 2004. Зміна активності глутамінсинтетази в листках і коренях *Lathyrus odoratus* при дії надлишку заліза (II) та хрому (III) у живильному середовищі. Питання біоіндикації та екології, 9, № 1, 89–95.
5. Ключенко П.Д., 2002. Метаболізм азоту у прісноводних водоростей та його роль у формуванні їх угруповань і якості води: Автореф. дис. докт. біол. наук: 03.00.17/Інститут гідробіології НАН України, 42.
6. Кретович В.Л., 1990. Усвоение и метаболизм азота в растениях. – М.: Наука, 486.
7. Мещлер Д. Биохимия. В 3-х т. – М.: Мир, 2, 608.

8. Смірнова В.Є., 2003. Свойства и регуляция глутаминсинтетазы *Azospirillum brasilense* с разными степенями аденилирования. – Автореферат. – Саратов, 141.
9. Софин А. В., Р Шатилов, В. Л., 1984. Глутаматдегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли. Кинетические свойства. Биохимия, 49, 2, 334–345.
10. Трофимец В. И., Ипатов В. С., 1990. Средообразующая роль лишайникового и мохового покровов в сухих сосняках. Ботан. журн., 75, 1102–1109.
11. Шатилов В.Р., 1987. Глутаматдегидрогеназы. Энзимология ассимиляция аммония у растений. Итоги науки и техники. – Сер. "Биол. хим." – М.: ВИНТИ, 24, 5 – 104.
12. Bates J.W., 2000. Mineral nutrition, substratum ecology, and pollution. Bryophyte Biology. – Cambridge: University Press, 248-311.
13. Bowden W. B., Arscott D., 1999. Roles of bryophytes in stream ecosystems. Benthol. Soc., 18, 151–184.
14. Khademi S., Stroud, R.M., 2006. The Amt /MEP/ Rh family: structure of AmtB and the mechanism of ammonia gas conduction. Physiology (Bethesda), 21, 419–429.
15. Lowry O.H., N.J. Rosebrough, 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. J. Biol. Chem., 193, 265–275.
16. Mifflin B. J., D. Z. Habash, 2002. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. J. Experiment. Botany, 53, 979–987.
17. Oliveira I. C., E. Brenner, J. Chiu. 2001. Metabolite and light regulation of metabolism in plants: lessons from the study of a single biochemical pathway. Braz. J. Med. Biol. Res., 34, 567–575.
18. Parsons T. R., J.D.H. Strickland, 1963. Discussion of spectrophotometry determination of marine-plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. Journal Marine Research, 21, 155–163.
19. Pachlich E., H. J. Jäger, L. Steubing. 1972. Effect of SO₂ on activities of glutamatdehydrogenase and glutaminesyntetase from pea seedlings. Gegev. Bot, 46, 183–197.
20. Plant nitrogen, 2001. Eds. Lea P.J., Morot-Gaudry J.-F. – Berlin: Springer, 407.
21. Turner S.L., J. P.W. Young, 2000. The glutamine synthetases of rhizobia: phylogenetics and evolutionary implications/S.L. Turner. Mol. Biol., 17, 309–319.
22. Prasad T. K., Anderson M. D., Martin B. A., 1994. Evidence for Chilling-Induced Oxidative Stress in Maiz Seedlings and a Regulatory Role for Hydrogen peroxide. Plant Cell., 6, 65 – 74.
23. Shofield W.B., 1981. Ecological Significance of Morphological Characters in the Moss Gametophyte. The Bryologist, 84, 149–165.
24. Tremblay P.L., Hallenbeck P.C., 2009. Of blood, brains and bacteria, the Amt/Rh transporter family: emerging role of Amt as a unique microbial sensor. Mol Microbiol., 71(1), 12-22.

АНОТАЦІЯ

РОЛЬ МОХОПОДІБНИХ У МЕТАБОЛІЗМІ НІТРОГЕНУ

Вивчення видового складу криниць Прикарпаття показало, що в усіх досліджуваних об'єктах наявні мохоподібні рослини. Зокрема, у колодязях агровантаженої території знайдено Амблестегій, або Амблестегіум повзучий (*Amblystegium serpens*). У криницях техногеннотрансформованої, рекреаційної та урбанізованої територій – Брахитеціум середній (*Brachythecium mildeanum*). Відомо, що головною формою асиміляції нітрогену в органічних сполуках є іони амонію. Дослідження показують [16], що в асиміляції амонійного нітрогену важливе місце посідають ферменти глутаматсинтетазного циклу.

Ключовою серед цих ферментів є глутамінсинтетаза. В умовах недостатньої кількості відновленого нітрогену в клітині активуються гени, продукти яких беруть участь в асиміляції важко засвоєваних джерел нітрогену. Рослинні ферменти піддаються впливу зовнішніх факторів не безпосередньо, а через зміни спрямованості фізіологічних процесів, складу метаболітів, і особливостей їх транспортування. Регуляція ГС і ГДГ, і відносний внесок цих ферментів в процес асиміляції амонію в різних органах в процесі їх росту і розвитку за різних типів живлення вивчені недостатньо [20].

Нами досліджено адаптаційний потенціал мохоподібних (*Amblystegium serpens*, *Brachythecium mildeanum*) до сполук амонію та загальні принципи зв'язування чи виведення глутаматдегідрогеназою та глутамінсинтетазою його сполук з клітин. Встановлено сезонні зміни активності ферментів мохоподібних спостерігалися. Зокрема, простежувалася тенденція до різкого зростання НАДН-глутаматдегідрогенази на техногеннотрансформованій території восени. Така ж тенденція до змін спостерігається на рекреаційній і урбанавантаженій територіях, хоча зміни досить незначні. Протилежна ситуація була на агроавантаженій території, спостерігалася зменшення активності НАДН-глутаматдегідрогенази восени та зростання влітку. Активність НАДФН-глутаматдегідрогенази зростала на усіх досліджуваних територіях.

Глутамінсинтетаза каталізує ключову реакцію асиміляції аміаку, а продукт реакції – глутамін, донор амідної або амінної груп, бере участь у синтезі усіх найважливіших азотовмісних метаболітів клітини. Проведені дослідження показали зміни в активності глутамінсинтетази. Зокрема, простежується значне зростання активності фермента восени на усіх досліджуваних територіях. Глутамінсинтетаза (ГС) вважається головним ферментом азотного обміну оскільки реакція, яка каталізується даним ферментом, з однієї сторони вважається єдиним донором синтезу глутаміну, а з іншої – глутамін є джерелом аміногрупи для біосинтезу клітинних метаболітів [8]. Серед досліджуваних мохоподібних активність ГС була вищою, ніж ГДГ, що визначає її первинність у процесах асиміляції аміаку.

Функція α -оксоглутамат-дегідрогенази полягає у транспорті аміаку, що виділяється у результаті катаболізму амінокислот. α -кетоглутарат — найважливіший переносник аміаку в метаболічних шляхах. Аміногрупи від амінокислот прикріплюються до α -кетоглутарату в реакції трансамінування та переносяться. Дослідження показали, зростання цього ферменту на усіх досліджуваних територіях восени.

Вміст хлорофілу «а» та «b» зростав восени на техногеннотрансформованій та рекреаційній територіях восени, а на урбанавантаженій та агроавантаженій територіях – у червні.

На урбанізованій та аграрній територіях спостерігалася тенденція до зниження активності каротиноїдів протягом осіннього періоду, на техногеннотрансформованій та рекреаційній територіях спостерігалася тенденція до зниження влітку та зростання восени.

Зростання вмісту феопігменту спостерігалася на техногеннотрансформованій та рекреаційній територіях восени, а на урбанавантаженій та агроавантаженій спостерігалася протилежна залежність.

Проведені дослідження свідчать, що активності взаємопов'язаних ферментів організму, які піддаються токсичному впливу, дозволяє оцінювати стан окремих ланок метаболічних ланцюгів, визначати спрямованість обміну речовин та швидкість перетворення потоку інтерметаболітів [3]. Досліджено, що глутаматдегідрогеназа здійснює зв'язування чи виведення аміаку з клітин, а глутамінсинтетаза є допоміжним ферментом у разі активації глутаматдегідрогеназного шляху фіксації аміаку рослинами.

Olha Demkiv¹, Halyna Klepach², Galina Gayda¹, Mykhailo Gonchar¹

¹Department of Analytical Biotechnology, Institute of Cell Biology, Lviv, Ukraine

²Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, Drohobych, Ukraine

e-mail: demkiv@yahoo.com.

METHODS OF FORMALDEHYDE ASSAY IN VACCINES

Abstract. Formaldehyde (FA), the simplest of carbonyl compounds, is found naturally in many living things. FA is considered as toxicogenic or carcinogenic material for both animals and human beings.

In our review we have characterized the known methods for FA analysis in vaccines in comparison with the developed by us enzymatic approaches – spectrophotometric and biosensors. We have reported earlier about the development of simple, highly selective, cost-effective and sensitive methods for FA assay. These enzymatic and biosensor methods proposed by us were based on yeast strains *Hansenula polymorpha* and FA-oxidizing enzymes isolated from these cells. The developed highly sensitive and selective low-cost methods demonstrate low quantification limits, good linearity and acceptable accuracy and reproducibility. These analytical methods were tested on real samples of different human and veterinary bacterial vaccines. A good correlation of results between the developed methods and the standard chemical methods was demonstrated.

Key words: formaldehyde, biosensor, yeast formaldehyde dehydrogenase, recombinant cells, enzymatic assay, vaccines

INTRODUCTION

Until the twentieth century, infectious diseases caused by pathogens (or germs) were the leading cause of death and disability worldwide, and this is still the case in much of the developing world. The human body has natural defences against these in the form of white blood cells (WBC), but in many cases pathogens can overwhelm the body before it has a chance to respond, causing disease and sometimes death. Vaccines work by imitating a specific disease, which prompts the body to mount a defence (an immune response). If the same pathogens enter the body during this period, the body can attack them very quickly and the disease will not develop: the person will be immune. According to the World Health Organization, “the two public health interventions that have had the greatest impact on the world health are clean water and vaccines” [1].

Immunization has played a central role in radically reducing the incidence of many dangerous diseases, and some diseases have been wiped out entirely (e.g. smallpox), or are well on the way to being so (e.g. polio). Vaccines have saved many lives, and will save many more in the future, as new vaccines are developed giving protection against more diseases. For example, notified cases of Diphtheria in the UK were 50 804 in 1941 year. After creation in 1942 year of correspondent vaccine, only 1 post-vaccine case of Diphtheria was registrated in 2014 year [1].

The key ingredient in vaccines is the active ingredient – antigen, isolated from viruses or bacteria, dissolved in water. A few vaccines in the UK schedule are made using recombinant DNA technology (Hepatitis B vaccine, HPV vaccine and part of the MenB vaccine) and genetically modified organisms [1].

Formaldehyde (FA), the simplest of carbonyl compounds, is found naturally in many living things. FA in high concentrations is ubiquitous in the environment and is commonly found in air, water, and industrial products. FA has been used in many industries and consumer products as an antibacterial agent, antiseptic material, fumigant, bactericide, fungicide and insecticide. FA is a potential mutagen and carcinogen in laboratory animal for its serious toxicological properties [2]. FA is highly irritant to mucous membranes. Also, there were toxic- pathological effects of different levels of formalin fed to the broiler chicks [3], the same results in female quills [4]. FA is a potential mutagen and carcinogen in laboratory animal for its serious toxicological properties [2].

FA is considered as a preservative for human and veterinary drugs and biological materials as viral vaccines which contain 0.05% formalin as an inactivating agent [5]. FA usually used in the production of some vaccines to kill unwanted viruses and bacteria that might be found in cultures used to produce vaccines as well as to inactivate toxins from bacteria and viruses (for example, poliovirus, Hepatitis B antigen, and diphtheria and tetanus toxins) [1, 5]. It is possible that tiny traces may remain in the Hepatitis B vaccine (HBVaxPro), one of the Pre-school Booster vaccines (Repevax), and the Teenage Booster vaccine (Revaxis). However, FA breaks down quickly in water (and most of the vaccine is water). The human body produces and uses FA as part of the process of metabolism. The amount of natural FA in a 2-month-old infant's blood (around 1.1 milligrams in total) is ten times greater than the amount found in any vaccine. A pear contains around 50 times more formaldehyde than is found in any vaccine [1].

FA should be added during the vaccine production within permissible limits where incomplete inactivation by FA was the probable cause of the outbreaks of some diseases as FA inactivating Venezuelan equine encephalomyelitis vaccines in central America in 1969-1972 [6] and also vaccines with higher level than the recommended formalin concentration lower hemagglutination inhibition antibody levels (mean depression in immunity) and induce an imbalance in estradiol secretion, resulting in degenerative change in ovarian follicles and uterus. Hence, new H5N1 vaccines with recommended formalin levels are urgently needed where there were rapid drop in egg production and a high culling rate in hens are associated with using four avian influenza (AI) inactivated vaccines [7]. Also, the use of therapeutic dose of formalin as a disinfectant is efficient against many fish infections but their use should be done under strict regulation to avoid its pathological side effects [9].

During vaccine production, several quality control tests are performed to ensure that vaccines have been made under optimal circumstances, at the end of vaccine production process many tests must be done on the bulk product and the final vaccine. Such tests include safety, potency, sterility, identity as well as residual chemical constituents particularly formaldehyde which is used as inactivating agent during manufacture. FA is considered as toxigenic or carcinogenic material for both animals and human beings. Tests have been formulated for each vaccine according to [9-11] which are generally accepted all over the world.

Brandly et al. showed that 0.025% diluted formalin could destroy the infectivity of Newcastle disease virus (NDV) [12]. King evaluated different methods for inactivation of NDV and avian influenza viruses (AIV) [13]. He found that NDV or AIV were inactivated by binary ethyleneimine (BEI) (0.01M) with no adverse effect on haemagglutinating or hemolytic activities. The effect of formalin (0.1%) was variable and depressed HI titres of antisera. Soliman et al. found that binary ethyleneimine, used as inactivating agent for NDV, had no effect on the antigenicity of the virus when used in a concentration of 0.01 or 0.03 M. These results compared favorably with those obtained when using FA solution as an inactivating agent at concentration of 0.1 or 0.2%, which significantly reduced antigenicity of the haemagglutination titer of 1024 to that of 32. The widespread use of FA and the reports of adverse effects have created the need for specific, sensitive and simple method for its determination.

Many instrument-based techniques have been applied for quantitative analysis of FA in vaccine. A lot of methods for the determination of FA have been reported, which include classical spectrophotometry [14-19], high-performance liquid chromatography (HPLC) [20-22], gas chromatography (GC) [21, 22], mass spectrometry (MS), and combination of these methods (GC-MS), GC-flame ionization detection [23], fluorimetry [23-24], polarography [25] and portable FA sensors based on spectrometric [26, 27] and electrochemical [28, 29] principles. Various chromogenic agents, such as chromotropic acid, pararosaniline, 4-amino-3-pentene-2-one (Fluoral-P), acetylacetone, 4-amino-5-hydrazine-3-mercapto-1,2,4-triazole (AHMT) and 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone (MBTH) have been used. AHMT-method [30] and MBTH-method [31] are getting popular due to their higher sensitivity compared to other methods.

Only a few works can be found where FA is directly determined without any previous derivatization reaction [23]. In general, derivatization reactions are normally used for the determination of this compound. A variety of reagents such as 2,4-dinitrophenylhydrazine, chromotropic acid, 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone, pararosaniline, 2-diphenylacetyl-1,3-indandione-1-hydrozone, dimedone and lutidine have been employed to chemically modify FA [23].

One of the most important methods for the determination of FA is the lutidine method, which uses the Hantzsch reaction to derivatize FA to 3,5-diacetyl-1,4-dihydro 2,6-dimethylpyridine, also called 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine (DADHL). This method is relatively simple, rapid and sensitive [23].

Gaseous FA was sampled by derivatization with *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) adsorbed onto poly (dimethylsiloxane)/divinylbenzene SPME fibers. The oxime product was analyzed by GC [23].

To achieve the necessary levels of sensitivity, an enrichment step is needed prior to the chromatographic analysis [32, 33].

Supercritical fluid extraction and solid-phase microextraction are the most commonly used techniques for extraction of FA [23, 32-34]. Recently, a solvent-minimized sample pretreatment procedure has gained lots of attentions of extraction and injection in a microsyringe, making it possible to employ this miniaturized medium for extraction as well as an injection device for the GC. This methodology is not only fast and inexpensive, but also needs only common laboratory equipment. Due to the need for small volume of solvent, there is minimal exposure to toxic organic solvents.

An immersed single drop microextraction (SDME) method was successfully developed for the trace enrichment of FA from DTP and DT vaccines and diphtheria–tetanus antigen [23]. The FA was derivatized by means of the Hantzsch reaction. The dehydropyridine derivative was extracted into a microdrop of chloroform that suspended in a 4ml sample solution for a preset time. The microdrop was then retracted into the microsyringe and injected directly into a gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) injection port. Effects of different parameters such as the type of solvent, extraction time, stirring rate, and temperature were studied and optimized. The limit of detection was 0.22ng/l and relative standard deviation (RSD) value was 6.2% (n=5). The regression coefficient was satisfactory ($r^2 = 0.992$) and linear range was obtained from 1 to 500 ng/l.

As an attractive choice to the classical methods, the electrochemical analytical approaches, such as ion-selective electrodes, biosensors, polarography, and other voltammetric techniques are also extensively used for FA assay. The corresponding instruments, being rather simple, inexpensive, and portable, are attractive for real-time measuring for online and continuous analysis of real samples, including vaccines.

Thus, the lot of known chemical and physico-chemical methods for FA assay in vaccines are widely used now. However, these approaches, being highly sensitive and accurate, have a number of disadvantages. These analytical methods are time-consuming, expensive, require special skills and show limited capability for real-time measurements. Analysis of literature data suggests that the further development of novel valid methods of quantitative analysis of FA for clinical diagnostics and industry is the important task of analytical chemistry. Promising tools for elaboration of such methods are microbial enzymes, especially, recombinant. We have reported earlier about the development of simple, highly selective, cost-effective and sensitive methods for FA assay in vaccine. These enzymatic and biosensor methods proposed by us were based on yeast strains *Hansenula polymorpha* and FA-oxidizing enzymes isolated from these cells [35].

The aim of our manuscript is to characterize the known methods for FA analysis in vaccines in comparison with the developed by us enzymatic approaches.

RESULTS AND DISCUSSION

The strains of *H. polymorpha* that over-produce formaldehyde dehydrogenase

The cells of the thermotolerant methylotrophic yeast *H. polymorpha* (*Ogatae polymorpha*), as well as FA-oxidizing enzymes isolated from these cells, were employed as the catalytic

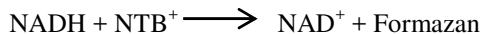
elements in the development of enzymatic methods for FA detection by analytical kits and biosensors [35]. Recombinant yeast strains originating from NCYC 495 (*leu1-1*) and CBS 4732 *H. polymorpha* (*leu2-2*) that are resistant to elevated concentrations of FA in the medium and over-produce a thermostable homologous NAD and glutathione dependent formaldehyde dehydrogenase (FdDH) were constructed.

The stable recombinant strains Tf 11-6, originating from *leu1-1*, have the highest FdDH activity (up to 4.0 U mg⁻¹) in CE, being cultivated in a medium with 1% methanol and added FA. This value is a 4-5 fold increase compared with the parent strain. Tf 11-6 was thus characterized and chosen as a source of FdDH [36, 37].

The simple schemes for isolation of FdDH [37, 38] from the corresponding over-producing yeast cells and chromatographic purification of enzymes on anion-exchange sorbent were proposed, resulting in electrophoretically homogeneous enzyme preparations.

Enzymatic method for detection of FA

The enzymatic methods and analytical kits for the FA assay were developed based on FdDH [37-40]. In methylotrophic yeasts, FdDH catalyzes the oxidation of FA to formic acid under simultaneous reduction of NAD⁺ to NADH. The proposed enzymatic method is based on the photometric detection of a colored product, formazan, which is formed from nitrotriazolium blue in a reaction coupled with FdDH-catalyzed oxidation of FA in the presence of an artificial mediator, PMS [37, 39].



The enzymatic kit “Formatest” was developed on the base of these reagents. The assay was performed in conditions of incomplete conversion of the analyte (approximately, 10 %), using a limited concentration of the enzyme (23 mU/ml) in the reaction mixture. These conditions are economic and reasonable, because of the high FA content in the tested samples. Under conditions of complete oxidation of FA (excess of the enzyme), assay sensitivity was determined to be 2.5 μM (in final reaction mixture) or 20 μM in the tested samples.

The analytical parameters of the FdDH-based method have been determined in comparison with enzymatic alcohol oxidase–peroxidase-based method (AOP-method) and several chemical methods based on the use of Nash’s reagent, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole (Purpald), chromotropic acid and 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride (MBTH). It was clearly shown, that AOP-method has the highest sensitivity. The slope of the corresponding calibration curve is equal 59.3, corresponding to an apparent millimolar extinction of the formed colored product (in mM⁻¹ cm⁻¹). Actually, the observed slope value equals the millimolar extinction coefficient (ε_{mM}) multiplied by conversion factor for the enzymatic reaction (k) (Slope = ε_{mM} × k). The value of ε_{mM} for the oxidized TMB is equal 81.7 mM⁻¹ cm⁻¹ [41], so the conversion coefficient of the analyte for AOP-method at the used experimental conditions is 72.6 %. For the FdDH-based method, conversion factor of the analyte is 32.9 %, assuming a millimolar extinction for NTB-formazane as 10.2 mM⁻¹ cm⁻¹ at 570 nm in acidic medium. The linearity of calibration curve for AOP-method is kept even at high optical densities – up to 0.9 which corresponds to 15 μM FA in final reaction mixture, and the threshold sensitivity of the method is about 0.8 nmol ml⁻¹. These analytical parameters are the best as compared to four chemical methods, even with the use of MBTH or Purpald (Tab. 1).

FdDH-based method reveals linearity (at enzymatic conversion above 33 %) at least to 100 μM FA, and its sensitivity is close to Nash’s method (the corresponding slopes are 3.36 and 4.46, respectively). Compared to AOP-method, sensitivity of FdDH-based-method is 18-fold less, but the developed FdDH-based method is highly selective, low-cost and rather simple – there are no pre-treatment steps (derivatization, concentration et al.) for sample’s preparation.

The FdDH-based method was tested on different FA-containing vaccines [44, 45]. As shown in Table 2, the comparison of FA concentration obtained by the FdDH based method and by two routinely used chemical ones, showed a good correlation between both approaches. Lower levels of FA in anti-diphtheria vaccines, obtained using the enzymatic method as compared to the

chemical methods may be due to the inhibitory effect on the enzyme by the Hg-containing compound, 0.01% merthiolate, a vaccine preservative.

Table 1. Comparison spectrophotometric methods of detection FA

| Method /reference | | λ_{\max} , nm | ϵ , mM ⁻¹ cm ⁻¹ | Detection limit, μ M | Linear range, mM | Stability of color, h | Assay time, min |
|-------------------|----------------------------|-----------------------|--|--------------------------|------------------|-----------------------|-----------------|
| Enzymatic | FdDH [39] | 570 | 3.4 | 7 | 0.01-0.05 | >8 | 15 |
| | FdDH with diaphorase [39] | 500 | 11.0 | 1.7 | till 0.1 | – | 21 |
| | AOX [41] | 450 | 81.7 | 0.75 | 0.0025-0.015* | >5 | 20 |
| Chemical | MBTH [42] | 670 | 65.0 | 0.75 | 0.0025-0.01 | >40 | 30 |
| | Chromotropic acid [39, 41] | 578 | 15.7 | 3 | 0.005-0.05 | >24 | 30 |
| | Purpald [43] | 548 | 28.2 | 1.5 | till 0.03 | - | 20 |

* - Linear range at full oxidation

Table 2. Comparison of FA assay methods in the different vaccines

| Vaccine/Method | Concentration FA, mg/L or **g/L | | | |
|---|---------------------------------|-------------------|-----------|-----------|
| | Enzymatic | Chemical | | |
| | FdDH-based | Chromotropic acid | MBTH | Purpald |
| Anti-diphtheria | *15±2.5 | 36±1.4 | 31±2.0 | 36±2,0 |
| Anti-diphtheria and tetanus | *17±1.9 | 27±2.0 | 29±2.7 | – |
| Polio-vaccine "Imovax" | 30±3.0 | 27±2.6 | – | – |
| Tetanus | 10.2±0.6 | 9.0±0.2 | 12.0±0.2 | – |
| **Rabbit vaccine against viral hemorrhage | 1,26±0,12 | 0,87±0,15 | 1,14±0,09 | 1,29±0,05 |
| Against hepatitis B | 0 | 0 | 0 | 0 |

*- the differences between enzymatic method and chemical approaches are reliable ($p < 0,07$)

FdDH- and cells-based amperometric biosensors for FA-monitoring in vaccines

The recombinant yeast cells Tf 11-6 *H. polymorpha* and FdDH isolated from these cells were used as biorecognition elements of amperometric biosensors. In the physiological electrontransfer pathway, electrons are transferred from FA via intermediate G-SH to the active centre of FdDH with the simultaneous reduction of NAD⁺ to NADH. To design an electrontransfer pathway for the immobilised FdDH as a bioselective element of the sensor, the enzymatically generated NADH has to be re-oxidised additionally at the electrode surface using a suitable redox mediator. The best mediators for enzyme biosensors were shown to be positively charged cathodic electrodeposition paints modified with Os-bis-N,N-(2,2'-bipyridil)-dichloride ([Os(bpy)₂Cl₂]) complexes[46]. At the same time, the polymer layer served as a matrix for keeping the negatively charged low-molecular cofactors, GSH and NAD⁺, within the bioactive layer. In cells-based biosensors phenazine methosulfate (free-diffusing redox mediator, PMS) exhibited the best electron transfer characteristics [38, 40, 44].

For construction of the envisaged FA biosensor, it was proposed a sophisticated sensor architecture with the aim of securely fixing all sensor components in a bioactive layer onto the transducer surface. Especially, the sensor architecture was designed to prevent any leakage of the low-molecular and free-diffusing cofactors of the enzyme, thus enabling FA determination without the addition of the cofactors to the analyte solution [38, 40]. In the optimized biosensor's construction, platinised graphite electrode, with 3.05 mm diameter, was used as a transducer and $[\text{Os}(\text{Me}_2\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$ -modified positively charged cathodic paint *ICPOs* was found to be the best redox mediator, as well as a good matrix for enzyme or cells electrodeposition and for holding enzyme's co-factors, GSH and NAD, in a bioactive layer. Covering of the bio-layer by a negatively charged Nafion membrane additionally prevented the leakage of cofactors and enhanced sensor's stability.

Bioanalytical characteristics of the constructed biosensors were studied in detail: kinetics, dynamic and linear range, selectivity, and effect of temperature on sensor output (Table 3). For the enzyme-based biosensor, the maximum current value was $250 \pm 5.25 \mu\text{A}$ and the apparent Michaelis-Menten constant (K_{Mapp}), derived from the FA calibration curves, was $120 \pm 5.3 \text{ mM}$ with a linear detection range for FA up to 20 mM. For the cell-based biosensor, the maximum current value was $1.07 \pm 0.04 \mu\text{A}$, and K_{Mapp} was $20.1 \pm 1 \text{ mM}$ with a linear detection range for FA up to 8 mM. The optimal pH-value for the developed biosensors was in the range of 7.6 to 8.3 with an optimal temperature between 45-50 °C [38], due to a higher thermostability of the enzyme used, and thermotolerance of recombinant yeast cells. The bioanalytical properties of the developed biosensors were evaluated with the specific aim of improving the long-term operational stability of the sensor. The novel biosensors demonstrated a good sensitivity, high selectivity to FA and a good stability. A typical response of the developed *ICPOs-NAD⁺-FdDH*-modified electrodes towards FA. K_{M} values for FA, obtained by using intact- and permeabilized recombinant cells-based biosensors, are similar, but I_{max} value for the intact-cell-based sensor is 2-fold higher than for the sensor with permeabilized cells.

Table 3 represent a brief summary of the published results on the developed microbial and enzyme-based FA biosensors. The amperometric biosensors, enzyme- and cell-based, work at a very low applied potential, As can be seen from Tables 3 *FdDH*-based biosensors, have high storage stability. Such excellent stability is intrinsic for cell-based sensors, too. Both amperometric *FdDH*- and cells *Tf 11-6* based biosensors are very sensitive to low FA concentrations [35, 40, 44, 47]. *FdDH*-based biosensors have very important property for FA analysis in real samples – high selectivity to FA, compared with *AOX*-and cells-based sensors [38].

Table 3. Comparison of cells-based and enzyme-based FA-sensitive biosensors.

| Characteristics | FdDH-based | Cells <i>H. polymorpha Tf 11-6</i> | | |
|---|---|------------------------------------|--|---------------|
| | Mono-enzyme | Intact | | Permeabilized |
| Applied potential (mV) | +200 | +200 | 0 | 0 |
| Mediator | <i>CP58-Os</i> | <i>CP58-Os</i> | PMS | PMS |
| Detection limit, mM | 0.003 | 0.003 | 0.11 | 0.5 |
| Linear range, mM | up to 20.0 | 0.5-6.0 | 0.25-8.0 | 1.0-2.5 |
| I_{max} , μA | 250 | | | |
| Sensitivity | $358 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{M}^{-1}$ | $2.65 \mu\text{A} \text{ mM}^{-1}$ | $37.5 \text{ nA} \cdot \text{mM}^{-1}$ | - |
| Storage stability (up to 50 % activity), days | 3 | 16 | 20 | 7 |
| Reference | [40] | [40, 44] | | |

DCIP - 2,6- dichlorophenolindophenol; PMS - phenazine methosulfate

The constructed reagentless amperometric FdDH-based biosensor with an architecture FdDH-based sensors ($2CPOs-NAD^+-FdDH-GSH-Nafion$) and cells-based sensors ($2CPOs-NAD^+-FdDH-GSH-Nafion$) was evaluated to determine FA content in different vaccines: ADT-M (anti-diphtheria and tetanus), rabbit vaccine against viral hemorrhage, Polio-vaccine Imovax using the multiple standard addition method. Results of such analysis are presented in Fig. 1 and Table 4. As we can see from fig. 1, the proposed methods, approved on the real FA-containing samples, are well correlated with the results of the known chemical methods and FdDH-based analytical kit “Formatest” [39].

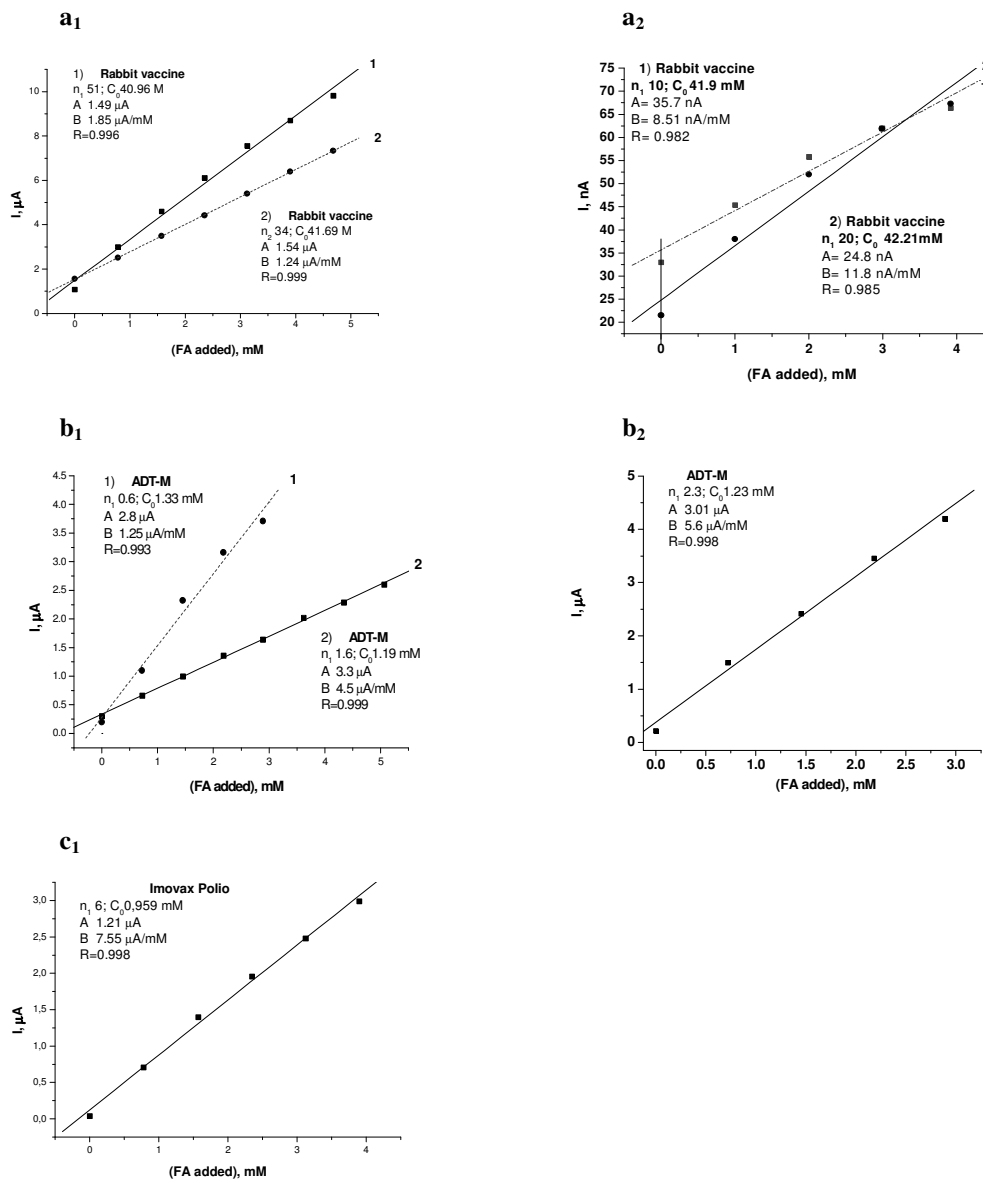


Fig. 1. Calibration curves for standard additions test for FdDH-based sensors ($2CPOs-NAD^+-FdDH-GSH-Nafion$) (a₁, b₁, c₁) and cells-based sensors ($2CPOs-NAD^+-FdDH-GSH-Nafion$) (a₂, b₂, c₂) in analysis of vaccines: a – rabbit vaccine against viral hemorrhage; b –

polio-vaccine Imovax; c – vaccine ADT-M (anti-diphtheria and tetanus). (A, B – parameters of linear range, n – dilution, C – concentration).

Table 4. FA content in real samples determined by different methods: chemical (MBTH, Purpald, Chromotropic acid) and biosensor approaches (FddH-based and recombinant cells- based sensors)

| Sample/Method | Formaldehyde concentration, mM | | | | | |
|--|--------------------------------|------------|-------------------|------------------------|-------------|---------------------------|
| | Chemical methods | | | Amperometric biosensor | | FddH-based analytical kit |
| | MBTH | Purpald | Chromotropic acid | FddH-based | Cells-based | “Formatest” |
| Vaccine ADT-M (anti-diphtheria and tetanus) | 1.02±0.07 | 1.24±0.08 | 1.19±0.2 | 1.23±0.07 | 1.33±0.09 | 0.57±0.09* |
| Rabbit vaccine against viral hemorrhage | 37.88±3.1 | 43.07±2.41 | 29.45±4.83 | 41.29±0.5 | 42.06±0.1 | 0.04±0.09 |
| Polio-vaccine Imovax | - | - | 0.89±0.01 | 0.96±0.08 | - | 1±0.09 |

*- the differences between enzymatic method and chemical approaches are reliable (p<0,07)

It is clearly seen from the Fig. 1, that interfering effect of real sample components is observed for all vaccines, but in different extent. The maximal interfering effect is observed for ADT-M, less - for rabbit vaccine, that follows from the slope values for calibration curves obtained on the background of real samples in different dilutions: for ADT-M a difference is 72,2 % (4.5 and 1.25 for dilutions 1.6 and 6, respectively), for rabbit vaccine – 32.97 % (1.85 and 1.24 for dilutions 51 and 34, respectively). For all analysed vaccines, a good correlation was observed between the biosenor’s approaches and chemical methods (if the standard additions method is performed) (see Table 4). Cells-based biosensor with an architecture *2CPOs-NAD⁺-Tf 11-6* -GSH-Nafion was approved on rabbit vaccine. Interfering effect make up – 86.1 % (0.85 and 0.118 for dilutions 10 and 21, respectively) (Fig 1).

So, new amperometric biosensors using FddH isolated from the gene-engineered methylotrophic yeast *H. polymorpha* and parental recombinant cells with a high content of FddH were developed. The best variants of the constructed amperometric FddH- and recombinant cells-based biosensors and FddH-based method (“**Formatest**”) were tested in analysis of real samples of vaccines. A good correlation was observed between the biosensors’ and chemical methods. As shown in Table 4, the comparison of FA concentration obtained by the FddH-based method and by two routinely used chemical ones, showed a good correlation between approaches. Lower levels of FA in anti-diphtheria vaccines, obtained using the enzymatic method as compared to the chemical methods may be due to the inhibitory effect on the enzyme by the Hg-containing compound, 0.01% merthiolate, a vaccine preservative.

CONCLUSION

The known instrument-based techniques for analysis of FA in vaccine are laborious, not enough selective and specific, and are still unavailable at the world market place. To solve this problem, we have developed novel enzymatic and biosensor approaches for FA assay based on NAD⁺- and glutathione- dependent FddH and parental recombinant yeast cells. The developed

highly sensitive and selective low-cost methods demonstrate low quantification limits, good linearity and acceptable accuracy and reproducibility. These analytical methods were tested on real samples of different human and veterinary bacterial vaccines. A good correlation of results between the developed methods and the standard chemical methods was demonstrated.

Acknowledgements This work was financially supported by the MES of Ukraine, NAS of Ukraine (Project 6/1-2016).

REFERENCES

1. <http://vk.ovg.ox.ac.uk/vaccines>
2. Liteplo R. G., Beauchamp R., Meek M. E., Chénier - Geneva R., 2002. Concise International Chemical Assessment Document 40. World Health Organization, Geneva.
3. Babar A. M., Khan M. Z., Shabbir A., Khan A., Bachaya H. A., Anwar M. I., 2001. Toxicopathological Effects Of Formalin (37% Formaldehyde) Feeding In Broiler Chicks.
4. Khan A., Bachaya H. A., Khan M. Z., Mahmood F., 2005. Pathological effects of formalin (37% formaldehyde) feeding in female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Human & Experimental Toxicology*, 24, 415-422.
5. Lewis B., 1998. Formaldehyde in dentistry: a review for the millennium. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 22, 2, 167-177.
6. Martinod S., 1995. Risk assessment related to veterinary biologicals: side-effects in target animals. *Rev Sci Tech.* 14 (4), 979-989.
7. Meng Di, Hui Z., Yang J., Yuan J., Ling Y., He C., 2009. Reduced Egg Production in Hens Associated With Avian Influenza Vaccines and Formalin Levels. *Avian Diseases: March 2009*, 53, 1, 16-20.
8. Nouh W. G., Selim A. G., 2013. Toxopathological Studies on the Effect of Formalin and Copper Sulphate in Tilapia as A Commonly Used Disinfectant in Aquaculture, *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 3 (6), 7-20.
9. British Pharmacopoeia (2012). Published by The Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), London. 4, 3631- 3632.
10. European Pharmacopoeia, 1997. Residual Formaldehyde. 3rd ed. Published in accordance with the convention on the Elaboration of a European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strasbourg 2, 4, 18, 55-56.
11. Quality Control of Vaccines, 1983. Rijksinstituut Voor Volksgezondheid En Milieuhygiene Bilthoven. The Netherlands. Egypt. Org. Biol. Prod. Vaccines Library. Agouza, Giza, Egypt.
12. Brandly C. A., Moses M. E., Jones E. E., Jungherr E. L., 1946. Immunization of chickens against ND. *Amer. J. Vet. Res.* 7, 307-332.
13. King, D. J., 1991. Evaluation of different methods of inactivation of NDV in egg fluid and serum. *Avian Dis.* 35, 505.
14. Gayathri N., Balasubramanian N., 2000. Spectrophotometric determination of FA. *Analyt. Lett.*, 33 (14), 3037-3050.
15. Lancaster D. G., Fried A., Wert B., Henry B., Tittel F.K., 2000. Difference- frequency-based tunable absorption spectrometer for detection of atmospheric formaldehyde. *Appl. Opt.* 39, 4436-4443.
16. Ross P.F., Draayer H., Itoh O., 2002. In international collaborative study on a method for determination of formaldehyde in veterinary vaccines. *Biologicals* 30, 37-41.
17. Standard Method for Indoor Air Quality Measurement, 2002. GB/T 18883-2002, Chinese Standardization Administration of China.

18. Mason D. J., Sykes M. D., Panton S. W., Rippon E. H., 2004. Determination of naturally occurring formaldehyde in raw and cooked mushrooms by spectrophotometry. *Food Addit. Contam.* 21, 1071-1082.
19. Sandner F., Dott W., Hollender J., 2001. Sensitive indoor air monitoring of formaldehyde and other carbonyl compounds using the 2,4- dinitrophenyl hydrazine method. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 203, 275- 279.
20. Possanizi M., DiPola V., 2003. Simultaneous determination of formaldehyde in ambient air by hydrazine reagent and HPLC *Ann. Chem.* 9, 149-156.
21. Pierotti D., 1990. Analysis of trace oxygenated hydrocarbons in the environment. *J. Atmos. Chem.*, 10, 373.
22. Nondek L., Milofsky R. E., Birks J. W., 1991. Determination of carbonyl compounds in air by HPLC using on-line analyzed microcartridges, fluorescence and chemiluminescence detection, *Chromatographia* 32- 33.
23. Bagheri H., Ghambarian M., Salemi A., Haghi A. E., 2009. Trace determination of free formaldehyde in DTP and DT vaccines and diphtheria–tetanus antigen by single drop microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 50, 287–292.
24. Li Q., Oshima M., Motomizu S., 2007. Flow-injection spectrofluorometric determination of trace amounts of formaldehyde in water after derivatization with acetoacetanilide. *Talanta* 72, 1675.
25. Zhang Z. Q., Zhang H., He Z., 2002. Preconcentration with membrane cell and adsorptive polarographic determination of formaldehyde in air. *Talanta*, 57, 317.
26. Toda K., Yoshioka K., Mori K., Hirata S., 2005. Portable system for near-real time measurement of gaseous formaldehyde by means of parallel scrubber stopped-flow absorptiometry. *Anal. Chim. Acta* 531, 41.
27. Zhao C., Li M., Jiao K., 2006. Determination of formaldehyde by staircase voltammetry based on its electrocatalytic oxidation at a nickel electrode. *J. Anal. Chem.* 61, 1204.
28. Kawamura K., Kerman K., Fujihara M., Nagatani N., Hashiba T., Tamiya E., 2005. Development of a novel hand-held formaldehyde gas sensor for the rapid detection of sick building syndrome. *Sens. Actuators B*, 105, 495.
29. Campanella L., Battilotti M., Dragone R., Mevola I., 2006. Suitable solid state chemical sensor for HCHO determination. *Int. J. Environ. Pollut.* 27, 313.
30. Qoesenberry M.S. and Y.C. Lee, 1996. A rapid formaldehyde assay using purpald reagent: Application under periodation conditions. *Anal. Biochem.* 234, 50.
31. Pereira E. A., Dasgupta P. K., 1997. Measurement of atmospheric formaldehyde using a drop collector and in-situ colorimetry. *Int. Environ. J. Anal. Chem.* 66, 201-214.
32. Afkhami A., Bagheri, H., 2012. Preconcentration of trace amounts of formaldehyde from water, biological and food samples using an efficient nanosized solid phase, and its determination by a novel kinetic method. *Microchim. Acta* 176, 217.
33. Safari M., Yamini Y., Tahmasebi E., Latifeh F., 2015. Extraction and preconcentration of formaldehyde in water by polypyrrole-coated magnetic nanoparticles and determination by high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 38, 3421–3427.
34. El-Maghraby A. S., Ali. A. E. H. M, 2015. Sensitivity of Different Methods Used In Determination of Formalin Residues in Inactivated Veterinary Vaccines. *Global Veterinaria* 14 (4), 546-552.
35. Sibirny V., Demkiv O., Sigawi S., Paryzhak S., Klepach H., Korpan Y., Smutok O., Nisnevich M., Gayda G., Nitzan Y., Puchalski C., Gonchar M., (2011). Formaldehyde Oxidizing Enzymes and Genetically Modified Yeast *Hansenula polymorpha* Cells in Monitoring and Removal of Formaldehyde. In: *Waste Water - Evaluation and Management* (ed. F. S. G. Einschlag), ISBN 978-953-307-233-3. InTech Open Access Publisher, Rijeka, Croatia, Ch. 6, pp. 115-54.

36. Demkiv O. M., Paryzhak S. Ya., Krasovs'ka E. S., Stasyk O. V., Gayda G. Z., Sibirny A. A., Gonchar M. V., 2005. Construction of methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* strains overproducing formaldehyde dehydrogenase. *Biopolymers and cell* 21(6), 525-30 (in Ukrainian).
37. Demkiv O. M., Paryzhak S. Ya., Gayda G. Z., Sibirny V. A., Gonchar M. V., 2007. Formaldehyde dehydrogenase from the recombinant yeast *Hansenula polymorpha*: isolation and bioanalytic application. *FEMS Yeast Research* 7, 1153-9.
38. Gayda G., Demkiv O., Paryzhak S., Gonchar M., 2008. Recombinant formaldehyde dehydrogenase and gene-engineered methylotrophic yeasts as bioanalytical instruments for assay of toxic formaldehyde. In: *Algal Toxins: Nature, Occurrence, Effect and Detection*. Evangelista, V., et al. (Ed.). pp. 311-333. Series: NATO Science for Peace and Security. VIII, ISBN: 978-1-4020-8478-2.
39. Demkiv O. M., Gayda G. Z., Gonchar M. V., 2009. An enzymatic method for formaldehyde assay based on formaldehyde dehydrogenase from the recombinant yeast *Hansenula polymorpha*. *Ukr. biochem. J.* 81 (6), 111-20 (in Ukrainian).
40. Demkiv O., Smutok O., Paryzhak S., Gayda G., Sultanov Y., Guschin D., Shkil H., Schuhmann W., Gonchar M., 2008. Reagentless amperometric formaldehyde-selective biosensors based on the recombinant yeast formaldehyde dehydrogenase. *Talanta* 76 (4), 837-46.
41. Gonchar M. V., Grabek D., Oklejewich B., Pavlishko H. M., Shamlan O. V., Sybirny V. A., Kotylak Z., Rudke K., Rudke K., Csoregi E., Sibirny A. A., 2005. A new enzymo-chemical method for simultaneous assay of methanol and formaldehyde. *Ukr. Biochem. J.* 77 (3), 146-54.
42. Sawicki E., Hauser T.R., Stanley T.W., Elbert W., 1961. The 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone test. Sensitive new methods for the detection, rapid estimation, and determination of aliphatic aldehydes. *Anal. Chem.* 33, 93-96.
43. Avigad G., 1983. A simple spectrometric determination of formaldehyde and other aldehydes: application to periodate oxidized glycerol systems. *Anal. Biochem.* 134 (2), 499-504.
44. Paryzhak S., Demkiv O., Schuhmann W., Gonchar M., 2008. Intact recombinant cells of the yeast *Hansenula polymorpha*, over-producing formaldehyde dehydrogenase, as the sensitive bioelements for amperometric assay of formaldehyde. *Sensor Electronics and Microsystems Technologies (Ukraine)*. 2, 28-38.
45. Paryzhak, S., Demkiv, O., Gayda, G., Sibirny, V., Schuhmann, W., Gonchar, M., 2007. Enzyme- and cells-based biosensors for assay of formaldehyde in vaccines, *Proc. 2nd Polish-Ukrainian Weigl Conference "Microbiology in the XXI century"* (Warsow, 24-26 September, 2007), 170-173.
46. Ngounou B., Neugebauer S., Frodl A., Reiter S., Schuhmann W., 2004. Combinatorial synthesis of a library of acrylic acid-based polymers and their evaluation as immobilisation matrix for amperometric biosensors. *Electrochim. Acta.* 49, 3855-3863.
47. Smutok O., Ngounou B., Pavlishko H., Gayda G., Gonchar M., Schuhmann W., 2006. A reagentless bienzyme amperometric biosensor based on alcohol oxidase/peroxidase and an Os-complex modified electrodeposition paint. *Sensors Actuators B: Chem.* 113 (2), 590-8.

АНОТАЦІЯ

МЕТОДИ АНАЛІЗУ ФОРМАЛЬДЕГІДУ У ВАКЦИНАХ

Формальдегід (ФА), найпростіша з карбонвмісних сполук, є звичайним метаболітом багатьох живих істот. ФА розглядається як токсигенна чи канцерогенна сполука для тварин і людини. Організм людини продукує і використовує ФА у невеликих кількостях, як метаболіт обміну речовин. ФА, як правило, використовується у виробництві деяких вакцин

для знешкодження небажаних вірусів і бактерій, які можуть бути в культурах, що використовуються для виробництва вакцин, а також для інактивації токсинів бактерій і вірусів. Ключовим інгредієнтом вакцин є активна речовина – антиген, виділений з вірусів чи бактерій, а також з генетично модифікованих організмів.

У процесі виробництва вакцин, проводиться кілька тестів контролю якості з метою забезпечення того, щоб вакцини були виготовлені з якісних реактивів та за оптимальних умов, а у в кінці процесу – і самої вакцини. Такі тести перевіряють вакцини на безпечність, ефективність, стерильність, ідентичність, а також на залишкові хімічні компоненти, особливо ФА, який використовується для інактивації агента. Тести розроблено для контролю кожної вакцини відповідно до вимог світових стандартів.

Для аналізу ФА у вакцинах на даний час широко використовується багато відомих хімічних і фізико-хімічних методів. Проте, ці підходи, будучи і чутливими, і точними, мають низку недоліків. Ці аналітичні методи потребують значних затрат часу, складного обладнання, спеціальних навичок виконавців аналізу, мають обмеження для вимірювань у режимі реального часу і часто є високо вартісними. Аналіз даних літератури показує, що подальший розвиток нових методів кількісного аналізу ФА для клінічної діагностики та промисловості є важливим завданням аналітичної хімії. Перспективними інструментами для розробки таких методів є ферменти мікроорганізмів, зокрема, рекомбінантних.

У нашому огляді ми охарактеризували відомі методи аналізу ФА у вакцинах порівняно з розробленими нами ферментативними підходами – спектрофотометричним і біосенсорним. Ми повідомляли раніше про розробку відносно простих і високочутливих методів аналізу ФА. Ці методи, ферментативні і біосенсорні, базувались на ФА-окислювальних ферментах, виділених з клітин метилотрофних дріжджів *Hansenula polymorpha*. Розроблені нами методи є високоселективними, економічно ефективними, швидкими, вони демонструють високу надійність, правильність і точність результатів. Описані аналітичні методи були апробовані на реальних зразках різних бактеріальних вакцин людини і тварин. Нами продемонстрована висока кореляція результатів між розробленими і стандартними методами хімічного аналізу ФА у вакцинах.

Зоя Селюніна

Чорноморський біосферний заповідник НАН України

e-mail: scirtopoda@gmail.com

ДИНАМІКА ЧИСЕЛЬНОСТІ МАЛОЇ БІЛОЗУБКИ (*CROCIDURA SUAVEOLENS*) НА ДІЛЯНКАХ ЧОРНОМОРСЬКОГО БІОСФЕРНОГО ЗАПОВІДНИКА

Анотація. Мала білозубка (*Crocidura suaveolens*, Pallas, 1811) – фоновий вид дрібних ссавців всіх ділянок заповідника, як лісостепових, так й приморських. Популяції землерийок мають значні коливання чисельності, які корелюють зі змінами деяких погодних факторів. За результатами багаторічного моніторингу стану популяцій встановлено, що динаміка чисельності *C. suaveolens* має визначений часовий інтервал. За останні 40 років були визначені короткочасний та двадцятирічний цикл коливань чисельності. Короткочасний цикл характерний для всіх дрібних ссавців. Часовий крок цього циклу складає у землерийок 2-4 роки. Амплітуда коливань не перевищує 0.5-1.2 облікових одиниць. Піки двадцятирічного циклу відмічені у землерийок в 1989 та 2009 роках. Максимальна амплітуда значень чисельності в цьому циклі від 2.2 до 5 облікових одиниць.

Висока біотопічна та екологічна пластичність цього виду визначає піонерну роль малої білозубки в гідрогенних сукцесіях, при яких чисельність землерийки зростає в десятки разів без залежності від періоду циклу динаміки чисельності популяції.

Ключові слова: коливання чисельності, погодні фактори, короткочасний цикл, двадцятирічний цикл, амплітуда коливань.

ВСТУП

Дрібні ссавці – основний компонент теріофауни будь-якого природного комплексу. Особливості біології видів цієї групи: - біотопічна приуроченість, - невелика площа індивідуальної ділянки, - незначна протяжність добових та сезонних переміщень; визначають її цінність як об'єкту моніторингу. Багаторічний моніторинг за програмою Літопису природи, що проводиться в Чорноморському біосферному заповіднику, дає змогу визначити природну динаміку чисельності дрібних ссавців та її зв'язок із дією абіотичних факторів. Динаміка чисельності дрібних ссавців, зокрема землерийок, є однією з характеристик стану фауністичного комплексу.

МІСЦЕ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилися на території 5 суходільних ділянок Чорноморського біосферного заповідника, на острові Тендрівська коса. Три лісостепові ділянки заповідника розташовані на аренах Нижнього Дніпра. Тут представлений піщаний лісостеп з дубовими, березовими, осиковими гайками (колками) з чагарниками, з вологими пониженнями (сагами) та з піщаним степом, що складає більш 70% площі цих ділянок. На двох приморських ділянках заповідника представлений приморський степ з солонцями та луговинами, очеретяними заростями та подами. Низинні фрагменти приморського степу часто заливаються як солоними водами в наслідок згінно-нагінних явищ, так й прісними за рахунок атмосферних опадів [15].

Більшість біотопів на заповідних ділянках мають стрічкову конфігурацію, тому для обліку землерийок перевагу було надано методу пастко-ліній [9, 18]. Використовувалися методи відлову, які є загально визнаними, що дозволяє проводити порівняльний аналіз їх результатів з іншими регіонами. За результатами обліків визначається відносна чисельність в кількості особин на 100 пастко-діб (ос./100 пастко-діб). Щорічні обсяги цих обліків

складають - на лісостепових ділянках не менш 1000 пастко-діб, на приморських ділянках – не менш 600 [13].

Мала білозубка (*Crocidura suaveolens*, Pallas, 1811. *Soricidae*, *Insectivora*) [7, 8] – широко поширений в регіоні вид, фігурант всіх наявних з початку ХХ ст. видових списків ссавців півдня України [1, 3, 4, 5, 6, 11]. Еврїботність, відносна стабільність чисельності, відсутність статусу рідкості обумовили вибір цього виду одним з фонових модельних видів дрібних ссавців заповідника [12, 14, 20, 10].

БІОТОПІЧНИЙ РОЗПОДІЛ

Особливості біотопічного розподілу землерийок на заповідних ділянках пов'язані з різноманіттям біотопів, що представлені в заповіднику. В заповідному лісостепу розподіл мікромамалій носить мозаїчний характер. Вони надають перевагу вологим дубово-осиковим гайкам з очеретяними та чагарниковими заростями, галявинам між гайками. У приморському степу малі білозубки тримаються на окраїнах очеретяних заростів, заростів високого степового різнотрав'я, на луговинах [5, 12, 16].

ДИНАМІКА ЧИСЕЛЬНОСТІ

На динаміку чисельності дрібних ссавців впливають абіотичні, насамперед, погодні фактори [17]. У малих білозубок відмічені в нашому регіоні два типи динаміка: короткострокова та двадцятирічна (рис. 1) [12, 20]. Короткострокова динаміка має часовий крок 2-3 роки. Амплітуда коливань не перевищує 0,5 – 1,2 облікових одиниць. Двадцятирічний цикл, який був відмічений у *C. suaveolens* в нашому регіоні в 1989, 2009 роках, має амплітуду коливань від 2,2 до 5 облікових одиниць. Десятирічний цикл, що був відмічений нами для мишоподібних ссавців [15], у малої білозубки в нашому регіоні не був виявлений.

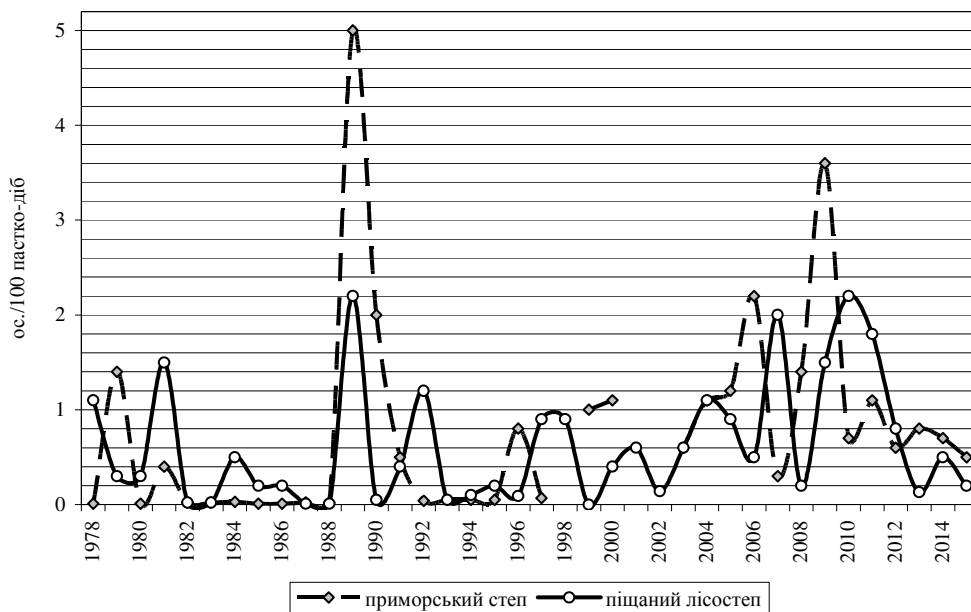


Рис. 1. Динаміка чисельності малої білозубки на ділянках Чорноморського заповідника в 1978-2015 рр.

Fig. 1. Dynamics of numbers of *C. suaveolens* on parts of the Black Sea Biosphere Reserve in 1978-2015.

Порівняння циклів динаміки чисельності *C. suaveolens* з динамікою погодних факторів показало відповідність періодичності піків чисельності білозубок теплим («м'яким») зимами, з річною сумою від'ємних температур (СВТ) від -50° до -150° при середнє багаторічному значенні СВТ за останні 33 роки $-222,3^{\circ}$ (рис. 2). Залежність чисельності популяції землерийок від умов зимівлі біла відмічена також іншими дослідниками в інших регіонах [2].

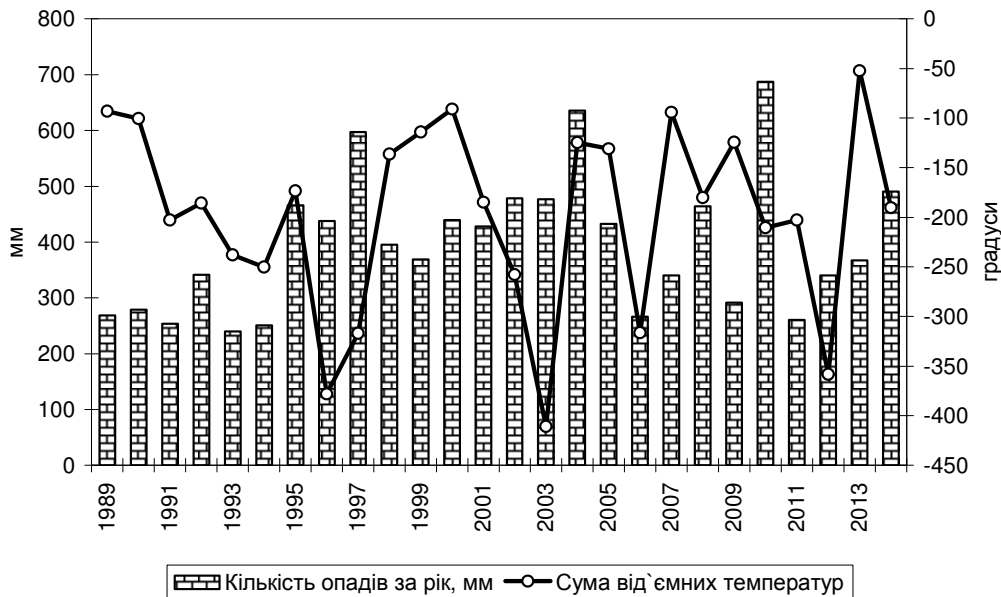


Рис. 2. Динаміка погодних факторів в регіоні ЧБЗ в 1989-2014 рр.
Fig. 2. The dynamics of weather factors in the region BSBR in 1989-2014.

Катастрофічні прояви абіотичних факторів, наприклад штормові явища, спостерігаються не регулярно та за останні 30 років не мають визначеної періодичності. При стрімкому катастрофічному zalиванні приморському степу Потіївської ділянки заповідника водами Тендрівської затоки, яке ми спостерігали в лютому 2007 року, загинули майже всі наземні мешканці степової частини ділянки. Протягом року відносна чисельність малої білозубки на цій ділянці зменшилася в 7 разів. Після припинення затоплення почалася пост гідрогена сукцесія, піонерами якої серед дрібних ссавців стали малі білозубки. У наступні два роки після затоплення чисельність *C. suaveolens* збільшилася в 12 разів у порівнянні з 2007 і в 4,5 рази у порівнянні зі середнє багаторічним значенням.

ВИСНОВКИ

В природних умовах в популяціях дрібних ссавців в регіоні Чорноморського заповідника спостерігаються періодичні коливання чисельності, що відображають циклічну динаміку чисельності популяцій. Короткострокові цикли характерні для всіх дрібних ссавців, мають часовий крок 2-3 роки. Амплітуда коливань в популяціях малої білозубки в цих циклах не перевищує 0,5 – 1,2 облікових одиниць. Двадцятирічний цикл був відмічений у *C. suaveolens* в нашому регіоні в 1989, 2009 роках, має амплітуду коливань від 2,2 до 5 облікових одиниць. Десятирічний цикл, який характерний для мишоподібних ссавців [15], у малої білозубки в нашому регіоні не був виявлений.

Динаміка чисельності дрібних ссавців опосередковано пов'язана з циклічними змінами деяких погодних факторів: з річною кількістю опадів, їх розподілом по сезонах, тривалістю морозного періоду, наявністю снігового покриву, тощо [15, 19]. Порівняння циклів динаміки чисельності *S. suaveolens* з динамікою погодних факторів показало відповідність періодичності піків чисельності білозубок теплим («м'яким») зимами, з річною сумою від'ємних температур (СВТ) від -50° до -150° .

Висока біотопічна та екологічна пластичність цього виду визначає його піонерну роль в пост гідроенних сукцесіях після катастрофічного затоплення, під час яких чисельність землерийок зростає в десятки разів без залежності від періоду циклу динаміки чисельності популяції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абеленцев В.И. 1967. Полезные звери Черноморского заповедника и их охрана. Тез. докл. науч. конф., посв. 40 - летию Черномор. госзаповедника АН УССР. Киев, 1-5.
2. Балакирев А.Е., Окулова Н.М., Ивантер Э.В.. 2004. К анализу факторных воздействий на многолетнюю динамику численности обыкновенной бурозубки на севере и юге ареала. Поволжский экологический журнал, №2, 111-122.
3. Берестенников Д.С. Млекопитающие Черноморского заповедника. Вестник зоологии, № 2, с.12-17.
4. Булахов В.Л., Пахомов А.Е., Рева А.А.. 1992. Закономерности биогеоценологического размещения насекомоядных (Insectivora) в азональных лесостепных экосистемах степной зоны Украины. Материалы 1-го Всесоюз. Сов. по биологии насекомоядных млекопитающих. Новосибирск., Москва, с. 19-21.
5. Зубко Я.П. Фауна ссавців Нижнього Дніпра. "Наукові записки Харківського державного педагогічного інституту. Харків: Видання ХДПІ, т. 4, с. 49-87.
6. Иваненко И.Д. 1938. К вопросу об изменениях в животном населении степи под влиянием агрокультуры. Зоологический журнал. Т. XVII, вып. 5, с. 815-831.
7. Межерін С.В., Лашкова О.І. 2013. Ссавці України. Довідник-визначальник. Київ: Наукова думка, 357с.
8. Павлинов И.Я., Крускоп С.В., Варшавский А.А., Борисенко А.В. 2002. Наземные звери России. Справочник–определитель. Москва: Изд. Зоол. музей МГУ, 299 с.
9. Попов В.А. 1967. О стандартизации методики учёта грызунов и мелких насекомоядных. Фауна и экология грызунов. Москва: Изд-во МГУ, вып. 8, с. 197 – 201.
10. Ружіленко Н.С. 2002. Видовий склад і динаміка населення землерийок (Soricidae) заплавної островів Канівського заповідника. Вісник Луганського державного педагогічного університету. №1, с. 125-135.
11. Селюнина З.В. 1996. Млекопитающие. Позвоночные животные Черноморского биосферного заповедника (аннотированные списки видов). Вестник зоологии. Отд. выпуск №1, с. 39-43.
12. Селюнина З.В. 1999. Многолетняя динамика численности землероек на лесостепных участках Черноморского заповедника. Фальцфейновські читання: Збірка наукових праць. Херсон: Айлант, с. 143-146.
13. Селюнина З.В. 2000. Организация экологического мониторинга фаунистических комплексов в Черноморском биосферном заповеднике. Природничий альманах. Біологічні науки. Вип. 1, Херсон, с. 93-100.
14. Селюніна З.В., Русіна Л.Ю., Маркауцан О.О. 2002. Видова й таксономічна різноманітність наземних хребетних Херсонщини. Природничий альманах. Сер.: Біологічні науки. Вип. 2(3). Херсон: "Персей", с. 207-212.

15. Селюнина З.В. 2003. Многолетний мониторинг динамики численности мышевидных грызунов в регионе Черноморского биосферного заповедника. Вестник зоологии. №2, с.23-30.
16. Селюнина З.В. 2013. Результаты мониторинга териофауны Черноморского биосферного заповедника в 2000 – 2012 гг. Природничий альманах. Вып 18. Херсон: ХГТ, с. 147-167.
17. Уманець О.Ю., Селюнина З.В. 2006. Зміни природних комплексів Північного Причорномор'я під впливом природних та антропогенних гідрологічних чинників. Фауна в антропогенному середовищі. Праці териологічної Школи, вип. 8. Луганськ, с. 48-51.
18. Johnson William C., Keller Barry L.. 1983. An examination of snaptrapping techniques for estimating rodent density in high desert. Northwest Sci., 57, № 36, p.194-204.
19. Selyunina Z.V. 2008. Population dynamics of hibernating small mammals in Southern Ukraine. 11 International Conference “*Rodens et Spatium*” on Rodent Biology. Myshkin, Russia 24-28 July, 2008. – P. 28
20. Zagorodniuk I.V. 2012. Mammals of the Eastern Ukraine: changes in species list and abundance since I.Sakhno's review. Ссавці сходу України: зміни переліку й рясноти видів від огляду І.Сахна (1963) до сучасності. The Journal of V.N.Karazin Kharkiv National University. Series: biology. Issue 16, №1035, p. 101 – 108.

ABSTRACT

DYNAMICS OF LESSER WHITE-TOOTHED SHREW (*CROCIDURA SUAVEOLENS*) IN AREAS OF THE BLACK SEA BIOSPHERE RESERVE

Small mammals is the main component of a natural complex fauna. These group of species is characterized by the following biological features such as biotopical distribution, a small area of individual plots, a small distance of daily and seasonal movements so that they were determined as an object for monitoring. Long-lasting monitoring according to the program of Chronicles of Nature at the Black Sea Biosphere Reserve helps to define the natural dynamics of small mammals and influence of abiotic factors on this parameter.

Since the early twentieth century the lesser white-toothed shrew (*Crocidura suaveolens*, Pallas, 1811) has been included in all regional lists of species. This species occupies a wide range of biotops: at the sandy steppe white-toothed shrew prefers moist oak-aspen nuts with reed and shrub thickets as well as meadows between the nuts; in the coastal desert it opts for outskirts of reed thickets and high steppe grasses. This species is not rare. Thus, mentioned features has allowed us to accept the lesser white-toothed shrew as background species of small mammals for both a forest-steppe parts and seaside parts of the Reserve.

It has been found that the dynamics of shrews numbers in population significantly varies, and its fluctuations correlate with changes in certain weather factors. Results of long-term monitoring of *C. suaveolens* population numbers has reviled its cyclic character with definite interval of time. Short cycle fluctuations and twenty years cycle have been identified for the past 40 years. Short-term cycle was typical for all small mammals. Time steps in this cycle for shrews constituted 2-4 years. The amplitude of fluctuation did not exceed 0.5-1.2 accounting units. Twenty years cycle-peaks of shrews have been found in 1989 and 2009. The maximum values of amplitude in this cycle varied from 2.2 to 5 units of account. Ten-year cycles which is a significant feature of murine has been not discovered for lesser white-toothed shrew.

Research of *C. suaveolens* numbers dynamics dependence on dynamics of certain weather factors has defined that it coincided with warm winters, with fluctuations of an annual amount of negative temperatures (ANT) from -150°C to -50°C.

Catastrophic manifestations of abiotic factors such as storm phenomena are irregular events.

In february 2007 it has been observed that accidentally rapid flooding of desert steppe part of Reserve at Potiivka plot by Tendrivsky Bay waters has killed almost all terraneous inhabitants of the steppe area. During the year, the relatively low number of *Crocidura* in this region has got decreased by 7 folds. When the flooding was over the post hydrogenic succession has begone, and the *C. suaveolens* were the pioneers small mammals which has been starting this process. For next two years after flooding *C. suaveolens* population has got increased in 12 times compared with 2007 and in 4.5 times in comparison with the average long-term data.

To sum up, our researches has revealed that lesser white-toothed shrew could perform the pioneering role in regenerative successions due to its high biotopical and ecological plasticity, and its number rises in tenfold independently on the period of cycle dynamics of the population.

Andriy-Taras Bashta¹, Markus Dietz², Ivan Grizyuk³, Nelya Koval⁴, Ivan Koliadzyn⁵, Andriy Kotubey⁶, Yuriy Petrychuk⁷, Vasyl Pryndak⁸, Zina Riznychenko⁹, Yiruy Tiukh¹⁰

¹Institute of Ecology of the Carpathians NAS Ukraine, ²Institute of Animal Ecology and Nature Education, ³Carpathian NNP, ⁴Uzhanskyi NNP, ⁵Vehovynskyi NNP, ⁶NNP "Zacharovanyi kray", ⁷NNP "Hutsulshchyna", ⁸NNP "Skolivski Beskydy", ⁹Vyzhnytskyi NNP, ¹⁰NNP "Synevyr",

e-mail: atbashta@gmail.com

RESULTS OF THE 1ST YEAR OF ULTRASOUND MONITORING OF BATS (CHIROPTERA, VESPERTILIONIDAE) IN NATIONAL NATURE PARKS OF THE UKRAINIAN CARPATHIANS

Abstract. During 2015 an ultrasound identification method was used in the Ukrainian Carpathians to monitor bats in summer habitat types: forests (mainly old-growth forests), glades and forest meadows, waters. Bat counts were carried out at 4-8 monitoring stations in each of 9 national nature parks. As a result of 230 count nights, 19 bat species were detected out of 24 species known occurring in this region. The most often occurred and dominant species were *Eptesicus nilssonii* (100% of parks), *Myotis bechsteinii* (100%), *Myotis brandtii/mystacinus* (100%), *Myotis daubentonii* (100%), *Pipistrellus pipistrellus* (85,7%), *Barbastella barbastellus* (85,7%). *Myotis myotis* (71,4%), *Myotis nattereri* (71,4%), *Nyctalus noctula* (71,4%), *Pipistrellus nathusii* (71,4%), *Myotis alcaethoe* (57,1%), *Plecotus auritus* (57,1%) belong to the common occurred species, and *Myotis dasycneme* (42,9%), *Nyctalus leisleri* (42,9%), *Pipistrellus pygmaeus* (42,9%), *Eptesicus serotinus* (28,6%), *Myotis emarginatus* (28,6%) belong to the less occurred ones. Two species, *Vespertilio murinus* (14,3%) and *Rhinolophus hipposideros* (14,3%) were rare.

Key words: bats, *Chiroptera*, monitoring, ultrasound detectors, Carpathians, Ukraine

INTRODUCTION

There is a number of approaches and methods concerning issues of unifying of bat monitoring methods, but the question still needs to be addressed [1, 5, 9-18].

Monitoring of bat fauna was started at the territory of 9 national parks of the Ukrainian Carpathians in summer of 2015. The aim of this study was to clarify the species composition and quantification of bats populations in selected parks.

One of the purposes of this study was to determine species diversity and quantitative parameters of bat populations in these parks, in order to determine their importance for conservation of bats as an important ecosystem component.

METHODS

Investigations were conducted in nine national parks of the Ukrainian Carpathians: Uzhanskyi, "Skolivski Beskydy", "Zacharovanyi Kray", "Synevyr", "Hutsulshchyna", Carpathian, Vyzhnytskyi, Verkhovynskyi and Cheremoskyi (Fig.1). Special preliminary training for employees of scientific departments of the national parks have been organised.

Generally, equipment worked for 230 nights, with a range from 8 (NNP "Synevyr") to 40 ones (NNP "Skolivski Beskydy") in each park during the 2015 field season. Studies were conducted mainly in forest habitats: primeval and old-growth forests with different tree species composition and forest edges and banks of forest waters.

Bat calls were recorded automatically using an ultrasonic detector Batcorder (EcoObst GmbH). During the data analysis the total number of bat species and their call frequencies counted

per the night. In total, 13,904 files with bat call records (separate series of ultrasonic signals of bat individuals) received during 230 nights.

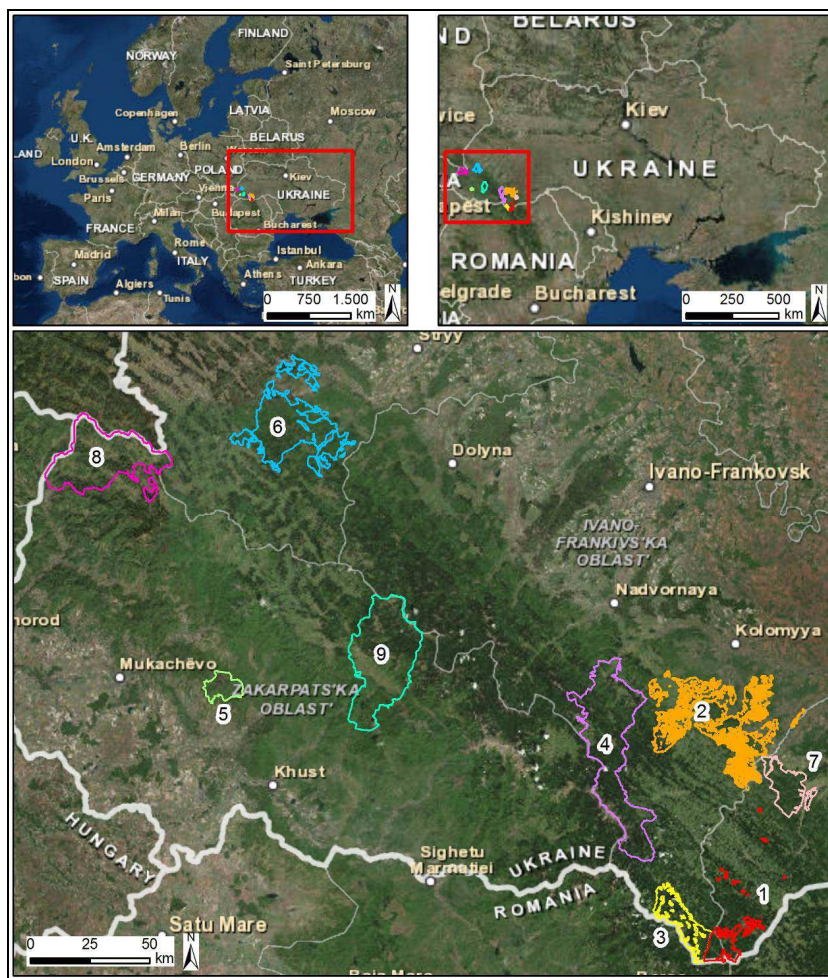


Fig. 1. Location of the national parks of the Carpathian Mountains in Ukraine, where the bat survey have been carried out: 1. Cheremoskyi, 2. Hutsulshchyna, 3. Verhovynskiy, 4. Carpathian, 5. Zacharovanyi kray, 6. Skolivski Beskydy, 7. Vyzhnytskyi, 8. Uzhanskyi, 9. Synevyr

Relevant guides [2, 3, 4] and the authors personal experience were used to identify the bat species. Acoustic determination of the species were limited sometimes by overlapping the signals frequency of close related bat species, such as pair *Myotis brandtii* and *Myotis mystacinus*. Similar problems of identification are known also for pairs *Pipistrellus nathusii* / *Pipistrellus kuhlii* and *Plecotus auritus* / *Plecotus austriacus*. However, since the census were conducted in forest habitats, mostly far from human settlements, where the occurrence *Pipistrellus kuhlii* and *Plecotus austriacus* in the mountains of the investigated region is very unlikely. Therefore we adopted that *Pipistrellus nathusii* and *Plecotus auritus* appeared in our studies.

Detection rate index used for the initial characteristics of bat populations, i.e. the number of national parks, where the species was noted.

Bat count results in 7 parks have been analyzed in this article. Due to technical malfunctions of equipment amount of collected material was insufficient for proper analysis in the NNP "Synevyr". Counts results in the NNP "Cheremoskyi" were analyzed in other publications.

RESULTS AND DISCUSSION

In general, bat censuses conducted over 118 nights (53.7%) in the forest habitats with 1596 files finally. Counts in the glades and clearings were for 42 nights (17.4%), however, the number of recorded calls was greatest - 7331. On the water banks of ponds for 48 nights (19.8%) and 4884 recorded files. 8 to 15 bat species have been recorded in each national park (except the two above mentioned) (table).

Table. Results of ultrasound survey of bats in the national nature parks in the Ukrainian Carpathians in 2915

| Species | National park* | | | | | | | |
|------------------------------------|----------------|----|-----|----|---|----|-----|------|
| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII |
| <i>Barbastella barbastellus</i> | | • | • | • | • | • | • | |
| <i>Eptesicus nilssonii</i> | • | • | • | • | • | • | • | • |
| <i>Eptesicus serotinus</i> | | • | | | • | | | |
| <i>Myotis alcathoe</i> | • | | • | | • | • | | |
| <i>Myotis bechsteinii</i> | • | • | • | • | • | • | • | |
| <i>Myotis brandtii/mystacinus</i> | • | • | • | • | • | • | • | |
| <i>Myotis dasycneme</i> | | • | • | | • | • | | |
| <i>Myotis daubentonii</i> | • | • | • | • | • | • | • | |
| <i>Myotis emarginatus</i> | | | • | | • | | | |
| <i>Myotis myotis</i> | • | | • | • | | • | • | |
| <i>Myotis nattereri</i> | • | • | | • | • | | • | |
| <i>Nyctalus leisleri</i> | • | • | | | • | | | |
| <i>Nyctalus noctula</i> | • | • | | | • | • | • | |
| <i>Pipistrellus nathusii</i> | • | • | | | | • | • | |
| <i>Pipistrellus pipistrellus</i> | | • | • | • | • | • | • | |
| <i>Pipistrellus pygmaeus</i> | | | | | • | • | • | |
| <i>Plecotus auritus/austriacus</i> | • | • | | | | • | • | |
| <i>Rhinolophus hipposideros</i> | | • | | | | | | |
| <i>Vespertilio murinus</i> | | • | | | | | | |

I – Verhovynskyi, II – Vyzhnytskyi, III – Hutsulshchyna, IV – Carpathian, V – Zacharovanyi Kray, VI – Skolivski Beskydy, VII – Uzhanskyi, VIII – Synevyr.

Myotis bechsteinii, *Myotis brandtii* / *mystacinus*, *Myotis daubentonii*, *Eptesicus nilssonii* were the most frequented bat species, they noted at the territory of all the parks (Figure 2). Significant incidence of *Myotis bechsteinii* is quite surprising; generally the species is quite rare in the Ukrainian Carpathians. The frequency of its registrations may be caused by the fact that much of the census was carried out in old-growth beech and mixed forests of the Carpathians, which are typical habitats of the species. A similar situation was with *Eptesicus nilssonii*, the species of boreal origin, whose existence was noted in each of investigated park.

Record of *Myotis emarginatus*, the species of Mediterranean origin, was rather unexpected at the northeast macroslope of the Carpathians, in particular in national park "Hutsulshchyna." However, this observation is quite possible, taking into account the facts of single record of this species in undergrounds of Podillya [19] and at the territory between the Prut and Dnister rivers [20].

Noteworthy observations *Myotis alcathoe*, which still belongs to the poorly studied bat species not only in Ukraine but in Europe generally [7, 8]. *M. alcathoe* was the not numerous species of bat community in old-growth hardwood forests in the studied areas.

Basing on the analysis of generalized monitoring indicators and frequency detection, there are the following four groups of bats: 1) a numerous and dominant species - *Eptesicus nilssonii* (100%), *Myotis bechsteinii* (100%), *Myotis brandtii/mystacinus* (100%), *Myotis daubentonii*

(100%), *Pipistrellus pipistrellus* (85,7), *Barbastella barbastellus* (85,7%), 2) common species - *Myotis myotis* (71,4%), *Myotis nattereri* (71,4%), *Nyctalus noctula* (71 4%), *Pipistrellus nathusii* (71,4%), *Myotis alcathoe* (57,1%), *Plecotus auritus* (57,1%), 3) not distributed species - *Myotis dasycneme* (42,9%), *Nyctalus leisleri* (42 9%), *Pipistrellus pygmaeus* (42,9%), *Eptesicus serotinus* (28,6%), *Myotis emarginatus* (28,6%), 4) rare - *Vespertilio murinus* (14,3%), *Rhinolophus hipposideros* (14 3%). Species of the *Plecotus* genus may belong to the first group, but because of their weak ultrasonic signal, its detection frequency can be significantly understated (which is indirectly confirmed by mist-netting). Similarly, we assume that the actual occurrence frequency of *Rhinolophus hipposideros* is much higher than it was found by the detector research.

The analysis of data collected from monitoring sites for 2015 are in good agreement with previous estimations concerning the bat species in the Ukrainian Carpathians [6].

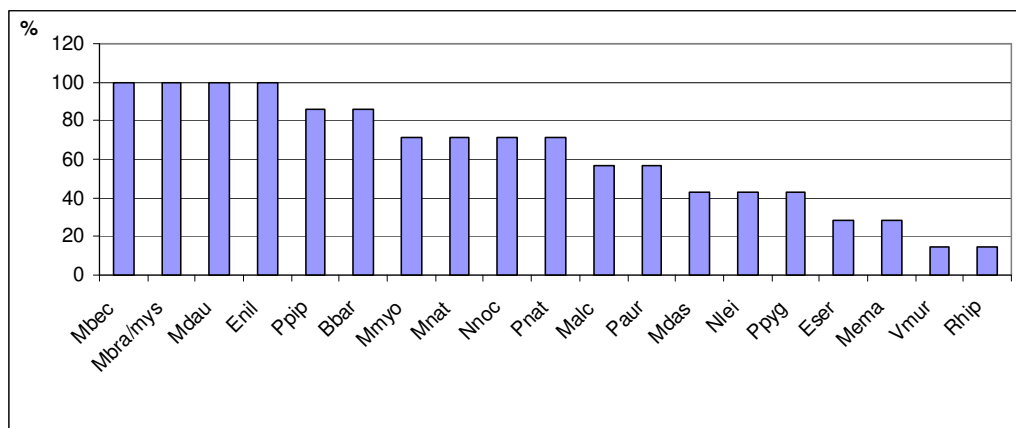


Fig. 2. Occuring of bat species in national parks of the Ukrainian Carpathians

Mbec - *Myotis bechsteinii*, Mbra/mys - *Myotis brandtii/mystacinus*, Mdau - *Myotis daubentonii*, Enils - *Eptesicus nilssonii*, Ppip - *Pipistrellus pipistrellus*, Bbar - *Barbastella barbastellus*, Mmyo - *Myotis myotis*, Mnat - *Myotis nattereri*, Nnoc - *Nyctalus noctula*, Malc - *Myotis alcathoe*, Pnat - *Pipistrellus nathusii*, Paur - *Plecotus auritus*, Mdas - *Myotis dasycneme*, Nlei - *Nyctalus leisleri*, Ppyg - *Pipistrellus pygmaeus*, Eser - *Eptesicus serotinus*, Vmur - *Vespertilio murinus*, Mema - *Myotis emarginatus*, Rhip - *Rhinolophus hipposideros*.

The forest bats community remained mostly studied not enough in the most of national parks of the Ukrainian Carpathians. Some bat species were registered for the first time for the territory of some national parks, thereby increasing the level of knowledge about their bat fauna. Valuable information is collected that can be a scientific basis for effective conservation of old-growth forests. In particular, bat species, typical representatives of primeval and old-growth forests are widely found: *Barbastella barbastellus* (6 national parks), *Myotis alcathoe* (4 national parks) and *Myotis bechsteinii* (7 national parks).

CONCLUSIONS

1. The results of ultrasonic bat monitoring in the National Park of the Ukrainian Carpathians: Uzhanskyi, "Skolivski Beskydy", "Zacharovanyi Kray", "Synevyr", "Hutsulshchyna", Carpathian, Vyzhnytskyi and Verhovynskyi have been analysed.

2. During the field season 2015 the censuses were conducted during 230 nights, with a range from 8 to 40 nights in each park. Studies were conducted mainly in forest habitats, primeval and old-growth forests with different tree species composition, forest edges and banks of waters.

3. 8 to 15 bat species have been found in each national park. *Myotis bechsteinii*, *Myotis brandtii / mystacinus*, *Myotis daubentonii*, *Eptesicus nilssonii* were the most occurred species.

ACKNOWLEDGEMENT

The project was implemented with financial support from the Frankfurt Zoological Society (Germany), with the assistance of the Society Protection of Birds (Ukraine).

We are grateful to our colleagues from the Institute of Animal Ecology and Nature Education (Gonterskirchen, Germany): Olaf Simon, Elena Krannich, Axel Krannich, Mona Weitzel for training and guidelines for conducting research and analysis of the results, Michael Brombacher, Oleg Dudkin, Olga Yaremchenko and Olexandr Kyselyuk – for the coordination of the project.

REFERENCES

1. Agnelli P., Martinoli A., Patriarca E., Scaravelli D., Genovesi P. 2006. Guidelines for bat monitoring: methods for the study and conservation of bats in Italy. Min. Ambiente - Ist. Naz. Fauna Selvatica, Rome and Ozzano dell'Emilia (Bologna), Italy, 200 pp.
2. Ahlen I., 1981. Field identification of bats and survey methods based on sounds. *Myotis*, 18-19, 128-136.
3. Ahlen I., 1987. [European bat sounds transformed by ultrasound detectors. 25 species flying in natural habitats. – Uppsala: Dept. of Wildlife Ecology. Univ. Agr. Sci. (sound cassette).
4. Ahlen I., 1990. Identification of bats in flight. Uppsala: Swedish Society for Conservation of Nature and Swedish Youth Association for Environmental Studies and Conservation, 50 pp.
5. Ahlen I., Baagøe H.J., 1999. Use of ultrasound detectors for bat studies in Europe: experiences from field identification, surveys, and monitoring. *Acta Chiropterologica*, 1 (2), 137-150.
6. Bashta A.-T.V., 2009. Bat fauna and distribution (Chiroptera: Vespertilionidae) in the Ukrainian Carpathians. *Scientific bulletin of State Museum of Natural History*, 25, 267-274. (in Ukrainian)
7. Bashta A.-T., Piskorski M., Myslajek R., Tereba A., Kurek K., Sachanowicz R., 2011. *Myotis alcathoe* in Poland and Ukraine: new data on its status and habitat in Central Europe. *Folia Zoologica*, 60(1), 1-4.
8. Bashta A.-T., Pokrytiuk L., Benda P., 2010. *Alcathoe's bat Myotis alcathoe* – a new bat species (Chiroptera: Vespertilionidae) in Ukraine. *Вестник зоологи*, 44(6), 552.
9. De Wijs W. J. R., 1999. Feasibility of monitoring bats on transects with ultrasound detectors. *Trav. sci. Mus. nat. hist. nat. Luxembourg*, 31, 95-105.
10. Diez M, Frank R., Pir J. B., 1999. The bat fauna of the 'Grünewald' forest in Luxembourg: a methodology approach. *Trav. sci. Mus. nat. hist. Nat*, 31, 107-118.
11. Flaquer C., Torre I., Arrizabalaga A., 2007. Comparison of sampling methods for inventory of bat communities. *Journal of Mammalogy*, 88), 526-533.
12. Gjerde L., 1999. Methods and theories of monitoring bats in Norway. *Trav. sci. Mus. nat. hist. nat.*, 31, 73-86.
13. Gjerde L., Kovacic D., 1999. Bat survey by car transects in Luxembourg. *Trav. sci. Mus. nat. hist. nat. Luxembourg*, 31, 87-93.
14. Harbusch C., 1999. Monitoring bats in the Grand-Duchy of Luxembourg. *Proceedings of the 3rd European Bat Detector Workshop. Luxembourg: Travaux Scientifiques du Musée National D'Histoire Naturelle de Luxembourg*, 31, 59-79.
15. Kunz T.H., 2003. Censusing bats: challenges, solutions, and sampling biases. In: O'Shea T.J., Bogan M.A. (Eds), *Monitoring trends in bat populations of the United States and territories: problems and prospects*. US Geological Survey, Biological Resources Discipline, Information and Technology Report, USGS/BRD/ITR 2003-0003, P. 9-17.
16. Masing M., 1999. Experience of bat monitoring with bat detectors in Estonia. *Trav. sci. Mus. nat. hist. nat. Luxembourg*, 31, 51-58.
17. Masing M., Lutsar L., Lotman K., 1998., *Monitoring bats with bat detectors in Estonia. Myotis*, 36, 167-176.

18. Stebbings R., Mansfield H., Fasham M., 2005. Bats. In: Hill D., Fasham M., Tucker G., Shewry M., Shaw P. (Eds), Handbook of biodiversity methods: survey, evaluation and monitoring. Cambridge: Cambridge University Press, P. 433-449.
19. Vargovych R., 1998. Bat wintering in gypsum canes of Nukovyna and Podillya. European Bat night'98 in Ukraine. Kyiv, 117-123. (in Ukrainain)
20. Tatarynov K.A., 1956. Mammals of the western regions of Ukraine. Kyiv: Publ. of AS USSR, 188 pp. (in Ukrainain)

АНОТАЦІЯ

РЕЗУЛЬТАТИ 1-ГО РОКУ МОНІТОРИНГУ РУКОКРИЛИХ (CHIROPTERA, VESPERTILIONIDAE) В НПП УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ

Протягом 2015 р. проведені дослідження кажанів з використанням ультразвукового детектора Batcorder (EcoObst GmbH) з метою моніторингу фауни рукокрилих у чотирьох типах біотопів: праліси, старовірові ліси, лісові луки, береги водойм на території національних природних парків Українських Карпат. Проаналізовані результати досліджень з території НПП: Ужанського, «Сколівські Бескиди», «Зачарований край», «Гуцульщина», Карпатського, Вижницького та Верховинського. Загалом, протягом польового сезону 2015 року прилади працювали протягом 230 ночей. Дослідження були проведені переважно у лісових біотопах: пралісах і старовікових лісах з різним видовим складом дерев, а також на лісових галявинах і берегах водойм. Загалом отримані 13 904 файли з записами голосів кажанів (окремих серій ультразвукових сигналів окремих особин кажанів).

У лісових біотопах обліки рукокрилих проведені протягом 118 ночей (53,7%), отримано 1596 файлів. Обліки на галявинах та узліссях проведені протягом 42 ночей (17,4%), однак, кількість зафіксованих сигналів тут найбільша – 7331. На берегах водойм протягом 48 ночей (19,8%) і записано 4884 файлів. У кожному національному парку виявлено від 8 до 15 видів кажанів.

На основі аналізу узагальнених показників моніторингу, і частоти виявлення, можна виділити такі чотири групи кажанів: 1) дуже поширені і домінантні види - *Eptesicus nilssonii* (100%), *Myotis bechsteinii* (100%), *Myotis brandtii/mystacinus* (100%), *Myotis daubentonii* (100%), *Pipistrellus pipistrellus* (85,7%), *Barbastella barbastellus* (85,7%), 2) поширені види - *Myotis myotis* (71,4%), *Myotis nattereri* (71,4%), *Nyctalus noctula* (71,4%), *Pipistrellus nathusii* (71,4%), *Myotis alcaethoe* (57,1%), *Plecotus auritus* (57,1%), 3) малопоширені види - *Myotis dasycneme* (42,9%), *Nyctalus leisleri* (42,9%), *Pipistrellus pygmaeus* (42,9%), *Eptesicus serotinus* (28,6%), *Myotis emarginatus* (28,6%), 4) рідкісні види - *Vespertilio murinus* (14,3%), *Rhinolophus hipposideros* (14,3%). Види роду *Plecotus*, очевидно, належить до першої групи, але, через їх слабкий ультразвуковий сигнал, частота виявлення може бути істотно занижена (що опосередковано підтверджене результатами відловів рукокрилих павутинною сіткою).

Угруповання кажанів у лісах більшості національних природних парків Карпат до цього часу залишилося, в основному, дослідженими недостатньо. Частина видів кажанів для території деяких національних парків була зареєстрована вперше, що сприяло збільшенню рівня знань про фауну рукокрилих території національних парків або прилеглих ділянок, а також зібрана цінна інформація, що може стати науковою базою про необхідність ефективнішого збереження старовікових лісів. Зокрема, досить широко були виявлені види характерні представники пралісів, старих і незагосподарованих лісів: *Barbastella barbastellus* (у 6 національних парках), *Myotis alcaethoe* (у 4 національних парках) і *Myotis bechsteinii* (у 7 національних парках).

Наталія Голуб, Ярослава Черник

Львівський національний університет імені Івана Франка

e-mail: natalieholub@i.ua

ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСНОГО ВПЛИВУ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ ТА КОФЕЇНУ НА ЧАСТОТУ МУТУВАННЯ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Анотація. Досліджено поодинокую дію рентгенівського опромінення (РО) (в дозі 774 мКл/кг) та комплексний вплив РО та кофеїну в дозі 2,5 мкг/мл на частоту виникнення видимих мутацій по Х-хромосомі та домінуючих летальних мутацій (ДЛМ) у стабільної лабораторної лінії y^2w^{a4} *Drosophila melanogaster*. Показано, що як за поодинокого впливу РО, так і за його комплексної дії з кофеїном спостерігалася достовірно вища частота появи видимих мутантів, ніж в контролі. При цьому кофеїн підтримував пролонгований ефект дії радіації зі збереженням високого рівня мутування до п'ятого покоління. При цьому виявлена локуспецифічність мутаційних подій, оскільки найчастіше алельні переходи спостерігалися в нестабільних локусах *white* та *cut*. Відмічено зростання частоти ДЛМ у лінії y^2w^{a4} (головно за рахунок РЕЗ) як за впливу РО (у 3,4 рази порівняно з контролем), так і кофеїна (в 1,7 рази); особливо різке збільшення відбувалося при комплексній дії РО та кофеїну (у 10,4 рази).

Ключові слова: дрозофіла, рентгенівське опромінення, кофеїн, частота видимих мутацій, ДЛМ.

ВСТУП

В результаті Чорнобильської катастрофи значні території України зазнали радіоактивного забруднення, жива природа виявилася під впливом опромінення в малих дозах. Дослідження ефектів дії малих доз радіації і хімічних факторів на генетичні структури біологічних об'єктів та розробка методів прогнозування віддалених наслідків таких впливів є однією з актуальних проблем сучасної біології [26, С. 1 – 19]. Одним з ефектів впливу рентгенівського опромінення (РО) на клітину є індукція генетичної нестабільності, яка може зумовлювати як стимуляцію, так і пригнічення життєво важливих функцій клітини чи організму. Отримано ряд суперечливих даних, які свідчать як про збільшення, так і про зменшення тривалості життя при дії малих доз опромінення [8, 9], проте причини такої варіабельності цього показника до кінця не з'ясовані. Зручною тест-системою для обліку мутацій і виявлення характеру мутаційних змін є *Drosophila melanogaster*.

МЕТОДИКА

Матеріалом досліджень служили: високоінbredна лінія y^2w^{a4} з морфологічними маркерами по Х-хромосомі. Лінія розводилась аутbredно та утримувалась в темноті при 23-25⁰С на стандартному поживному середовищі, [1]. Синхронізацію культури та відбір віргінних самок проводили згідно загальноприйнятої методики [15]. Опромінення проводили на апараті РУМ-11 без фільтру. Потужність дози складала 600 Р/хв., напруга – 180 В, сила струму – 15-16 мА. При сумарній дозі 774 мКл/кг (30 Гр) час опромінення складав – 5 хв. Опромінювали самців у віці 3-5 днів. Кофеїн вносили в середовище для личинкового згодовування. На корм висаджували по 10 самок і 10 самців, яких після трьох днів видаляли, а в середовище вносили кофеїн в концентрації 2,5 мкг на 1мл

середовища. Оброблених хімічним реагентом самців у віці 3-5 днів піддавали опроміненню. Після цього їх індивідуально схрещували з віргінними самками зі зчепленими X-хромосомами $C(1)DX,yf/Y$. Для обліку домінантних летальних мутацій (ДЛМ) оброблених самців схрещували з інтактними віргінними самками лінії $C(1)DX,yf/Y$ у співвідношенні 3:1. У свіжих яйцекладках на забарвленому поживному середовищі підраховували сумарну кількість відкладених яєць, а через 48 годин – кількість яєць, що не розвинулися та яйця з ранніми та пізніми ембріональними летелями. Частоту виникнення домінантних летальних мутацій визначали за співвідношенням кількості яєць з ранніми та пізніми ембріональними летелями до загальної кількості запліднених яєць [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Нами проаналізовано рівень спонтанного мутування, а також вплив РО в дозі 774 мКл/кг, яка вважається малою для дрозофіли, на мутабільність локусів X-хромосоми у лабораторної лінії y^2w^{a4} . Серед 11222 проаналізованих інтактних самців виявлено 1 *yellow*-мутанта з алельним переходом $y^2 \rightarrow y^+$, що було підтверджено тестом на комплементацию. Частота мутування при цьому становила $8,9 \times 10^{-5}$, що не перевищувало природного рівня виникнення мутацій і свідчило про стабільність лінії y^2w^{a4} . Дія РО індукувала генетичну нестабільність у даної лінії. Аналіз потомків проводився протягом двох поколінь; частота виникнення індукованих мутантів була високою як в F_1 ($1,6 \times 10^{-3}$), так і в F_2 ($2,1 \times 10^{-3}$).

Ми провели дослідження спільної дії РО в дозі 774 мКл/кг із хімічним реагентом кофеїном на частоту виникнення видимих мутантів у лінії y^2w^{a4} . Нами встановлено високий генотоксичний ефект дози 2,5 мкг/мл у лінії y^2w^{a4} (виліт імаго становив 43,65 %). Провівши личинкове згодовування в 5 разів більшою і в 5 разів меншою концентраціями кофеїну, нами показано, що личинкове згодовування 0,05мкг кофеїну на 1мл середовища приводить до 35% загибелі, а при внесенні кофеїну в концентрації 12,5 мкг на 1мл спостерігалася 100% летальність (вильоту імаго не відбувалося).

В табл. 1 представлені результати по дослідженню впливу РО (774 мКл/кг) і кофеїну в концентрації 2,5 мкг/мл на рівень мутування локусів X-хромосоми у лабораторної лінії y^2w^{a4} . Аналіз потомства проводився протягом п'яти поколінь. Як видно з даних табл. 1, в результаті спільної дії РО і кофеїну, в першому поколінні частота мутування була $3,3 \times 10^{-4}$. Серед 3019 проаналізованих самців виявлено 1 ревертанта за кольором очей ($w^{a4} \rightarrow w^+$) і 2-х мутантів з обрізаним краєм крила ($ct^+ \rightarrow ct$). В другому поколінні серед 5606 самців мутантів виявлено не було.

В F_3 , F_4 , F_5 частота мутування збільшилася на порядок. В F_3 виявлено 7 мутантів: 1 ревертанта за кольором очей ($w^{a4} \rightarrow w^+$) і 6 мутантів з обрізаним краєм крила ($ct^+ \rightarrow ct$). В F_4 знайдені 2 мутанти характеризувалися змінами в локусі *cut*, а в F_5 виявлено 1 мутанта за геном *scute* і 2 – за геном *cut*. При цьому спостерігався *cut*-локусоспецифічний мутагенез.

Для того, щоб створити цілісне уявлення про спільний вплив РО з кофеїном на мутаційні події у дрозофіли, ми використали метод домінантних летальних мутацій. У цьому тесті результати отримують вже на початкових стадіях онтогенезу першого покоління – в процесі ембріонального розвитку. Частота ДЛМ визначається за співвідношенням числа яєць з ембріональною загибеллю до загальної кількості запліднених яєць. У дрозофіли на стадії ембріогенезу розрізняють ранню ембріональну загибель (РЕЗ) та пізню ембріональну загибель (ПЕЗ). Як відомо [12], розвиток яйця триває 22-24 год. Загибель ембріону протягом перших 9 год розвитку яйця вважається РЕЗ, а протягом наступних годин – пізньою.

Таблиця 1. Частота появи мутантів у лінії $y^2 w^{a4}$ *Drosophila melanogaster* при впливі кофеїну та комплексній дії РО і кофеїну
Table 1. The frequency of mutants in strain $y^2 w^{a4}$ *Drosophila melanogaster* under the influence of caffeine and complex action irradiation and caffeine

| Вид дослід / Experiment | Покоління / Generation | К-сть проанал. самців / Analyzed males number | К-ть мутантів / Mutants number | Частота появи мутантів / Appearance of mutants frequency | t, контр. / t, cont. | t між дослід. / t, in exper. |
|----------------------------|------------------------|---|--------------------------------|--|----------------------|------------------------------|
| Контроль / Control | | 5269 | — | — | | |
| Кофеїн / Caffeine | F ₁ | 2020 | — | | 0,65 | |
| Кофеїн + РО / Caffeine+ RI | F ₁ | 3019 | 3 | 3.3×10^{-4} | 7,62* | |
| | F ₂ | 5606 | — | — | 0,82 | 6,25* |
| | F ₃ | 3289 | 7 | 2.1×10^{-3} | 6,02* | 5,34* |
| | F ₄ | 2218 | 2 | 0.9×10^{-3} | 4,33* | 0,73 |
| | F ₅ | 2600 | 3 | 1.2×10^{-3} | 5,12* | 0,56 |

* при $p \geq 0,95$

Як контроль використана інтактна лінія $y^2 w^{a4}$. З представлених у табл. 2 даних видно, що у цієї лінії показник загальної частоти виникнення ДЛМ становив 3,97%. У лінії дикого типу *Oregon* показник появи ДЛМ статистично не відрізнявся від цього значення лінії $y^2 w^{a4}$ ($t = 0,85$) і дорівнював 3,74%. Унаслідок дії РО в дозі 774 мКл/кг загальний показник ДЛМ дорівнював 13,75%; частота РЕЗ була достовірно вищою (12,8%), ніж у контролі, а показник ПЕЗ був незначним і становив 0,95%. Одержані дані свідчать про те, що вплив малих дози опромінення є особливо небезпечними на ранніх етапах розвитку ембріона, як тільки запускаються процеси диференціації, оскільки веде до втрати життєвих функцій і летальності.

Таблиця 2. Частота виникнення ДЛМ (%), індукованих РО і кофеїном у лінії $y^2 w^{a4}$
Table 2. The frequency of DLM (%) under the influence RI and caffeine in strain $y^2 w^{a4}$

| Вид дослід / Experiment | Частота РЕЗ / EED frequency | Частота ПЕЗ / LED frequency | Частота ДЛМ / DLM frequency | t, контр. / t, control | t, дослід. / t, in exper. |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|---------------------------|
| Oregon / Oregon | 3,02 | 0,72 | 3,74 | 0,85 | - |
| Контроль / Control | 2,06 | 1,91 | 3,97 | - | - |
| РО / RI | 12,8 | 0,95 | 13,75 | 9,61* | |
| Кофеїн / | 5,68 | 1,22 | 6,9 | 6,71* | 28,12* |
| Кофеїн + РО / Caffeine+RI | 36,34 | 4,77 | 41,11 | 42,02* | |

* при $p \geq 0,95$

У наступних експериментах ми дослідили спільну дію РО та кофеїну на частоту появи ДЛМ у лінії u^2w^{ad} . Кофеїн вносили в поживне середовище для згодовування личинок II віку перед опроміненням.

Як видно із даних табл. 2, кофеїн виявляв значно слабший ушкоджуючий ефект на ранні етапи ембріогенезу дрозофіли порівняно з РО, проте зумовлював вдвічі вищий показник загальної частоти ДЛМ (6,9%) порівняно з контролем. Таке зростання відбувалося за рахунок, головню, збільшення частоти РЕЗ (5,68%); частота ПЕЗ залишалася, як і в контролі, незначною (1,22%). Очевидно, підвищення частоти ДЛМ обумовлене тим, що кофеїн інгібує репарацію спонтанних мутацій [21]. Внаслідок комплексного впливу РО і кофеїну спостерігався синергичний ефект. Так, показник сумарної частоти виникнення ДЛМ був високим і дорівнював 41,11%, при цьому різко зростала частота РЕЗ (36,34%) і незначно – частота ПЕЗ (4,77%). Згідно сучасних уявлень, опромінення блокує вступ клітин в період синтезу ДНК та мітозу і, таким чином, дає можливість клітинам частково відновитися від радіаційно-індукованих пошкоджень [24]. Під впливом кофеїну тривалість цих блоків скорочується і клітини вступають в мітоз з нерепарованими пошкодженнями, що призводять до підвищення виходу двониткових розривів ДНК, аберацій хромосом і, врешті, до загибелі клітини [13, 16].

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Як описано вище, дія РО індукувала високу частоту появи мутантів у лінії u^2w^{ad} , як у першому, так і другому поколінні. Звертає на себе увагу збільшення показника індукованого мутування у другому поколінні. В літературі [13, 16] описані випадки появи мутантів з високою частотою саме в F_2 порівняно з контролем та F_1 і підтримання стану нестабільності протягом ряду наступних поколінь у випадках спонтанного та хімічного мутагенезу. Схожі результати були отримані і у випадку радіаційно-індукованого мутагенезу в шурів [6].

Підвищена чутливість генетичного апарату потомків опромінених тварин до дії несприятливих довкілля вказує на те, що опромінення тварин детермінує зменшення стабільності генома їх потомків. Наслідки опромінення генеративних тканин живих організмів можуть бути неочевидними, оскільки їх прояв значно відтермінований від безпосереднього впливу несприятливого фактора. Після опромінення в клітинах виникає генетична нестабільність, яка передається по спадковості і в поколіннях може призводити до нових неочікуваних біологічних ефектів, зокрема, летальних наслідків [4, 20]. В роботі Барбер і співат. [20] повідомляється, що дестабілізація геному виникає як в першому, так і другому поколіннях незалежно від стадії сперматогенезу, на якій сперматозоїди зазнали опромінення. Високий відсоток клітин з дефектами і пролонгований період їхньої появи свідчить, що нестабільність не є відповіддю на пряме пошкодження ДНК чи на мутації в специфічних генах. Причому, не має значення, хто з батьків зазнав опромінення. Найбільш ймовірне пояснення – епігенетичні зміни в генній експресії регуляторних факторів і ланцюгові реакції хромосомних перебудов [20, 23].

Кофеїн, введений у великих концентраціях (а саме такою розглядається нами доза кофеїну 2,5 мкг/мл, оскільки вона зумовлює лише 43,65% виживання імаго), пригнічує дію ферменту фосфодіестерази, що приводить до внутрішньоклітинного накопичення цАМФ [7]. Зв'язування останнього з регуляторними субодинами цАМФ-залежної протеїнкінази веде до активації даного ферменту, який фосфорилує багато протеїнів, в тому числі і тих, які визначають відповідь клітини на регуляторні сигнали. Багато субстратів цього ферменту є ензимами ключових метаболітичних шляхів. Крім того, цАМФ проявляє і радіопротекторні властивості [21]. Ймовірно, в нашому експерименті

по дослідженню впливу комплексного впливу РО та кофеїну на частоту мутування у лінії y^2w^{a4} відносно низьку частоту мутування в F_1 і відсутність мутантів в F_2 теж можна пояснити підвищенням рівня клітинного цАМФ. Відомо [7], що кофеїн, крім того, що підвищує концентрацію цАМФ в клітинах, діє також і як інгібітор репарації, оскільки має здатність взаємодіяти з локально денатурованими ділянками ДНК і пригнічувати 3-5 екзонуклеазну активність ДНК-полімерази I. Причому у малих концентраціях він діє як інтеркалюючий агент, а у високих індукує реорієнтацію гідратної оболонки ДНК. Очевидно, ті зміни, які виникли в денатурованих ділянках ДНК під впливом кофеїну і радіації, залишаються нерепарованими, накопичуються з часом і фенотипово проявляються в наступних поколіннях, чим, на нашу думку, і можна пояснити підвищення частоти появи мутантів в F_3 - F_5 .

Оскільки геном батьківського організму починає експресуватися на стадії ранньої-середньої гастрული, то стає зрозумілим, чому у досліді по підрахунку частоти ДЛМ з високою частотою фіксуються саме РЕЗ. При опроміненні імаго 3-денного віку сперматогенез у них, як і в личинок II віку, знаходиться на стадії сперматогоній - первинних сперматоцитів, які є особливо чутливими до різних впливів. РО, будучи сильним мутагеном з ненаправленим характером дії, викликає появу мутацій, частина з яких виникає в генах, необхідних для розвитку і життєдіяльності. Ймовірно, що ті пошкодження геному є настільки значними, що залишаються нерепарованими і призводять до загибелі ембріона вже протягом перших годин розвитку. Щодо зниження показника ПЕЗ, то відомо [14, 25], що в клітині діють не лише конститутивні, але і індукційні системи репарації. Очевидно, саме включенням індукційної системи репарації зумовлене зменшення частоти пізніх леталей. Поряд з мутаціями, які зачіпають життєво важливі функції і призводять до ембріональної загибелі, в геномі виникають зміни, які, можливо, і залишаються нерепарованими, проте не перешкоджають розвитку ембріона і проявляються як видимі мутації на стадії імаго.

ВИСНОВКИ

Досліджена дія РО в дозі 774 мКл/кг на мутабельність локусів X-хромосоми у лінії y^2w^{a4} . Показано, що високий рівень мутування спостерігався як в першому, так і в другому поколіннях. За комплексного впливу РО та кофеїну спостерігалася достовірно вища висока частота появи мутантів, ніж в контролі. Кофеїн послаблював дію РО, однак (можливо, через нагромадження метаболітів і інгібування репараційних процесів) підтримував пролонгований ефект дії радіації до п'ятого покоління. Відмічено зростання частоти ДЛМ у лінії y^2w^{a4} як за впливу РО (у 3,4 рази порівняно з контролем), так і кофеїну (в 1,7 рази); особливо різке збільшення відбувалося при комплексній дії РО та кофеїну (у 10,4 рази).

Збільшення показника ДЛМ відбувалося головню за рахунок зростання частоти ранньої ембріональної загибелі. Дані результати свідчать про те, що сперматогоніальна популяція і сперматоцити I-го порядку є дуже чутливими до дії різноманітних екзогенних чинників фізичної та хімічної природи. При цьому значна частина пошкоджень геному статевих клітин є незворотньою і веде до загибелі ембріона вже на ранніх стадіях його розвитку, в той час, як тільки починає функціонувати батьківський геном.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоконь Е.М. Генетический эксперимент в исследованиях на дрозофиле. Львов: Вища школа, 1979. 109 с.
2. Ватти К.В., Джапаридзе Л.А., 1980. Сравнительное изучение мутабельности особей разных полов: РСПЛ и ДЛМ у *Drosophila melanogaster*. Генетика, 8, 1389–1395.
3. Бобак Я., Черник І., 2000. Індукція рентгенівським опроміненням мутабельності генів Х-хромосоми у лінії lozenge *Drosophila melanogaster*. Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол., 25, 33–41.
4. Готлиб Б.Я., Кудряшова О.В., Антошина М.М., Пелевина И.И. Судьба потомков облучённых клеток // Тр. III съезда по радиац. исследов. “Радиобиология. Радиоэкология. Радиационная безопасность”. - Пушино, 1997. - Т. 1. - С.148–149.
5. Готлиб В.Я., Пелерина И.И., Кудряшова О.В., Серебряный А.М. Индуцированная радиацией нестабильность генома // Тр. Междунар. конф. “Проблемы радиационной генетики на рубеже веков”. - Москва, 2000. - С. 24.
6. Гришанкина Т.И., Шаповалова А.М. Изучение стабильности хромосом у потомков облученных животных // Тр. Междунар. конф. “Проблемы радиационной генетики на рубеже веков”. - Москва, 2000. - С. 94.
7. Гродзинський Д. М. Радіобіологія. – Київ: Либідь, 2000. – 448 с.
8. Зайнуллин В., Ватти К., Михеев В., 1990. Анализ частоты спонтанных и индуцированных аутомных рецессивных летальных мутаций в оогенезе радиочувствительного мутанта rad (2) 201*G1 *Drosophila melanogaster*. Генетика, 7, 1320–1323.
9. Измайлов Д.М., Обухова Л.К., Окладнова О.В., Акифьев А.П., 1990. Продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* в ряду поколений после однократного воздействия ионизирующей радиации. Докл. АН СССР, 313, 718–722.
10. Максимів Д.В, Щербата Г.Р., 1994. Індукція генетичної нестабільності деяких локусів Х-хромосоми дрозофіли мітоміцином С і бромистим етидієм. Вісн. Львів.ун-ту, 23, 131–135.
11. Моссэ И.Б., Савченко В.К., Лях И.П., 1996. Генетический мониторинг экспериментальных популяций дрозофилы при облучении и воздействии антимутагеном меланином. Динамика элементов приспособленности популяций. Радиобиология, 26, С. 41–46.
12. Полуэктова Е.В., Митрофанов В.Г., Буриченко Г.М, Мяснянкина Е.Н., Бакулина Е.Д. *Drosophila melanogaster* // Объекты биологии развития. / Под ред. Астаурова Б.Л. – М.: Наука, 1975. – С. 131–135.
13. Пелевина И.И., Тапрнайнен Н.Я., Готлиб В.Я., 1986. Проблемы радиосенсибилизации, некоторые результаты и перспективы. Инф. бюл науч. совещ. по пробл, 32, 19–23.
14. Тоцький В.М. Генетика. – Одеса: Астропринт, 1992. – С. 447–450.
15. Хромых Ю.М. Некоторые методы культивирования дрозофилы в современном генетическом эксперименте // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. – Новосибирск: Наука, 1977. – С. 204–225.
16. Чеботарёв И.Е., Дёмина Э.А., 1999. Модифицирующее действие кофеина на эффект быстрых нейтронов в клетках человека. Цитология и генетика., 24, 9–11.
17. Шварцман П.Я., Левин В.П. Гены, детерминирующие развитие у дрозофилы, 1991. Итоги науки и техники. Сер. общ. генет., 14. 111.
18. Шварцман П., Ромашкина Р. Материнское влияние мутагенчувствительной мутации mus(2)201^{G1} на индуцированный этиленимином и метилметансульфонатом

- мутагенез в геноме сперматозоидов *Drosophila melanogaster*, 1995. Генетика, 31, 205 – 208.
19. Antosh M., Fox D., Hasselbacher T., Lanou R., Neretti N., Cooper L., 2014. *Drosophila melanogaster* show a threshold effect in response to radiation. *Dose Response*, 12 (4), 551 – 581.
 20. Barber R., Plumb M.A., Boulton E., Roux I., Dubrova Yu., 2002. Elevated mutation rates in the germ line of first- and second-generation offspring of irradiated male mouse. *PNAS*, 99, 6877 – 6882.
 21. Franchitto A., Pichierra P., Mosesso P., Palitti F., 1998. Caffeine effect on the mitotic delay induced by G2 treatment with UVC or mitomycin C. *Mutagenesis*, 13, 499 – 505.
 22. Giess M. Differences between natural ageing and radiation-induced shortening of the life expectancy in *Drosophila melanogaster*. 1990. *Gerontology*, 26, 301 – 310.
 23. Harms-Ringdahl M. Some aspects on radiation induced transmissible genomic instability. 1998. *Mut. Res.*, 404, 27 – 33.
 24. Lavelle C, Foray N., 2014. Chromatin structure and radiation-induced DNA damage: from structural biology to radiobiology. *Int J Biochem Cell Biol.*, 49, 84 – 97.
 25. Moskalev A., Plyusnina E., Shaposhnikov M., 2011. Radiation hormesis and radioadaptive response in *Drosophila melanogaster* flies with different genetic backgrounds: the role of cellular stress-resistance mechanisms. *Biogerontology*, 12 (3), p. 253 – 263.
 26. Moskalev A, Shaposhnikov M, Snezhkina A, Kogan V, Plyusnina E, Peregodova D, et al., 2014. Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and low dose of gamma-irradiation. *PLoS One*, January 24, 9 (1), e86051.

АНОТАЦІЯ

STUDY OF THE COMBINED EFFECT OF X-RAYS AND CAFFEINE ON MUTATION RATE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

It is actually to investigate the influence of irradiation in small doses on living organism because after the Chernobyl accident many areas of Ukraine are under the such influence. In our work the action of X-rays (RI) (at a dose of 774 uL/kg, low dose for *Drosophila*) and the complex influence of RI and caffeine at a dose of 2,5 mg/ml on the frequency of visible mutations on the X chromosome and dominant lethal mutations in stable laboratory strain y^2w^{a4} of *Drosophila melanogaster* were investigated. Among the 11222 analyzed intact males of the y^2w^{a4} strain 1 yellow-allelic mutant was found. The frequency of mutation was $8,9 \times 10^{-5}$ and it was not higher than the natural mutation rate. RI action induced genetic instability in this strain. The descendant analysis was conducted for two generations. Under the single exposure of the X-rays the frequency of visible mutations was higher than in control and amounted to $1,6 \times 10^{-3}$ in F_1 and $2,1 \times 10^{-3}$ in F_2 . So after RI action genetic instability occurs in the cells. Caffeine in 2,5 mg/ml dose exhibited high genotoxic effects in strain y^2w^{a4} (total imago flight was 43.65%). Caffeine supported a prolonged effect of irradiation while preserving a high level of mutation up to the fifth generation. So in F_1 mutation rate was 3.3×10^{-4} . In F_2 among 5606 male mutants were not found. In F_3 , F_4 , F_5 mutation frequency increased in order, did not differ from this index obtained by exposure to irradiation and amounted 2.1×10^{-3} , 0.9×10^{-3} , 1.2×10^{-3} in accordance. Caffeine also acts as an inhibitor of repair.

Probably the changes that occurred in the DNA under the influence of caffeine and radiation remain unrepaired, accumulate over time and appear in the following generations. The locus specificity of mutational events was found because allelic transitions were observed in unstable loci *white* and *cut* the most frequency. To create a total view of the complex influence

of X-rays and caffeine on mutational events in *Drosophila* we used the method of dominant lethal mutations (DLM). In this test the results are received during embryonic development. DLM rate is determined by the ratio of the number of eggs with embryonic deaths to the total number of fertilized eggs. Egg development in *Drosophila* lasts 22-24 hours. Embryo death during the first 9 hours of egg development is considered as the early embryonic death (EED) and for the next hours – late (LED). The index of dominant lethal mutations in strain y^2w^{a4} amounted to 3,97%. Under the influence of irradiation the frequency of DLM increased up to 13,75 % (in 3,4 times compared to the control). Caffeine predetermined twice higher frequency of DLM (6,9%) compared to the control. Sharp increasing of DLM occurred under the complex action of X-rays and caffeine (41,11 %). It is marked that the increasing of the DLM frequency in strain y^2w^{a4} was mainly due to early embryonic death.

¹Людмила Пісоцька, ²Наталія Глухова, ³Наталія Евдокименко,
⁴Людмила Сабліна

¹ ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро,

² ДВУЗ «Національний гірничий університет», Дніпро,

³ ДВУЗ «Український хіміко-технологічний університет», м. Дніпро,

⁴ Центр здоров'я Печерського району, м. Київ

e-mail: Pesotskaya23@mail.ru

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ КІРЛІАНОФОТОГРАФІЇ В ОЦІНЦІ НЕСПЕЦИФІЧНИХ РЕАКЦІЙ АДАПТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ

Анотація. В роботі представлені результати кірліанфотографії на рентгенівській плівці пальців рук 8-и пацієнтів із захворюваннями крові. Стан реакцій адаптації аналізували щодо зміни типу світіння на кірліанограмах, згідно критеріям П. Мандела, через 5 хвилин після прийняття природної води, як тесту індикації. В отриманих зображеннях аналізували області світіння відповідно органам і системам організму. Кількісно оцінювалися ширина корони світіння, характеристики яскравості зображення: медіану відносини мінімального і максимального значення яскравості і їх різницю. Зазначені зміни енергетичної активності систем організму пацієнтів після прийому природної води співвідносилися з ефективністю проведеної надалі стандартної терапії, для визначає їх прогностичну цінність.

Ключові слова: кірліанфотографія, цифрова обробка зображень, реакції адаптації.

ВСТУП

Існуючі діагностичні методи в медицині засновані на змінах в організмі показників обміну речовин, імунологічних реакцій, морфологічних, ультразвукових досліджень, ядерно-магнітного резонансу тканин, які характерні для тієї чи іншої патології. Актуальним є оцінка неспецифічних компенсаторних реакцій адаптації організму на до біохімічного і структурного рівні змін в організмі на несприятливі фактори внутрішнього чи зовнішнього середовища, що визначає ризик виникнення захворювання або загострення вже існуючої патології. Такий вплив реалізується на рівні квантових і польових біоенергетичних взаємовідносин між організмом і різними чинниками і візуалізується світінням навколо кінцівок у високочастотному полі [1], що відомо як ефект Кірліан [2].

Раніше нами були виявлені відповідності між ознаками кірліанівського світіння пальців рук пацієнтів з різною патологією і результатами стандартних клініко-лабораторних методів при візуальній оцінці за методикою П. Мандела. На основі їх розроблено методичні рекомендації по використанню методу кірліан-діагностики для раннього виявлення ознак інтоксикації, патології на доклінічному рівні [3 – 9]. В останні роки нами розроблені комп'ютерні методи аналізу кірліанівського зображення пальців рук [10 – 19]. Виявлені відповідності кірліанівського світіння біохімічним процесам [20 – 22].

Метою дослідження було вивчення можливості використання кірліанфотографії з комп'ютерною обробкою зображень в оцінці компенсаторних реакцій адаптації організму пацієнтів на прикладі впливу на організм природної води.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежили 8 пацієнтів з хронічними захворюваннями крові (анемії, лейкомії) методом кірліанографії на приладі «РЕК 1», розробленим УкрНДІ технологій машинобудування [23, 24]. Фотографували кірліанівське світіння пальців рук пацієнтів на рентгенівській плівці зі

стандартними методами проявлення перед і через 5 хвилин після прийняття 100 мл природної води. Під час зйомки обстежуваний тримав стаканчик з тією ж водою у другій руці.

Для аналізу отриманих зображень використовували діагностичні карти П. Мандела, згідно з яким є відповідність між типом світіння й етапом формування патології, між секторами корони і функціональним станом відповідних органів за топографією енергетичних меридіанів по китайській системі, доповнених доктором Р. Фолем.

У нормі корона світіння представлена внутрішнім колом, середнім - у вигляді щільно прилеглих один до одного стримерів і зовнішнім люмінесцентним - у вигляді тонких променів. При формуванні патології або реакцій з вегето-ендокринною дисфункцією в короні з'являються випадіння в циркуляції енергії (ендокринний тип світіння за П. Манделем) (рис. 1, 2).

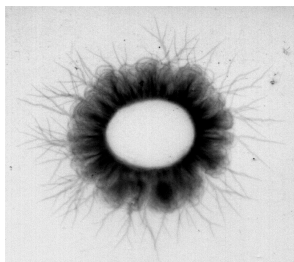


Рис.1.

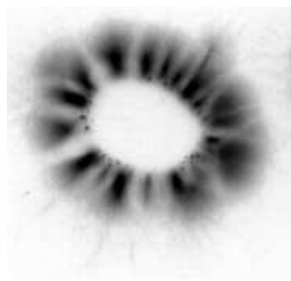


Рис.2.

У динаміці розвитку компенсаторних реакцій активізується метаболізм на клітинному і тканинному рівні, який на кірліанограмах візуалізується додатковими викидами енергії у вигляді точкових викидів енергії (інтоксикаційний тип за П. Манделем) (рис. 3). Зовнішня інтоксикація із стертістю і ущільненням стримерного шару корони відповідає дегенеративному типу світіння (П. Мандел) і відображає формування дистрофічних і структурних перебудов в клітці (рис. 4).



Рис. 3.

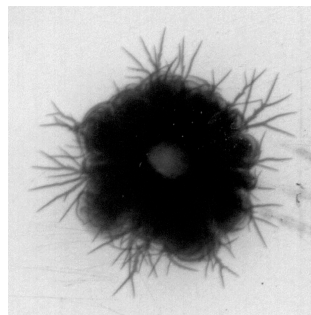


Рис. 4

Методика аналізу зображень газорозрядного випромінювання (ГРВ) складалася з: оцифровки фотоматеріалу шляхом сканування; виділення областей світіння окремих пальців з грубим вибором центру згідно з геометричними розмірами трафарету, який поставляється комплектно з приладом для реєстрації випромінювання; налагодження центру зображення і програмного формування окремих зображень однакового розміру для кожного пальця; посекторного формування профілів яскравості пікселів зображення. На базі обраної точки профіль ділився на два сектори, що в подальшому дозволило скористатися методикою П. Мандела при аналізі картини світіння. Аналізувалися сектора корони світіння навколо 2, 3, 4 пальців правої руки, відповідні основним регулюючим системам і органам (рис. 5).

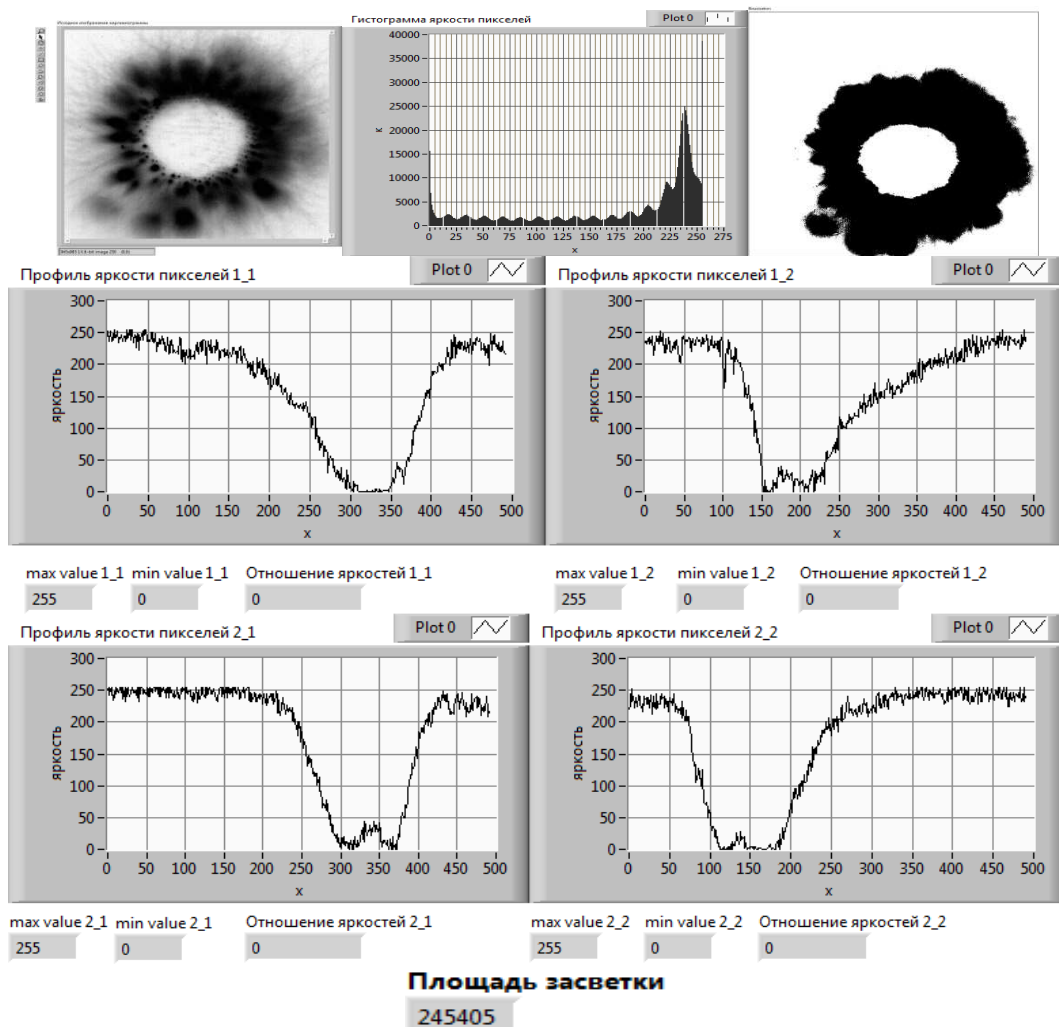


Рис. 5. Приклад побудови профілю яскравості корони світіння пальця руки
Pic.5. Example of profile building the brightness of glowing the crown thumb

Представлений підхід забезпечував оцінку геометричних параметрів корони світіння в певному секторі, а також аналіз динаміки зміни яскравості в секторі. Кількісно оцінювалися характеристики яскравості світіння (ЯС) як для зображення в цілому (гістограма), так і для окремих секторів (побудова ділянки профілю, обчислення медіани (Med), мінімального і максимального значення ЯС в секторі, їх різниць (Med-Min, Max-Med). Чим істотніше випадання світіння в секторі (аж до повної його відсутності), тим ближче значення відношення яскравості до 1 (рис. 6). Визначалася також ширина корони (ШК) світіння.

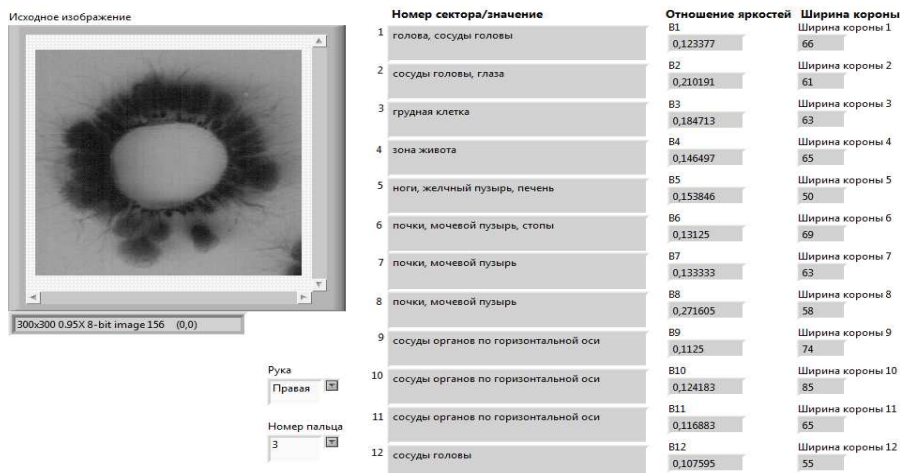


Рис. 6. Приклад аналізу ЯС секторів корони світіння пальця руки
 Рис.6. Example of analysis the sectors of crown thumb glowing

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати аналізу комп'ютерної та математичної обробки кірліанограм пальців рук пацієнтів після вживання природної води представлені в таблицях 1, 2. Їх порівняли з клінічним перебігом захворювань та аналізами периферичної крові в динаміці на фоні стандартної терапії.

Таблиця 1. Середні показники ширини корони світіння окремих пацієнтів
 Table 1. Averages of crown width glow in selected patients

| ПШ | Ширина корони / Crown width | | | | | | До / Before | Після / After | Різниця між до та після / Difference between before and after | Різниця між до та після / Difference between before and after | Різниця між до та після / Difference between before and after |
|----|--|---------|---------|--|---------|---------|-------------------|-------------------|---|---|---|
| | До прийому води / Before receiving water | | | Після прийому води / After receiving water | | | | | | | |
| | Med | Med-Min | Max-Med | Med | Med-Min | Max-Med | Різниця Max / Min | Різниця Max / Min | Med | Med-Min | Max-Med |
| Г | 77,2 | 17,5 | 28,2 | 60,8 | 9,5 | 13,5 | 10,7 | 4 | -16,4 | -8 | -14,7 |
| Д | 56,2 | 11,5 | 20,2 | 55,8 | 13,8 | 10,2 | 8,7 | -3,6 | -0,3 | 2,3 | -10 |
| П | 72,5 | 15,2 | 12,8 | 68,7 | 12,3 | 13,8 | -2,4 | 1,5 | -3,8 | -2,9 | -1 |
| С | 60,7 | 17 | 20 | 63,8 | 12,2 | 13,2 | 3 | 1 | 3,2 | -4,8 | -6,8 |
| Ш | 70,5 | 21,2 | 23,8 | 59,7 | 8,7 | 18,9 | 2,6 | 10,2 | -10,8 | -12,5 | -4,9 |
| Б | 80,27 | 24,2 | 29,2 | 68,3 | 11,7 | 17 | 5 | 5,3 | -11,8 | -12,5 | -12,2 |
| Гс | 66,27 | 39,8 | 40,2 | 76,3 | 14,3 | 21,7 | 0,3 | 7,4 | 10,2 | -25,5 | -18,5 |
| ІВ | 59,8 | 57,8 | 45,8 | 49,5 | 47,8 | 43,5 | -12 | -4,3 | -10,3 | -10 | -2,3 |

Після прийняття пацієнтами природної води на кірліанограмах пальців рук спостерігали наступні зміни:

- зменшення товщини корони у 6 з 8 чол. із зменшенням у них (Max-Med) ШК свідчить про зменшення інтоксикації;

- у пацієнта Гс (анемія і вегето-судинна дистонія) спостерігалися найбільше зменшення (Med-Min) ШК – випадень і (Max-Med) ШК – інтоксикації, що відповідало

збільшенню ширини корони, тобто енергетики в організмі взагалі. Відомо зниження заряду еритроцитів при анемії [25], раніше нами були виявлені кірліанографічні зміни енергетики крові при анеміях різної етіології [26 – 28].

Таблиця 2. Середні показники відношення яскравостей світіння окремих пацієнтів
Table 2. The average ratio of brightness of individual patients

| ППП | Відношення яскравостей світіння (ВЯС) | | | | | | Різниця / Difference | Різниця / Difference |
|-----|---|---------|---------|---|---------|---------|-------------------------|-------------------------|
| | До прийому води / Before receiving water | | | Після прийому води / After receiving water | | | між | між |
| | Med | Med-Min | Max-Med | Med | Med-Min | Max-Med | 2 і 3 | 5 і 6 |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Г | 0,86 | 0,055 | 0,041 | 0,137 | 0,04 | 0,039 | 0,096 | 0,001 |
| Д | 0,09 | 0,035 | 0,041 | 0,121 | 0,047 | 0,038 | 0,006 | 0,009 |
| П | 0,087 | 0,032 | 0,04 | 0,105 | 0,07 | 0,038 | 0,008 | 0,032 |
| С | 0,138 | 0,059 | 0,154 | 0,128 | 0,038 | 0,072 | 0,095 | 0,034 |
| Ш | 0,077 | 0,021 | 0,039 | 0,097 | 0,069 | 0,044 | 0,018 | 0,025 |
| Б | 0,069 | 0,025 | 0,049 | 0,094 | 0,052 | 0,04 | 0,024 | 0,012 |
| Гс | 0,118 | 0,096 | 0,289 | 0,107 | 0,067 | 0,04 | 0,193 | 0,027 |
| ІВ | 0,101 | 0,056 | 0,613 | 0,096 | 0,055 | 0,687 | 0,557 | 0,632 |

Аналіз показників яскравості світіння виявив наступну динаміку на кірліанограмах пацієнтів після вживання води:

1. Тенденцію до ознак дегенерації за більш низькою медіаною і різницями медіан у пацієнтів Г, Д, Ш, Б, що відповідає глибоким порушенням реакцій гомеостазу при системних захворюваннях крові. Ефект від проведеної терапії в подальшому був недостатній і короточасний.

2. У пацієнтки П з анемією і супутньої ВСД на кірліанограмі виявили нормальний тип світіння. Ефект від терапії був добрий та стійкий.

3. У пацієнток С. (анемія легкого ступеня і ВСД) і Гс (хр. лімфолейкоз клінічно компенсований) при нормальній медіані ЯС переважає різниця (Max-Med), що характерно для вегетативних реакцій з випаданнями в короні, що зменшується після прийняття води. У цих пацієнток має місце ендокринно-токсичний тип світіння з нормальним станом клітинної енергетики, збільшенням корони після експерименту, що відповідало ефективності проведеної надалі терапії

4. У пацієнтки ІВ (анемія, стан після операції, інтоксикація) на фоні нормальної ЯС корони мають місце виражені ознаки випадіння в короні і інтоксикації за значної різницею між медіаною ЯС в її крайніми величинами, які залишаються досить високими після прийняття води. Має місце ендокринно-токсичний тип світіння зі зниженням резервів енергетичного гомеостазу, про що свідчить вузька корона світіння. У пацієнтки тривалий час зберігалася анемія.

В цілому з таблиць 1 і 2 має місце наступне: у 5 з 8 осіб (62,5%) з початковою зниженою яскравістю світіння (дегенеративний тип світіння) спостерігається її посилення (до 0,094-0,137), із різно спрямованою дельтою в ширині корони. Це відображає процеси появи точок інтоксикації, можливо випадіння в короні, менш інтенсивного, нормального стримерного малюнка в короні, тобто посилення енерго-інформаційної активності в організмі, що має позитивне значення для перебігу захворювання.

Нижче наведено приклади аналізу кірліанограм 3-х пальців правої руки в окремоті у деяких пацієнтів з різними захворюваннями і типами кірліанівського світіння.

Приклад 1. Пацієнт Р.

| Палець/ Finger | Ширина корони / Crown width | | | | | | До / Before | Після/ After | Різниця між до та після / Difference between before and after | Різниця між до та після / Difference between before and after | До прийому води / Before receiving water |
|-------------------|---|-------------|-------------|--|-------------|-------------|----------------|------------------|---|---|---|
| | До прийому води/ Before receiving water | | | Після прийому води / After receiving water | | | | | | | |
| | Med | Med- Min | Max- Med | Med | Med- Min | Max- Med | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 2-й | 72,5 | 12,5 | 36,5 | 60 | 10 | 8 | 24 | - 2 | -12,5 | -2,5 | -28,5 |
| 3-й | 78,5 | 18,5 | 30,5 | 66,5 | 11,5 | 15,5 | 12 | 4 | -12 | -7 | -15 |
| 4-й | 80,5 | 21,5 | 17,5 | 56 | 7 | 17 | - 4 | 10 | -24,5 | -14,5 | -0,5 |
| ВЯС | Med до | | Med-Min до | | Max-Med до | | Med після | Med-Min після | Max-Med після | Тип світіння | |
| 2-й | 0,09593 | | 0,061248 | | 0,039364 | | 0,117862 | 0,039074 | 0,041647 | Ендокр-токс. тип | |
| 3-й | 0,097407 | | 0,0716 | | 0,030798 | | 0,158567 | 0,032781 | 0,034981 | Ендокр-токс. тип | |
| 4-й | 0,06687 | | 0,030506 | | 0,061179 | | 0,135367 | 0,050001 | 0,04756 | Ознаки дегенерації | |

Спочатку у пацієнта ШК навколо всіх пальців змінюється в різним ступенем прояви, як Med-Min, так і Max-Med. Перша різниця ШК відображає наявність випадіння в короні або ділянок з люмінесценцією світліше фону плівки. Друга різниця ШК відповідає ділянкам з точками інтоксикації, з ознаками дегенерації, які з'являються при метаболічних порушеннях і структурних перебудовах в тканинах. Після прийому мінеральної води спостерігається значне зменшення різниці Max-Med на 2-му і 3-му пальцях (зони товстого кишечника і нирок), які спочатку були високими, що віддзеркалювало зменшення інтоксикації. У цих секторах зменшилася Med-Min, тобто і випадіння в короні.

На 4 п. цей параметр не змінився (зона статевої сфери). Зміни оцінюваних параметрів кірліанограми дозволяють оцінити тип світіння у даного пацієнта в загалі, як ендокринно-токсичний з активними реакціями адаптації. На 2-му і 3-му пальцях по відношенню ЯС переважають інтенсивні ділянки в короні над більш світлими, що розцінюється, як точки інтоксикації. На 4 п. на тлі зниженої ЯС є більш світлі ділянки, що розцінюється, як випадіння в циркуляції енергії. Висновок: у пацієнта змішаний тип світіння зі збереженими реакціями адаптації. Після прийому мінеральної води світіння ближче до нормального. Ефект від терапії позитивний і пролонгований.

Приклад 2. Пацієнт Д.

| Палець / Finger | Ширина корони / Crown width | | | | | | До / Before | Після / After | Різниця між до та після / Dif- ference between be- fore and after | Різниця між до та після / Dif- ference between be- fore and after | До прийому води / Before receiving water |
|--------------------|---|-------------|----------------|--|---------------|-------------|----------------|------------------|--|--|---|
| | До прийому води/ Before receiving water | | | Після прийому води/After receiving water | | | | | | | |
| | Med | Med- Min | Max- Med | Med | Med- Min | Max- Med | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 2-й | 53,5 | 8,5 | 20,5 | 54 | 8 | 8 | 8 | 0 | 0,5 | -0,5 | -12,5 |
| 3-й | 60 | 13 | 10 | 56,5 | 22,5 | 15,5 | - 3 | - 7 | -3,5 | 9,5 | 5,5 |
| 4-й | 55 | 13 | 30 | 57 | 11 | 7 | 17 | - 4 | 2 | - 2 | -23 |
| ВЯС | Med до | | Med- Min до | | Max-Med до | | Med після | Med- Min | Max-Med | Тип світіння | |
| 2-й | 0,06218 | | 0,022884 | | 0,029908 | | 0,126931 | 0,061275 | 0,032863 | дегенерація | |
| 3-й | 0,111399 | | 0,03886 | | 0,050905 | | 0,125958 | 0,048639 | 0,032772 | дегенерація | |
| 4-й | 0,097103 | | 0,042916 | | 0,041511 | | 0,111438 | 0,033718 | 0,049184 | дегенерація | |

За різницею Med-Min ширини корони у пацієнта випадіння відсутні або незначні. За результатами Max-Med ШК інтенсивність корони значна на 2 п., яка після прийому води зникла, що може бути пов'язано з інтоксикацією або дегенерацією. З аналізу відношення ЯС – є ознаки дегенерації. Після прийому води вони зменшилися. Після прийому води за різницею медіан на 3 п. відзначається збільшення випадінь і інтоксикації, що є позитивною реакцією організму, і відбиває активацію дезінтоксикаційних систем та вегетативної регуляції, у порівнянні з початковими ознаками дегенеративного типу світіння (монотонність різниць). На 4 п. спостерігається зменшення інтоксикації за різницею Max-Med відношення ЯС після вживання води. Висновок: у пацієнта токсико-дегенеративний тип світіння зі зниженими резервами адаптації. Після прийому води ознаки інтоксикації і дегенерації зменшилися. Клінічно ефект від проведеної терапії був хорошим, але не тривалим, загострилася кардіологічна патологія.

Приклад 3. Пацієнтка С.

| Палець/ Finger | Ширина корони / Crown width | | | | | | До/ Before | Після/ After | Різниця між до та після/ Difference between before and after | Різниця між до та після/ Difference between before and after | До прийому води/ Before receiving water |
|-------------------|--|---------|------------|--|---------|-----------|---------------|-----------------|---|---|--|
| | До прийому води/ Before receiving water | | | Після прийому води/ After receiving water | | | | | | | |
| | Med | Med-Min | Max-Med | Med | Med-Min | Max-Med | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 2-й | 55,5 | 27,5 | 13,5 | 61 | 10 | 14 | - 14 | 4 | 5,5 | - 17,5 | 0,5 |
| 3-й | 65 | 15 | 20 | 67,5 | 18,5 | 15,5 | 5 | - 3 | 2,5 | 3,5 | - 4,5 |
| 4-й | 61,5 | 8,5 | 26,5 | 63 | 8 | 10 | 16 | 2 | 1,5 | - 0,5 | -16,5 |
| ВЯС | Med до | | Med-Min до | Max-Med до | | Med після | | Med-Min після | Max-Med після | Тип світіння | |
| 2-й | 0,139091 | | 0,048181 | 0,241591 | | 0,111578 | | 0,034197 | 0,136907 | Ендокр.-токсичний | |
| 3-й | 0,132292 | | 0,024697 | 0,139313 | | 0,140955 | | 0,034994 | 0,059046 | Ендокр.-токсичний | |
| 4-й | 0,144163 | | 0,104838 | 0,083381 | | 0,133333 | | 0,046124 | 0,020041 | Ендокр.-токсичний | |

По різноманітним відмінностям медіан ширини корони всіх обстежених пальців – мають місце ознаки як випадінь в короні світіння, так і інтоксикації, які після прийому води зменшилися. Відношення яскравості світіння - в нормі, з вираженою різницею Med-Min на 4 п. – інтоксикація, виражена Max-Med на 2-му і 3-му пальцях – випадання в короні, які після прийому води значно зменшилися. Висновок: у пацієнта ендокринно-токсичний тип випромінювання з нормальним енерго-інформаційним гомеостазом. Після прийому води ознаки вегетопатії та інтоксикації зменшилися. Клінічний ефект від стандартної терапії був добрий і тривалий.

ВИСНОВКИ

1. Отримані результати обробки кірліаногам пальців рук людини відповідають клінічним станам пацієнта.

2. Метод кірліанфотографії із запропонованою комп'ютерною обробкою зображень може бути використаний, як експрес-метод оцінки реакцій адаптації організму людини та має прогностичне значення для визначення ризику виникнення захворювань та перебігу хвороби.

3. Метод кірліанфотографії може бути використаний для оцінки впливу природних вод на організм людини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Mandel P., 1983. Energetische Terminalpunkt – Diagnos. FRG, ESSEN, 199 p.
2. Кирлиан С.Д. Подано 5.09.1949. Опубл. 1.01.1957 г. Способ получения фотографических снимков различного рода объектов. Авт. свид. №106401, кл. G03B 41/00.
3. Pesotskaya L.A., Suhoivanova R.I., 2001. Human being ecology us impotantt factor of society stable development. NATO science programme “From transitional economy to sustainable development”. Dnipropetrovsk, Ukraine, October, p. 22 – 25.
4. Кришень П.Ф., Пісоцька Л.А., Найдьон Л.І., Дементій Н.П., Демчик О.М., 2004. Застосування методу кірліан-графічної оцінки функціонального стану організму людини в гастроентерологічній практиці. Методичні рекомендації МОЗ України, Київ, 11 с.
5. Мачерет Є.Л., Мінцер О.П., Чуприна Г.М., Пісоцька Л.А., Шостак Л.В., Бабенко В.В., Максименко В.Ф., Мінцер В.О., 2004. Застосування експрес-методу кірліан-графічної оцінки функціонального стану організму людини для встановлення судинних порушень в області голови та адаптації організму до них. Методичні рекомендації МОЗ України від 8.11.04 р. № 275, Київ, 10 с.
6. Минцер О.П., Гороява А.И., Песоцкая Л.А. и др. 2006. Использование метода кирлиан-графии для экспресс-оценки функционального состояния организма человека на промышленных предприятиях. Методические рекомендации, утвержденные Минздравом Украины 5.12.2006 г., г. Киев, 13 с.
7. Песоцкая Л.А., Третяк Н.Н., Гайдукова С.Н. и др. 2006. Использование метода кирлиан-графической оценки функционального состояния организма человека для установления интоксикации и степени адаптации к ней. Методические рекомендации, утвержденные Минздравом Украины 5.12.2006, г. Киев, 16 с.
8. Мінцер О.П., Пісоцька Л.А., Горова А.І., Риженко С.А., Рукавишникова Д.К. та інші, 2008. Застосування методу кірліан-графії для експрес-діагностики ранньої дезадаптації у дітей дошкільного віку до дії несприятливих факторів навколишнього середовища. Методичні рекомендації МОЗ України від 16.03.08 р., Київ, 20 с.
9. Песоцкая Л.А., Лапицкий В.Н., Черепанова-Лагутенко Р.С., Зоричев В., 2012. Кирлианография, как метод экспресс-диагностики раннего выявления интоксикации. Материалы IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та перспективи розвитку науки на початку третього тисячоліття у країнах СНД» 29 вересня – 1 жовтня, Переяслав-Хмельницький, 21– 23. Інтернет-ресурс: http://conferences.neasmo.org.ua/zbirnuk_final_09_2012.pdf
10. Песоцкая Л.А., 2013. Кирлианография, как метод диагностики энерго-информационного состояния организма. Материалы научно-практической конференции с международным участием «Человек: здоровье, медицина, экология 24 - 26 июня 2013 г., о. Хайнань (Китай). Академический журнал Западной Сибири, Т. 9, 2 (45), 25 – 26: www.elibrary.ru
11. Глухова Н.В., Пісоцька Л.А., Антипенко О.І., Белік Т.М., 2014. Статистичний аналіз кірліанограм.VIII Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Проблеми та перспективи розвитку науки на початку третього тисячоліття у країнах Європи та Азії». Україна, Переяслав-Хмельницький. 29 - 30 листопада, 91 - 93.
12. Глухова Н.В., Пісоцька Л.А., 2015. Методи реєстрації та вейвлет-аналізу зображень газорозрядного випромінювання. Системи обробки інформації, 1 (126), 16 - 19.
13. Песоцкая Л.А., Глухова Н.В., 3 июля 2015. Разработка метода анализа геометрических и яркостных параметров изображений газоразрядного излучения. Конференция «Биофизические методы в клинической лабораторной диагностике» года, С.-Петербург, 6 с. Эл. ресурс: <https://yadi.sk/d/6YiVh3pphvdJu>
14. Пісоцька Л.А., Глухова Н.В., 2015. Розробка методу комп'ютерної обробки кірліанографічних зображень. Материалы II-го Съезда по медицинской и

- биологической информатике и кибернетике с международным участием 12–14 ноября, Киев, Украина. Медична інформатика та інженерія, 4, 104–105.
15. Глухова Н.В., Песоцкая Л.А., 2015. Метод оценки информативных признаков кирлиан-изображений. Современные проблемы гуманитарных и естественных наук: Материалы XXV международной научно-практической конференции 26–27 ноября в 2 т.: том I, Науч.-инф. издат. центр «Институт стратегических исследований», М.: Изд-во «Перо», 75 - 78.
 16. Glukhova N.V., Pesotskaya L.A., 2015. Method of analysis of water influence on the state of the human organism using classic kirlianoigraphy. Science and Education: materials of the X international research and practice conference, Munich, December 9th – 10th, Vol. I, Publishing office Vela Verlag Waldkraiburg, Munich, Germany, 53 - 59.
 17. Песоцкая Л.А., Глухова Н.В., 2015. Разработка метода комплексной оценки состояния организма на базе анализа изображений газорозрядного излучения. Академический журнал Западной Сибири, Т.11, 5 (60), 67 – 68.
 18. Глухова Н.В., Пісоцька Л.А., 2015. Методи реєстрації та вейвлет-аналізу зображень газорозрядного випромінювання. Системи обробки інформації, 1 (126), 16 - 19.
 19. Песоцкая Л.А., Глухова Н.В., Евдокименко Н.М., Саблина Л.И., 2016. Оценка качества природных вод по изменению энерго-информационного состояния человека. Валеология: сучасний стан, напрямки та перспективи розвитку. Тези доповідей XIУ Міжнародної науково-практичної конференції 14– 16 квітня, Харків – Дрогобич, 306 – 309.
 20. Евдокименко Н.М., Песоцкая Л.А., Повстяный В.А., Глухова Н.В., 2015. Корреляция кирлианографических и биохимических характеристик на примере ахилового сухожилия. Валеология: сучасний стан, напрямки та перспективи розвитку. Тези доповідей XI11 міжн. науково-практичної конференції 9 - 11 квітня, Харков, 206 – 208. <http://valeolog.net>
 21. Песоцкая Л.А., Евдокименко Н.М., 2015. О некоторых биохимических аспектах кирлианографии. Материалы IV научно-практической конференции с международным участием «Медицина: достижения нового века» 27-28 февраля, о. Гоа (Индия). Академический журнал Западной Сибири, Т. 11, 1 (56), 17–18. Интернет-ресурс: www.elibrary.ru
 22. Пісоцька Л.А., Глухова Н.В., Повстяний В.А., Євдокименко Н.М., Черненко Г.П., 2015. Порівняльний аналіз кірліанграфічного світіння біологічної тканини з біохімічними процесами. Медична інформатика та інженерія, 4, 48– 53.
 23. Народная и нетрадиционная медицина Украины, 2003. Вып. 1, Киев, 26.
 24. Пісоцька Л.А., Мінцер О.П., Глухова Н.В., 2015. Пристрій для реєстрації зображення кірліан-світіння біологічних об'єктів. Патент України на корисну модель №100879 від 10.08., Бюл. №15, 3 с.
 25. Козинец Г.И., 1995. Интерпретация анализов крови и мочи, АТЗТ "САЛИТЬ", 22.
 26. Глухова Н.В., Пісоцька Л.А., 2014. Діагностика захворювань крові на основі кластерного аналізу зображень газорозрядного світіння. Медична інформатика та інженерія, 3, 58–63.
 27. Пісоцька Л.А., Глухова Н.В., 2013. Спосіб діагностики захворювань крові. Патент України на корисну модель №82295 від 25.07., 7 с.
 28. Песоцкая Л.А., Глухова Н.В., Опрятная Т.О., 2013. Кирлиан-фотография мазков крови при анемиях. Материалы У11 научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в медицине» 4-6 ноября, Гоа (Индия). Академический журнал Западной Сибири, Т. 9, 5 (48), 23- 24: www.elibrary.ru; www.medpsy.ru.

ABSTRACT

THE USE OF THE METHOD OF KIRLIAN PHOTOGRAPHY IN THE EVALUATION OF NONSPECIFIC ADAPTATION REACTIONS OF THE HUMAN BODY

Relevant is the assessment of non-specific compensatory reactions of the body's adaptation on to the biochemical and structural level to adverse factors internal or external environment that determines the risk of a disease or the course of an existing disease. Such influence is implemented at the level of quantum field and bioenergetic interrelations between them and is visualized in the form of luminescence in a high frequency field known as the Kirlian effect. The paper presents the results of kirlian- photo fingers latching on X-ray film 8 patients with blood diseases. The status of adaptive reactions in them was analyzed according to the change of type of illumination on the photograms, according to the criteria of P. Mandela in 5 minutes after taking natural water as the test display. Determined endocrine type glow in disorders of autonomic regulation, with a characteristic loss in the crown; toxic type at activation of metabolic processes, with characteristic point of the prominences at the crown, a degenerative type of glow in dystrophic and structural changes in cells and tissues of the body, increasing the intensity of the illumination and effacement streamer pattern. The obtained images were scanned to determine the emission regions corresponding to organs and systems of the body. Quantitatively, the estimated width of the crown of illumination, the characteristics of the image brightness: the median relations of the minimum and maximum brightness values and their difference. In 5 out of 8 (62.5 percent) with an initially reduced brightness (degenerative type of illumination) is increased (up to 0,094-0,137), with different directional delta in the width of the crown. This reflects the appearance of point of intoxication, losses in the crown, less intensive, normal streamer pattern in the crown that is positive for the disease. The observed changes in energy activity, the systems of adaptation of patients after administration of natural waters has been correlated with efficacy in the future standard treatment, which determines their prognostic value in clinical practice. The examples of analysis of photograms 3 fingers of the right hand with the localization of sectors of the regulatory systems and the drainage of the organs of patients with different diseases and types of Kirlian luminescence. patient with multiple myeloma installed a mixed type of luminescence reactions with the stored adaptation. After taking natural water glow became close to normal. The effect of the standard therapy was a positive and prolonged. In a patient with B-cell NHL revealed a toxic-degenerative type of emission, with reduced reactions of adaptation. After taking the water signs of intoxication and degeneration diminished, but not disappeared. The effect of treatment was insufficient and of short duration. The method of kirlianography with the proposed computer image processing can be used as a rapid method for evaluation of adaptive reactions of the human body and has prognostic value for the disease, and to establish risk of disease. It can be used to assess the effect of samples of natural waters on the human body.

Юрій Похилько, Наталія Кравченко

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
e-mail: pohilko.yura@gmail.com

БАКТЕРІЇ РОДУ *Lactobacillus*, ВИДІЛЕНІ ЗІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ КРОЛЯ, ЯК ОСНОВА ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКИ САЛЬМОНЕЛЬОЗНИХ ІНФЕКЦІЙ

Анотація. Представлені дані дослідження антагоністичної активності бактерій роду *Lactobacillus*, виділених зі шлунково-кишкового тракту кроля, до найбільш розповсюджених збудників сальмонельозних інфекцій. Для подальшої роботи був відібраний штам *L.helveticus* 13/2, який утворював найбільші зони затримки росту патогенних мікроорганізмів. Введення дослідним тваринам *per os* молока ферментованого досліджуваним штамом з профілактичною метою, дозволило зберегти 100% дослідних тварин при зараженні *S. typhimurium* та 90% при – *S. enteritidis*. Також, представлені дані щодо можливості використання штаму *L.helveticus* 13/2 з метою лікування сальмонельозних інфекцій за щоденного введення дослідним тваринам *per os* молока ферментованого досліджуваним штамом. Використання штаму *L.helveticus* 13/2 для лікування сальмонельозних інфекцій дозволило зберегти 75% дослідних тварин при зараженні *S. typhimurium* та 65% при – *S. enteritidis*.

Обґрунтовано, що селекціонований штам *L.helveticus* 13/2 є перспективним для використання його як основи лікувально-профілактичного пробіотичного препарату при сальмонельозних інфекціях.

Ключові слова: лікування, профілактика, сальмонельоз, молочнокислі бактерії

ВСТУП

Сучасна інфекційна патологія молодняка сільськогосподарських тварин, як свідчать результати досліджень останніх років, тісно пов'язана з ростом опортуністичних кишкових інфекцій, збудниками яких є патогенні та умовно-патогенні бактерії. Основним біотопом патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, зокрема сальмонел, є кишковик теплокровних тварин. Ці мікроорганізми широко циркулюють в господарствах, мають різнобічний спектр вірулентності, в тому числі антибіотикостійкості [1, 11]. Висока екологічна пластичність цих мікроорганізмів дозволяє їм тривалий час зберігатися у різних об'єктах зовнішнього середовища. Наприклад сальмонели у продуктах харчування та воді можуть виживати декілька тижнів в залежності від умов (температура, вологість і ін.), а у кормах для тварин – місяцями [3, 6, 9, 13, 16, 23]. При значному обсіменінні кормів, зовнішнього середовища ентеробактерії швидше ніж представники облігатної мікрофлори (біфідобактерії, молочнокислі, пропіоновокислі бактерії тощо) колонізують кишковик новонароджених тварин, викликаючи хвороби шлунково-кишкового тракту з діарейним синдромом.

Крім того, згідно звітів Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) збільшення виробництва продукції тваринного походження супроводжується зростанням спалахів харчових токсикоінфекцій, у тому числі у країнах СНД захворюваність сальмонельозом людини та тварин за останні 15 років зросла у 7 разів. За висновками експертів ВООЗ сальмонельозна інфекція не має собі рівних за складністю епізоології, епідеміології та важкістю боротьби з нею [10, 22].

В даний час для лікування та профілактики сальмонельозу застосовують комплексні антибактеріальні препарати. Антибіотики і хіміотерапевтичні засоби не завжди ефективні,

оскільки, сальмонели мають стійкість до багатьох антибіотиків [14, 15]. У зв'язку з цим ВООЗ не рекомендує використовувати антибіотики в боротьбі з даною інфекцією [12, 21].

Поширення сальмонельозоносійства серед людей і тварин, відсутність тенденції до зниження захворюваності в більшості країн світу, збільшення контамінації сальмонелами різних об'єктів зовнішнього середовища спонукають до необхідності пошуку нових ефективних засобів боротьби із захворюванням [20]. Одним із шляхів вирішення проблеми сальмонельозу є використання пробіотиків. Найчастіше до їх складу входять представники облигатної мікрофлори шлунково-кишкового тракту людини і тварин – бактерії родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*, здатних проявляти антагонізм до патогенних й умовно-патогенних мікроорганізмів та колонізувати кишковик [18, 19].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами дослідження були штами бактерій роду *Lactobacillus*, виділені з шлунково-кишкового тракту кролів та ідентифіковані у лабораторії пробіотиків Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва (ІСМАВ) НААН України. Молочнокислі бактерії культивували упродовж 48 годин на агаризованому гідролізованому молоці [7]. Тест-культурами слугували два штами бактерій роду *Salmonella*: *Salmonella typhimurium* № 89, отриманий з Чернігівської обласної санітарно-епідеміологічної станції, та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko*, отриманий з колекції штамів мікроорганізмів лабораторії пробіотиків ІСМАВ. Патогенні мікроорганізми культивували на м'ясо-пептонному агарі (МПА) при температурі 37°C. Дослідження антагоністичної активності проводили *in vitro* дифузним методом блоків [2]. Штами бактерій роду *Lactobacillus* вважалися нами неактивними при утворенні зони затримки росту 0-5 мм, від 5 до 10 мм – мало активними, 11-20 мм – активними, більше 20 мм – високоактивними. Відповідно антагоністичну активність досліджуваних штамів оцінювали як «відсутню», «слабку», «помірну» та «сильну».

Дослідження можливості використання бактерій роду *Lactobacillus*, виділених зі шлунково-кишкового тракту кроля, для профілактики сальмонельозних інфекцій проводили у віварії лабораторії пробіотиків ІСМАВ у дослідах *in vivo* на білих лабораторних мишах, вагою 10-14 г. Тварини були розділені на три контрольні та дві дослідні групи, по 10 голів в кожній. Тварини першої групи залишалися інтактними, їм згодовували упродовж всього експерименту лише звичайний раціон. Тварини другої та третьої контрольних груп отримували звичайний раціон, а на восьму добу досліду їм задавали *per os* суспензії, що містили *Salmonella typhimurium* № 89 та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko* відповідно. Кожна доза включала не менше $2,5 \times 10^6$ КУО бактерій. Тваринам четвертої та п'ятої дослідних груп, упродовж тижня, окрім звичайного раціону, *per os* задавали ферментоване штамом *Lactobacillus helveticus* 13/2 знежирене молоко, в дозі, що містила не менше 1×10^8 КУО бактерій. На восьму добу експерименту тваринам дослідних груп були задані суспензії, що містили *Salmonella typhimurium* № 89 (четвертій групі тварин) та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko* (п'ятій групі тварин) у тих самих дозах, що й тваринам другої та третьої контрольних груп. За станом здоров'я мишей сліdkували упродовж 15-ти діб, після введення бактерій роду *Salmonella*.

Дослідження можливості використання бактерій роду *Lactobacillus*, виділених зі шлунково-кишкового тракту кроля, для лікування сальмонельозних інфекцій проводили у віварії лабораторії пробіотиків ІСМАВ у дослідах *in vivo* на білих лабораторних мишах, вагою 10-14 г. Тварини були розділені на три контрольні та дві дослідні групи, по 10 голів в кожній. Тварини першої групи залишалися інтактними, їм згодовували упродовж всього експерименту лише звичайний раціон. Тваринам другої та третьої контрольних груп задавали *per os* суспензії, що містили *Salmonella typhimurium* № 89 та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko* відповідно. Кожна доза включала не менше 1×10^9 КУО бактерій.

Тваринам дослідних груп були задані суспензії, що містили *Salmonella typhimurium* № 89 (четвертій групі тварин) та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko* (п'ятій групі тварин) у тих самих дозах, що й тваринам другої та третьої контрольних груп. Тваринам четвертої та п'ятої дослідних груп, через 20 хвилин після введення суспензій, що містили бактерії роду *Salmonella* упродовж 15 діб, окрім звичайного раціону, *per os* задавали ферментоване штамом *Lactobacillus helveticus* 13/2 знежирене молоко, у дозі, що містила не менше 1×10^8 КУО бактерій. За станом здоров'я мишей слідували упродовж 15-ти діб.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У попередніх дослідженнях нами отримано більше 80-ти ізолятів молочнокислих бактерій зі шлунково-кишкового тракту кролів. Для подальшої роботи селекціоновано 7 штамів. Видову належність виділених чистих культур молочнокислих бактерій визначали на основі вивчення морфологічних, культуральних та фізіолого-біохімічних властивостей.

Однією з головних вимог при відборі пробіотичних штамів мікроорганізмів є їх антагоністична активність щодо патогенних та умовно-патогенних бактерій.

На антагоністичну активність молочнокислих бактерій дослідники звернули увагу, ще в ХХ ст., особливо в зв'язку з їх дією на мікрофлору шлунково-кишкового тракту [17]. Цей факт викликав особливу зацікавленість в зв'язку з тим, що деякі представники даних мікроорганізмів здатні витіснити облігатну мікрофлору в шлунково-кишковому тракті людини та тварин [8]. Разом з тим, відомо, що прояв біологічних властивостей мікроорганізмів у тому числі і антагоністичних, часто обумовлені джерелом їх виділення. Зокрема, багатьма вченими було доведено, що представники одного й того ж виду мікроорганізмів, виділених з різних екологічних місць, проявляють різну біологічну активність [4, 5].

Однак в доступній нам літературі відсутні дані відносно антагоністичної активності молочнокислих бактерій, виділених з шлунково-кишкового тракту кролів.

Результати дослідження антагоністичної активності бактерій роду *Lactobacillus*, виділених нами зі шлунково-кишкового тракту кролів, до сальмонел представлені в таблиці. Отримані дані свідчать, що всі штами, окрім *L. casei* 5/4, проявляли середню та сильну антагоністичну активність до *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko* та *Salmonella typhimurium* № 89. Для подальшої роботи був відібраний штам *L. helveticus* 13/2, який утворював найбільшу зону затримки росту досліджуваних тест-культур.

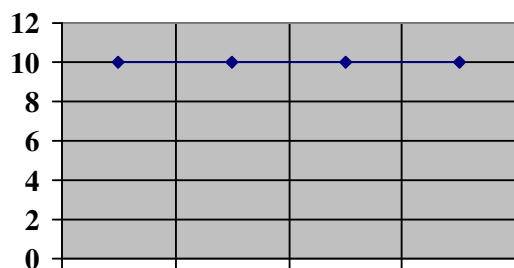
Таблиця. Антагоністична активність бактерій роду *Lactobacillus*, виділених з шлунково-кишкового тракту кролів до бактерій роду *Salmonella* (n=5)

Table. Antagonistic activity of bacteria of the genus *Lactobacillus*, isolated from the digestive tract rabbits to bacteria of the genus *Salmonella* (n = 5)

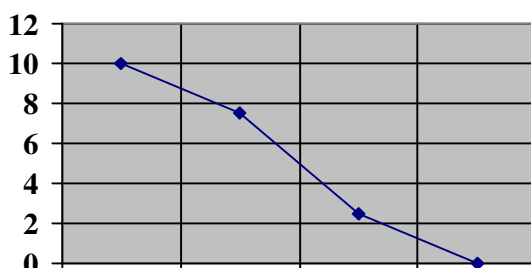
| Досліджувані штами / Investigated strains | Середні зони затримки росту сальмонел, мм/ Average area stunted growth of <i>Salmonella</i> , mm | |
|--|---|------------------------------------|
| | <i>Salmonella enteritidis</i> Ч1 | <i>Salmonella typhimurium</i> № 89 |
| <i>L. lactis</i> 4/1 | 14,2±0,2 | 13,5±0,3 |
| <i>L. casei</i> 5/4 | 8,0±0,1 | 9,5±0,3 |
| <i>L. helveticus</i> 13/2 | 20,5±0,5 | 18,3±0,3 |
| <i>L. salivarius</i> 16/1 | 12,3±0,3 | 14,3±0,3 |
| <i>L. salivarius</i> 16/3 | 11,2±0,5 | 12,5±0,5 |
| <i>L. salivarius</i> 17/2 | 17,3±0,3 | 15,5±0,5 |
| <i>L. salivarius</i> 17/3 | 15,0±0,5 | 16,3±0,6 |

Примітка: $p \leq 0,05$

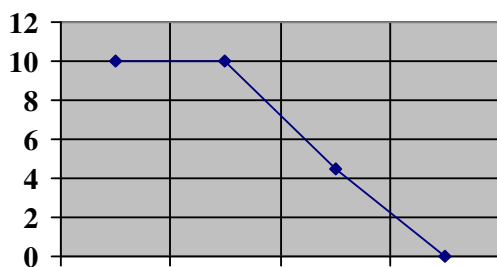
В дослідях *in vivo* на білих лабораторних мишах нами досліджено можливість використання штаму *L.helveticus* 13/2 з метою профілактики сальмонельозних інфекцій (мал.1).



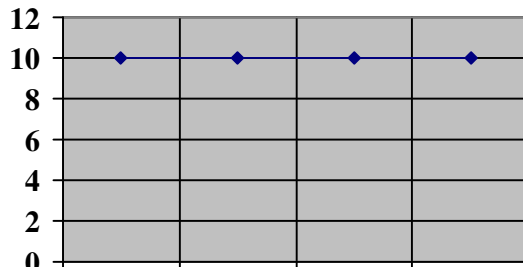
1 доба 5 доба 10 доба 15 доба
А) Перша група, збереженість голів
A) The first group, survival heads



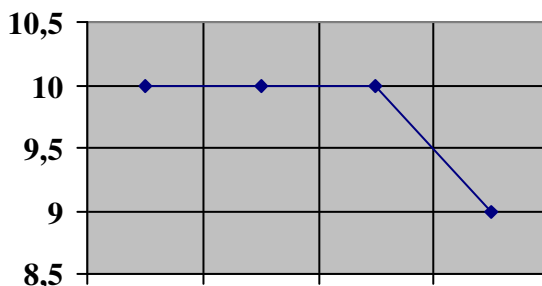
1 доба 5 доба 10 доба 15 доба
Б) Друга група, збереженість голів
B) The second group, survival heads



1 доба 5 доба 10 доба 15 доба
В) Третя група, збереженість голів
C) The third group, survival heads



1 доба 5 доба 10 доба 15 доба
Г) Четверта група, збереженість голів
D) The fourth group, survival heads



1 доба 5 доба 10 доба 15 доба
Г) П'ята група, збереженість голів
E) The fifth group, survival heads

Рисунок 1. Ефективність використання штаму *L.helveticus* 13/2 для профілактики сальмонельозних інфекцій (n=10)

Figure 1. Efficiency of strain *L.helveticus* 13/2 for the prevention of *Salmonella* infections (n = 10)

Встановлено, що упродовж перших 5 днів спостереження, збереженість тварин склала 100% в усіх групах, окрім другої контрольної, де збереженість становила 75%. У період з 6-ї по 10-ту добу смертність тварин у другій контрольній групі склала 50% та 65% у третій. У цей же період спостереження збереженість тварин у четвертій та п'ятій дослідних групах склала 100%. Взагалом, за весь термін спостереження у другій та третій контрольних групах смертність тварин сягла 100%, а у дослідних групах лише у п'ятій вона склала 10%. У першій контрольній групі за час експерименту падіж був відсутній.

Отже, було встановлено, що використання штаму *L.helveticus* 13/2, з метою профілактики інфікування сальмонельозом, дозволило зберегти 100% дослідних тварин у групі при зараженні *Salmonella typhimurium* № 89 та 90% - при *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko*.

Нами також у дослідях *in vivo* на білих лабораторних мишах встановлено можливість застосування штаму *L.helveticus* 13/2 при сальмонельозі з лікувальною метою (рис. 2).

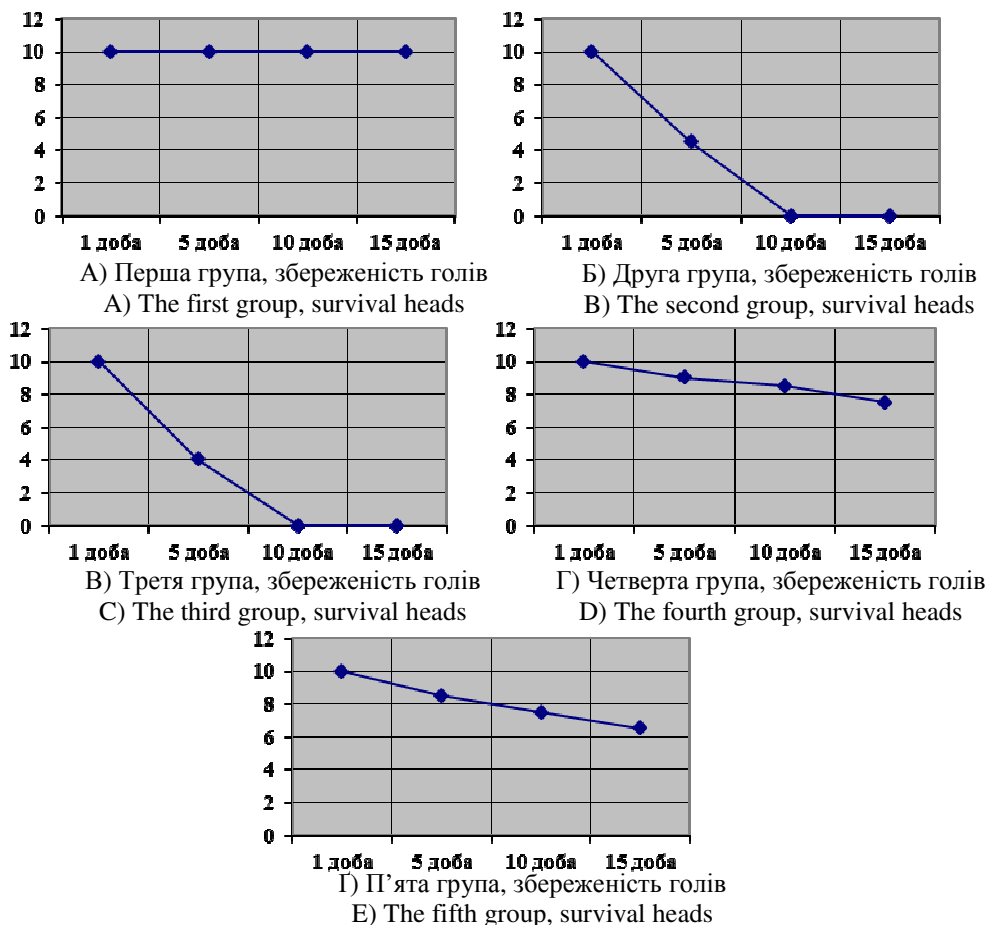


Рисунок 2. Ефективність використання штаму *L.helveticus* 13/2 для лікування сальмонельозних інфекцій (n=10)

Figure 2. Efficiency of strain *L.helveticus* 13/2 for treatment of *Salmonella* infections (n = 10)

Так, під час зараження мишей штамом *Salmonella typhimurium* № 89 у перші п'ять днів смертність тварин у дослідній групі зменшилась в 5,5 разів, а *Salmonella enteritidis* Ч1 var.

Issatschenko – у 4 рази порівняно з контрольними групами. Також, нами було відмічено, що вже на п'яту добу лікування у деяких мишей дослідних груп, були відсутні клінічні ознаки захворювання. Порівняно з контролем, суттєво зменшилася смертність тварин у період з 6 по 10-ту добу лікування. У четвертій дослідній групі за цей період спостерігалось зменшення смертності тварин у 9 разів, порівняно з другою контрольною групою. Також, задоволення молока, ферментованого досліджуваним штамом молочнокислих бактерій, виявилось ефективним у п'ятій дослідній групі, де смертність зменшилась у 4 рази, порівняно з третьою контрольною групою. При введенні лабораторним тваринам лише суспензій бактерій роду *Salmonella* в дозі, що містила не менше 1×10^9 КУО мікроорганізмів, смертність тварин до 15 доби склала 100%. У першій контрольній групі за час експерименту падіж був відсутній.

Таким чином, використання штаму *L.helveticus* 13/2 для лікування сальмонельозу у білих лабораторних мишей, дозволило зберегти 75% та 65% дослідних тварин при зараженні *Salmonella typhimurium* № 89 та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko* відповідно.

Отриманий позитивний ефект при лікуванні та профілактиці сальмонельозу лабораторних тварин, пояснюється наявністю у досліджуваного штаму малочислих бактерій антагоністичної активності до збудників сальмонельозних інфекцій, яка попередньо була досліджена *in vitro*. Крім того, з літературних джерел відомо про адгезивну активність молочнокислих бактерій, яка на нашу думку сприяла колонізації штаму *L.helveticus* 13/2 на слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту дослідних тварин, що послужило захисним бар'єром на шляху проникнення збудників сальмонельозних інфекцій.

ВИСНОВКИ

Досліджено антагоністичну активність молочнокислих бактерій, виділених зі шлунково-кишкового тракту кролів, до *Salmonella typhimurium* № 89 та *Salmonella enteritidis* Ч1 var. *Issatschenko*. Встановлено, що найбільшу антагоністичну активність проявляв штам *L.helveticus* 13/2.

У дослідях *in vivo* на білих лабораторних мишах, нами виявлений позитивний ефект за використання штаму *L.helveticus* 13/2 з лікувальною та профілактичною метою по відношенню до сальмонельозних інфекцій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аблов А.М., 2013. Бактериальные инфекции животных на территории Прибайкалья. Журнал инфекционной патологии, 20,18–20.
2. Аникиев В.В., 1977. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: Наука, 112.
3. Барштейн А., 2003. Механизм передачи возбудителя и патогенез инфекционной болезни. ВМедА, 4, 30.
4. Ганбаров Х.Г., 2006. Антибактериальная активность лактобактерий рода *Lactobacillus*. Журн. Микробиол, 8, 56.
5. Глушанова Н.А., 2003. Биологические свойства лактобацилл. Бюл. сибирской медицины, 4, 50-58.
6. Гузеева Т. М., 2011. Состояние диагностики паразитарных заболеваний в Российской Федерации. Мед. Паразитол, 4, 43-45.
7. Квасников В. И., 1975. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М.: Наука, 88.
8. Куриная Е. Г., 2015. Пробиотики, пребиотики и кишечная микрофлора: современный взгляд. Часть II. Сучасна гастроентерологія, 1, 96-102.

9. Онищенко Г. Г., 2013. Эпидемиологическое благополучие населения России. Журн. Микробиол, 1, 42-51.
10. Пименов Н. В., 2013. Лечение и профилактика сальмонеллеза голубей и животных зоопарков с использованием фаготерапии и пробиотика. Российский ветеринарный журнал, 6, 6-8.
11. Пименов Н.В., 2012. Совершенствование средств и методов борьбы с сальмонеллезом птиц. Ветеринария и кормление, 4, 32-33.
12. Решетнева И. Т., 2015. Антибиотикорезистентность сальмонелл, выделенных на территории Красноярского края. Гигиена и санитария, 2, 35-38.
13. Сергиев В. П., 2013. Проблемы медицинской паразитологии. Журн. микробиол. 1, 102-105.
14. Туманов Ф.А., 1977. Оценка антибактериальной терапии при гастроинтестинальных формах сальмонеллеза. Советская медицина, 7, 64.
15. Шахмарданов М. З., 2013. К вопросу о противобактериальной терапии гастроинтестинальной формы сальмонеллеза. Эпидемиология и инфекционные болезни, 1, 4-7.
16. Якубовский М.В., 2011. Современные средства терапии и профилактики паразитарных болезней животных. Ветеринария сельскохозяйственных животных, 11, 4-6.
17. Bonska J., 1906. Исследования об антагонизме между ферментами кислого молока и бактериями группы сенной палочки. Landw. Jahreb. Schweiz, 17, 249.
18. Castillo N. A., 2012. Probiotics: An alternative strategy for combating salmonellosis: Immune mechanisms involved. Food Research International, 45(2), 831-841.
19. Fuller R., 1999. Probiotics. In Colonic Microbiota, Nutrition and Health. Springer Netherlands, 89-99.
20. Havelaar A. H. 2013. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union 2009. Epidemiology and Infection, 2, 293-302.
21. Ivanov A.S., 2009. Modern views on antibiotic resistance and antibiotic therapy of salmonellosis. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya, 4, 26.
22. Pimenov N. V., 2013. Specific control of Salmonella in poultry. Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences, 11, 23.
23. Pires S. M., 2014. Source attribution of human salmonellosis: an overview of methods and estimates. Foodborne pathogens and disease, 11, 667-676.

ABSTRACT

BACTERIA OF THE GENUS *Lactobacillus*, ISOLATED FROM THE GASTROINTESTINAL TRACT OF RABBITS, AS THE BASIS OF PROBIOTIC FOR PREVENTION AND TREATMENT SALMONELLA INFECTIONS

Presents the results of research of antagonistic activity of bacteria of genus *Lactobacillus*, isolated from the gastrointestinal tract of rabbits, to *S. typhimurium* № 89 and *S. enteritidis* Ch1 var. *Issatschenko*. The data indicate that all strains showed antagonistic activity to the major causative agents of salmonellosis. For further research was selected strain *L. helveticus* 13/2, which formed the largest area of growth retardation studied test cultures.

Also *in vivo* experiments in mice investigated the possibility of using the test strain to prevent salmonella infections. It is found that during the first 5 days of observation, the safety of the animals was 100% in all test groups. Between 6 to 10 day mortality of the animals in the second control group was 50% and 65% in the third. At the same time monitoring the safety of the

animals in the fourth and fifth of the experimental groups was 100%. In general, for the entire period of observation in the second and third groups of control animals mortality reached 100% and experimental groups only in the fifth group it was 10%.

Presents the results of the research, *in vivo* experiments in mice the possibility of applying strain *L.helveticus* 13/2 for therapeutic purposes for salmonellosis .

For example, during infection of mouse strain *S. typhimurium* № 89 in the first five days of animal deaths in the experimental group decreased by 5.5 times, and *S. enteritidis* Ch1 var. *Issatschenko* - 4 times as compared to the control groups. Also, we observed that already in the fifth day of treatment, some mice of experimental groups , there were no clinical signs of disease. Compared with the control animals, significantly decreased mortality in the period from 6th to 10th day of treatment. In the fourth test group in this period there was a reduction of mortality is 9 times as compared with the second control group. Also, using fermented milk of lactic acid bacteria under study was strain effective in the fifth experimental group, where the mortality rate has decreased in 4-fold compared with the third control group.

It was found that the use of strain *L.helveticus* 13/2 for the treatment of salmonellosis in laboratory mice, allowed to keep 75% and 65% of the test animals when infected *S. typhimurium* № 89 and *S. enteritidis* Ch1 var. *Issatschenko*, respectively.

The resulting positive effect in the treatment and prevention of salmonellosis, due to the presence in the test strain of lactic acid bacteria strong antagonistic activity to the pathogens salmonella infections, which has been previously studied *in vitro*. In addition, the literature is known about the adhesion activity of lactic acid bacteria, which we believe contributed to the colonization of the strain *L.helveticus* 13/2 on the mucous membrane of the gastrointestinal tract of experimental animals and has served as a protective barrier to the penetration of pathogens salmonella infections.

Vasyl Stakhiv, Roman Kravtsiv, Grygoriy Kossak, Mykola Shpek
 Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University
 e-mail: vasylstakhiv@ukr.net

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND DETRIMENTAL EFFECTS OF SOSNOWSKYI'S HOGWEED (*Heracleum sosnowskyi*)

Abstract. The article describes biological characteristics and chemical composition of Sosnowskyi's Hogweed as well as its negative impact and discusses the ways to extradicate the plant. Back in the 1940's Hogweed was primarily cultivated for agricultural production as silage plant. In the sixties, it was imported onto the territory of this country in order to increase production of fodder due to such qualities as ruggedness, resistance to cold, fast growth in the spring and ability to form a large vegetative mass with a high content of carbohydrates, vitamins and minerals. However, the presence of furocoumarins in the green mass of plants that goes for silage, had a negative impact on animals' health, it also decreased the quality of agricultural products. The result was complete rejection of its cultivation otherwise it may have led to a quiet disaster in the areas of its growth due to the significant number of seeds and their fast spread. Moreover, it was later found that Hogweed was poisonous.

Over the past decades, the plants have become particularly widespread. They represent the invasive species, which were imported from the Caucasian mountains. All today's problems are mostly linked with only one species, the "aggressor" of the roadsides and neglected fields – Sosnowskyi's Hogweed (*Heracleum sosnowskyi*).

Key words: Sosnowskyi's Hogweed (*Heracleum sosnowskyi*), biological characteristics, chemical composition, negative and positive consequences, the main ways of weed control: chemical, agronomic, biological and mechanical.

INTRODUCTION

Hogweed Sosnowski (*Heracleum sosnowskyi*) is an invasive plant to the Ukraine's flora, originates from the Caucasus, where its young leaves were used for vegetable soups and borsch. Due to changes in the socio-economic conditions in the country and reforms in the agricultural sector the culture which was initially grown as fodder (silage) for animals in the 1950-ies, lost its food and economic value. Through the presence of furocoumarins that trigger severe dermatitis similar to burns upon contact with the human skin, Hogweed ceased to be cultivated for more than 30 years.

As it turned out this species can easily penetrate into natural ecosystems. Under these circumstances, and through the general inertness in society Hogweed left the fields where it had grown, "migrating" along Ukraine: sides of motorways and field roads, railway lines, it appears on farmland, uncultivated land, vacant lots, home gardens and suburban areas, forest roadsides, parks, gardens, granaries, warehouses, settlements, canals, ravines, gullies, flood plains of rivers and streams. At the same time, significant increase of the areas occupied by Hogweed can be observed as well as ousting of native species of herbaceous and woody (especially needle pine and spruce) species of plants.

Capturing new areas, it suppresses other vegetation disrupting the normal functioning of the local natural ecological system and creating its own ecosystem around itself – unacceptable for the nature of this or that particular location. In the spring, large and broad leaves of Hogweed bloom before other plants (grass), shading the soil surface where after the colonization other species do not grow any longer [11; 13].

The purpose of our study was to examine the ecological characteristics of this invasive plant species – Hogweed Sosnowski (*Heracleum sosnowskyi*), to determine its distribution and impact on the environment.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HOGWEED SOSNOWSKI

Over the past decades, the plants have become particularly widespread; they represent the invasive species, which were imported from the Caucasian mountains. All today's problems are mostly linked with only one species, the “aggressor” of the roadsides and neglected fields – Hogweed Sosnowski (*Heracleum sosnowskiy*).[6;11; 15].

In the world flora a genus of Hogweed or *Heracleum* totals nearly 70 species. In the flora of Ukraine there grow 5 types. There have been numerous attempts in Ukraine to combat Hogweed Sosnowski. The areas if its distribution expand rapidly, suppressing the natural biodiversity thus hindering the development of the economy.

Sosnovskyi's Hogweed (“bear paw”, “the occupier”) is a perennial plant of the family Umbelliferae with 2-5 years of development cycle. Since the length of the leaves of Hogweed often reaches 2 m, sometimes up to 3.5 m, hence, the popular name of “Hercules grass.” In three-five, rarely two-three years out of the central bud forms a floral escape. After fruiting, the plant dies completely. It is propagated primarily by seeds. The flower is a cyme, white or green-yellow. The stem of Sosnowskyi's Hogweed is erect, ribbed, with ridges reaching a height of 3 m, has large feathery leaves and the stem cavity thickness up to 10 cm Hogweed requires extra light, does not tolerate shade and cover crops. Sensitive to moisture, in dry conditions, grows slowly [9].

Plant autotrophy – requires fertile soil or the application of organic and mineral fertilizers. Grows well in fertile easy - and cerebrosplanale sandy loam soils with pH 5.5 and 7.0. It is a frost - and cold-resistant culture (under the snow can withstand temperatures down to -40-50°C), reacts well to freezing temperatures down to -10°C and heat up to +37°C. Seeds germinate at +1-2°C, and seedlings emerge in +7-10°C. The Root system of the plants stem, well-developed, but does not deeply penetrate into soil: the bulk lies in the layer up to 30 cm (individual roots reach depths of more than 2 m). The leaves are strong: 80-100 cm long and 70 cm wide.

The fruit in Hogweed is cremocárpium, which is divided into two mericarps. A mericarp consists of two halves, what we actually call seeds. So, one monocarp plant can produce between 15 20 /in rare years of powerful individuals can give up to 70 thousand/ of viable seeds. And this is repeated every year. Another “dangerous” feature of the Hogweed fruit is availability of their outgrowths or “wings”, which significantly increase their volatility and also contribute to the active spread. The wind is the chief assistant to capture new territories by Hogweed. That's why it has taken over many thousands of hectares in various regions of the country.

In the first year of development of seed plants a rosette is formed, but the stem and seeds are formed only in the second year. Sosnovskyi's hogweed blooms from June to August. The seeds ripen in July-September and are easily shed [2; 16].

Regarding chemical composition, it is worth noting that the distinguishing feature of plants is the presence of large amount of sugars, making it a well-ensiled green mass. There is also vegetable protein, tannin, vitamin C and a large number of trace elements. There have been 15 coumarins discovered in Hogweed that cause inflammation on the skin, the so-called dermatitis [5; 9].

HARMFUL EFFECTS OF PLANTS AND MEASURES OF ITS EXTRADICATION

In the fields, gardens and cottages, on the banks of the rivers one can come across Hogweed, which is very dangerous to humans, especially in the summer during its flowering period. Pollen, the smell and the juice of this plant can cause allergic reaction with severe consequences.

The main hazardous property of Sosnowskyi's Hogweed is that it is able to cause burns on human skin. Even a single touch may cause burns of 1-3 degrees. And more than 80% burn of the body surface may lead to a lethal outcome. In case of accidental touch or skin contact with its juice the the person does not immediately feel pain, such as, for example, in contact with nettle. But

after a few hours or even days, itching will start along with redness of the affected areas of the skin. And the formation of fluid-filled transparent bubbles is observed. This indicates the occurrence of more severe lesions. In severe burns, the temperature rises accompanied by fever, appear hard to heal ulcers and upon healing dark spots remain in their place for another 2-3 years. Burns caused by Hogweed are enhanced by sunlight. But even if the person touches the plant at night, the next morning blisters will appear when struck by sunlight [10; 17].

High activity of Hogweed in the light is connected with the presence in it a special photodynamic-active substances – furocoumarins. Most furocoumarins are accumulated in the villi and leaves. When getting on the human skin, these substances are virtually zero reduce its ability to protect itself against solar radiation. It should be kept in mind that the reaction to the contact with a plant is individual. If the burn has affected eyes, mouth or other mucous membranes, a doctor should be consulted as quickly as possible [7; 18].

The second negative feature of this species is the fact that the plant itself is an extremely active and dangerous weed. An important feature of this weed is that it does not tolerate the proximity of other weeds and crops, and therefore displaces them, gradually spreading to large areas, acquiring the character of a natural disaster.

The third component of damage is negative impact on local ecosystems. This species suppresses other vegetation, disrupts the normal functioning of the local natural ecological system and creates around itself its own ecosystem unacceptable for nature. At mass reproduction and distribution Hogweed is able to completely displace other native species [1].

Proper crop rotation, intensive land use is the key to reduction of vegetation and the spread of Hogweed. Easily multiplied by seeds with their good volatility it simply and quickly spreads along roads, wood paths and bushes, which explains a significant inhibition of combating it. A variety of methods are used to reduce the number of species. Among the many methods mechanical method is worth noting, which includes: trimming of flowers in the period of budding, burning, mowing, manual, individual way of fighting, the use of black plastic film [3].

Cutting flowers during budding and early flowering plants is the cheapest and most effective way of combating Hogweed in small areas, but it is also one of the most dangerous – it is easy to get juice and get strong dermatitis in different parts of the body. When cutting the generative organs it is important to cut only the buds, flowers or small green, not the developed fruit. The central umbel should be cut as well as umbel of the first order. Umbels of the second and subsequent orders (if generated) can be cut at their base. To do so the umbel should be held at the bottom of the stem by a protective glove and only the flowers should be cut. Personal care rules should be strictly observed to avoid letting the juice from plants make contact with unprotected areas of the body as well as even wet clothes.

Burning is a very effective way of destroying the seeds of plants in the period of its maturing. It is important not to miss the right moment for it – before the full ripening in the central, the biggest umbel. It should be understood – this method requires maximum care and attention [14; 19].

Mowing is often seen as an effective means of eradication of the Hogweed. However, as it was experimentally found the repeated mowing of the Hogweed plant even for several years does not give a significant effect in terms of decreasing the populations of plants. Method of mowing is effective only to prevent flowering and seed maturation of this species. Repeated mowing can only be used to create buffer zones, preventing new seeds in the freed territory. If the plant has already produced buds, then their cutting is overdue. Thus, buds should be cut in early flowering. Cut buds should be burned off. After all, the generative shoot of Hogweed stem has a large supply of nutrients, sufficient for the ripening of seeds already in the truncated umbel. It is therefore important to prevent the flowering of new plants [8].

To destroy the distribution area of Hogweed a biological method can be applied. In which you need to adhere to scientifically substantiated crop rotations, it is also possible to graze animals (while the leaves of Hogweed are young and have not accumulated toxic substances). You can use

geo-cloth that you want to lay on the surface, occupied by cut Hogweed and cover the ground with grass-mixes adapted to a specific region [12].

Thus, the use of protective carpet ground covering makes it possible to influence germination of Hogweed, isolating them from sunlight, which ultimately leads to the destruction of seedlings and cleaning of the territory. Through planting of local species of perennial grasses during a short period (two to three years) creates a stable plant community that represents the productive soil layer, with protective carpet not preventing the development of root systems of perennial grasses [8; 20].

Also, the natural breeding of pests can be attributed to the biological methods. As of to date, there is only one pest – Hogweed moth – the larvae of which penetrate inside the stem moving inside to blossoms, eating most of the flowers before blooming. Eating the flowers still in buds, this moth severely reduces seed production of plants [11].

As far as the chemical method is concerned, it is possible to use different types of herbicides manufactured by the industry: roundup, tornado etc., the best time is at the beginning of the regrowth of Hogweed plants, and definitely before flowering.

The main requirement of chemical treatment is even distribution of drug on the area processed [4].

After the first treatment and destruction of vegetative mass on the same territory, it is necessary to conduct re-treatment for the eradication of the shoots of the Hogweed.

Control is by constant tracking of the correctness of any planned doses of herbicides and periodic inspection of treated areas to assess the effectiveness of the action on plants of *Heracleum*. After 30 and 60 days after treatment, the condition of treated plants is assessed, the absence or presence of the young shoots of Sosnowskyi's hogweed.

In case of high-quality treatment of the site after 30 days, all the treated plants will die (the above-ground part will turn yellow and will rapidly decompose). In this period there is a high probability of occurrence of young plants that germinate from seed scattered above the soil. Such plants may be destroyed by mechanical means or repeated treatment with herbicides. The results should be monitored 30 days after second treatment.

Verification of compliance with the doses of herbicides is carried out daily by a specialist based on comparison of the drugs consumption and the treated area. In case of any deviation the causes of poor quality of the work are eliminated [12].

CONCLUSIONS

This species is widespread on the territory of this country, especially along the roads and railways. When capturing new areas it suppresses other vegetation, creating around itself its own ecosystem, unacceptable for the nature of this or that location.

In general, this species causes more harm to people despite possessing very few insignificant positive aspects. The main hazardous property of Sosnowskyi's Hogweed is ability to cause burns to human skin. Ignorance of the biological properties of Sosnowskyi's Hogweed and harm that it can inflict on agriculture and the health of the population, may lead to its significant proliferation with far reaching negative consequences .

To reduce the Hogweed occupied areas it is necessary to apply different methods. Given Hogweed's resistance, a set of measures should be undertaken consisting of: chemical, agronomic, biological and mechanical methods. While carrying out activities directed at Hogweed's eradication one needs to remember about safety – have the necessary equipment and clothing to cover the body in order to avoid any contact with the plant.

REFERENCES

1. Вихор О. Д., 1998. Оцінка впливу інвазійних рослин на довкілля. – Львів: «Світ», 65-72.
2. Данілкова Т. В. Біологічні особливості і шкідливість борщівника Сосновського / [електронний ресурс] <http://karantyn.com/DOCS/prognoz/borshivnyk1.pdf/>
3. Дудкін О. В., Єна А. В., 2003. Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіттю України. К.: Хімжест, 2003, 332-341.
4. Койнова І. Б., 2013. Запобігання розповсюдженню шкідливих бур'янів. Луцьк, Диво, 2013, 148-162.
5. Колосол М. Й., 2010. Журнал Зерно. Журнал сучасного агронома, №12, 6-8.
6. Манденова І. П., 1990. Нові таксони роду *Heracleum*. Замітки по систематиці і географії рослини. М.: Юско, 21-24.
7. Пісня Д. С., 2011. Дослідження токсичної дії борщівника Сосновського. Миколаїв: Коло, 93-98.
8. Чадин І. В., 2008. Методичні рекомендації по боротьбі з розповсюдженням борщівника Сосновського. Львів: Світ, 27.
9. Черняк П. Д., 2008. Біологічна активність борщівника, Медичний журнал, № 13, 70-72.
10. Шувар І. А., 2013. Особливо небезпечні рослини України: навч. посібник. К.: Центр навчальної літератури, 138-142.
11. Шувар І. В., 2011. Журнал агробізнес сьогодні. Увага: борщівник Сосновського!, № 19, 5-8.
12. Якимович О. І., 2006. Методичні рекомендації по боротьбі із борщівником Сосновського. К.: Наука, 67-72.
13. Brown J.H., Sax D.F., 2005. Biological invasions and scientific objectivity: Replay to Cassey et al. *Austral Ecology*, 30: 481–483.
14. Kabuce N., Priede N., 2010. NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – *Heracleum sosnowskyi*. From Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species – NOBANIS www.nobanis.org
15. Kowarik I., 2003. Human agency in biological invasions: secondary releases foster naturalization and population expansion of alien plant species. *Biological Invasions*, 5(4): 293–312.
16. Nielsen C., Ravn H.P., Nentwig W. et al., 2005. The Giant Hogweed Best Practice Manual. Guidelines for the management and control of an invasive weed in Europe. Denmark: Hoersholm, 44.
17. Protopopova V.V., Shevera M.V., Mosyakin S.V., 2006. Deliberate and unintentional introduction of invasive weeds: a case study of the alien flora of Ukraine. *Euphytica*, 148: 17–33.
18. Sax D.F., Brown J.H., 2002. The paradox of invasion. *Global Ecology and Biogeography Letters*, 9: 363–371.
19. Simpson M., Prots B., Vykhov B., 2011. Determining the potential distribution of highly invasive plants in the Carpathian mountains of Ukraine: a species distribution modeling approach under different climate-land-use scenarios. Матеріали XIII з'їзду Укр. ботан. т-ва (19–23 вересня 2011 р., м. Львів). Львів, 80-81.
20. Simpson M., Prots B., Vykhov B., 2011. Modeling of the invasive plant distribution: case study of Sosnowski's hogweed *Heracleum sosnowskyi* Manden. in the Ukrainian Carpathian Mts. *Biologichni Systemy (Biological Systems)*, 3(1): 80–89.

ABSTRACT

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА ШКІДЛИВІСТЬ БОРЩІВНИКА СОСНОВСЬКОГО (*Heracleum sosnowskyi*)

Борщівник Сосновського (*Heracleum sosnowskyi*) – чужа для України рослина, походить із Кавказу. Культуру, яку вирощували на корм (силос) для тварин у 50-их роках минулого сторіччя, у зв'язку зі змінами соціально-економічних умов у країні та реформами в аграрному секторі втратила свою кормову і господарську цінності. Через наявність у ньому фурукумаринів, які викликають під час контакту зі шкірою людини важкі дерматити, схожі на опіки, борщівник перестали культивувати вже понад 30 років.

З'ясувалось, що борщівник легко проникає у природні екосистеми. За цих обставин та через загальну бездіяльність у суспільстві борщівник Сосновського з полів, де його раніше вирощували, “мігрує” Україною: відомчими смугами автомобільних та залізничних шляхів, узбіччями польових доріг, з'являється на сільськогосподарських угіддях, необроблюваних землях, пустирях, присадибних і дачних ділянках, обочинах лісів, у парках, садах, зернохвищах, складах, населених пунктах, каналах, ярах, балках, заплавах річок і струмків. Водночас помітно зростають площі, зайняті борщівником і спостерігається витіснення ним місцевих видів трав'яних і деревних (особливо голкових – сосни і ялини) порід рослин.

Захоплюючи нову площу, він пригнічує іншу рослинність, порушує нормальне природне функціонування місцевих екологічних систем і створює навколо себе власну екосистему, неприйнятну для природи тої чи іншої місцевості. Великі і широкі листки борщівника розпускаються навесні раніше за інші рослини (трави), затінюючи поверхню ґрунту, на якій після його заселення рослини інших видів більше не ростуть.

Рід Борщівник або *Heracleum* у світовій флорі налічує майже 70 видів. У флорі України їх росте 5 видів. В Україні, складають різні плани боротьби з борщівником Сосновського. Площі бур'яна швидко зростають, пригнічуючи природне біорізноманіття та гальмуючи розвиток господарства. Згідно даних департаменту екології та природних ресурсів Львівської обласної адміністрації площі, зайняті борщівником у області становлять на 2014 р. 1056 га і зростають щороку більш ніж на 100 га. Найбільше їх зосереджено у Карпатському регіоні (Турківському, Сколівському, Старосамбірському, Дрогобицькому) та Радехівському районах.

Загалом борщівник завдає шкоди людині, але є деякі і позитивні сторони борщівника, та зазвичай їх дуже мало. Основна шкідлива властивість борщівника Сосновського полягає в тому, що він здатний викликати опіки на шкірі людини. Незнання біологічних особливостей борщівника Сосновського та шкоди, якої він може завдати як сільському господарству, так і здоров'ю населення, призводить до значного поширення. Тому незнання біологічних особливостей борщівника Сосновського та шкоди, якої він може завдати як сільському господарству, так і здоров'ю населенню, призводить до значного поширення цієї культури регіонами країни.

Щоб зменшити території, де знаходиться борщівник потрібно застосовувати різні методи. Тому враховуючи стійкість борщівника використовують комплекс заходів, що складається з таких методів: *хімічний, агротехнічний, біологічний та механічний*. Під час виконання робіт проти поширення борщівника потрібно пам'ятати про техніку безпеки: уникати будь-якого контакту незахищеного тіла з рослиною, мати необхідне оснащення та спецодяг.

Святослав Фарафонов

Волинська державна сільськогосподарська дослідна станція

e-mail: jeanowich@mail.ru

ВПЛИВ ЩІЛЬНОСТІ ПОСТАНОВКИ ТВАРИН НА ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ, ЕТОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ТЕЛЯТ НА ПІДСИСІ ВОЛИНСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ

Анотація. В результаті досліджень по вивченню впливу щільності утримання телят волинської м'ясної породи на етологічні реакції та біохімічні показники крові встановлено, що поведінкові реакції телят на підсосі у всі сезони року, зі збільшенням площі на 1 голову на 0,2 м², супроводжуються підвищенням їх кормової активності (на 1,1 %) на фоні збільшення тривалості підсисання ними корів-матерів і зростання рухової активності. Доведено, що менша щільність утримання телят на підсосі (1,2 м²/гол.)

Доведено, що менша щільність утримання телят на підсосі (1,2 м²/гол.) у весняний період при меншій скупченості встановлено тенденцію щодо зниження кількості альбумінів та бета-глобулінів, а також зростанню кількості альфа- та гамма-глобулінів, менший рівень скупченості сприяв зростанню у сироватці крові вмісту альбумінів на 4,3 % ($p < 0,01$), гамма-глобулінів – на 2,8 % ($p < 0,05$), а також зниженню альфа- та бета-глобулінів відповідно на 2,5 % та 4,6 % ($p < 0,01$) порівняно з показниками контрольної групи тварин

Ключові слова: елементи технології виробництва яловичини телята на підсисі волинської м'ясної породи (вм), зимово – стійлове утримання, типові приміщення на глибокій підстипці, щільність постановки, етологічні чинники, біохімічні показники крові.

ВСТУП

Аграрний комплекс Волині має свої особливості. В області нараховується 1054,8 тис га с/г угідь, в тому числі 381,3 тис.га сінокосів і пасовищ, при цьому розораність земель складає 64%. Природно-кліматичні умови області сприятливі щодо розвитку м'ясного скотарства (помірний і вологий клімат, наявність необхідних кормових угідь і природних пасовищ) [10,11,12].

Одним із важливих елементів виробництва є щільність утримання тварин в тваринницьких приміщеннях та його вплив на формування етологічних чинників і біохімічних показників крові. Які, в сукупності з іншими складовими частинами технології виробництва дають змогу забезпечити комфортне утримання худоби при формуванні технологічних статевовікових груп та дають можливість тваринам ефективно проявити потенційні задатки генотипу [7,9].

Метою наших досліджень було вивчення впливу щільності постановки тварин на особливості формування, етологічних та біохімічних показників крові телят на підсисі волинської м'ясної породи.

МЕТОДИКА

Для проведення досліджень було сформовано дві групи тварин волинської м'ясної породи, 1-а - 60 і 2-а - 80 голів.

Дослідженнями передбачено вирощування телят на підсосі, разом з матерями, за умов безприв'язного способу утримання в типових приміщеннях, із забезпеченням рівня годівлі в

межах 800–850 г/добу середньодобового приросту. Досягнення живої маси в кінці досліду 220-230 кг. Приміщення за проектом розраховані на 180 голів. Тривалість досліджень 150 днів.

Відбір крові для досліджень проводився з підхвостової вени. Біохімічні показники крові (загальний білок та його фракції) визначались за загальноприйнятими методиками. Етологічні дослідження проводились шляхом проведення хронометражу [2].

Дослідження кількості кормів проводилось шляхом зважування до роздачі кормів та залишків після поїдання. Жива маса визначалась шляхом щомісячного зважування [8].

Етологічні дослідження проводились СТЗОВ «Зоря» Ковельського району Волинської області [1]. Лабораторні дослідження проводились на базі Ковельської міжрайонної лабораторії ветеринарної медицини [3,6,9].

Таблиця 1. Схема досліджень
Table 1. Scheme of studies

| Групи тварин/ Groups of animals | Кількість тварин, гол./ Number of animals | Вік піддослідних тварин, міс./ Age of test animals, month. | Жива маса піддослідних тварин, кг/ Live weight of experimental animals, kg | Площа приміщення /Area | | Утримання / Maintenance | Годівля / Feeding |
|------------------------------------|--|--|---|--|--|--|--|
| | | | | матерів, м ² /голову/m others, m ² /head | підсисних телят, м ² /голову / dairy calves, m ² /head | | |
| 1 група (контрольна) | 60 | 3 | 102 | 5,0 | 1,2 | Типове приміщення, на глибокій підстилці | Режимний підсис + підгодівля, із рівнем годівлі на одержання 800-850 г приросту живої маси |
| 2 група (дослідна) | 80 | 3 | 101 | 4,5 | 1,0 | | |

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед чинників, що впливають на продуктивність тварин є поведінка тварин, яка залежить від розмірів та щільності постановки груп. Етологічні спостереження проводили в зимовий після формування груп та весняний і літній періоди.

Таблиця 2. Поведінка підсисних телят в зимовий період
Table 2. The behavior of dairy calves in winter

| Елементи поведінки / Elements of behavior | Групи/Groups | | | |
|---|----------------------|------|----------------------|------|
| | 1 контрольна/control | | 1 контрольна/control | |
| | хв | % | хв | % |
| Тривалість підсосу / Duration of dairy calves | 42 | 3 | 45 | 3,1 |
| Споживання кормів / Feed intake | 292 | 20,3 | 275 | 19,1 |
| Відпочинок / Rest | Лежачи/ Lying | | 366 | 25,4 |
| | Стоячи/ Standing | | 184 | 12,8 |
| Водопій / Watering | 15 | 1,0 | 10 | 0,7 |
| Зіткнення за корми / Fight for food | 5 | 0,3 | 7 | 0,5 |
| Переміщення / Moving | 106 | 7,3 | 152 | 10,5 |
| Інші / Others | 430 | 29,9 | 437 | 30,4 |
| Усього / All | 1440 | 100 | 1440 | 100 |

При проведенні хронометражу в зимовий період кормова реакція тварин була різною, найдовше споживали корм тварини з контрольної групи на 17 хв, або на 1,2 %, найдовший період відпочинку був у першій групі на 36 хв або на 2,5 % та менше спостерігалось зіткнень на 2 хв і переміщень на 46 хв, або 3,2 % та ссали корів менше на 3 хв або на 0,1 %, ніж у дослідній групі. Таким чином зменшення постановочної площі на 1 голову на 0,2 м², та збільшення поголів'я у групі на 20 голів зумовлює зниження кормової активності тварин на фоні збільшення тривалості підсисання ними корів-матерів, при цьому зростає рухова активність молодяку.

Таблиця 3. Поведінка підсисних телят у весняний період
Table 3. Suckling behavior of calves in the spring

| Елементи поведінки/ Elements of behavior | Групи/Groups | | | | |
|---|----------------------|------|----------------------|------|------|
| | 1 контрольна/control | | 1 контрольна/control | | |
| | хв | % | хв | % | |
| Тривалість підсоцу / Duration of dairy calves | 24 | 1,7 | 26 | 1,8 | |
| Споживання кормів / Feed intake | 396 | 27,5 | 380 | 26,4 | |
| Відпочинок / Rest | Лежачи/ Lying | 422 | 29,3 | 405 | 28,1 |
| | Стоячи/ Standing | 92 | 6,4 | 125 | 8,7 |
| Водопій / Watering | 32 | 2,2 | 30 | 2,1 | |
| Зіткнення за корми / Fight for food | 3 | 0,2 | 4 | 0,3 | |
| Переміщення / Moving | 27 | 1,9 | 38 | 2,6 | |
| Інші / Others | 444 | 30,8 | 432 | 30,0 | |
| Усього / All | 1440 | 100 | 1440 | 100 | |

Під час проведення хронометражу етологічних спостережень у весняний період кормова реакція тварин була різною, найдовше за часом споживали корми на 16 хв або на 1,1 %, та на 17 хв або на 1,2 % відпочивали в контрольній групі. У них було менше зіткнень на 1 хв і переміщень на 11 хв, або на 0,1 і 0,7 % відповідно, а ссали корів менше на 2 хв або на 0,1 %, ніж у дослідній групі.

Поряд з вивченням поведінки телят в підсисний період вирощування було проведено біохімічне дослідження крові за наведеними нижче показниками.

Важливим фізіологічним показником обміну речовин в організмі тварин вміст загального білка сироватки крові та його фракцій. Досліджуючи вміст загального білка сироватки крові вірогідної різниці між показниками дослідних груп та контролем не встановлено (рис. 1).

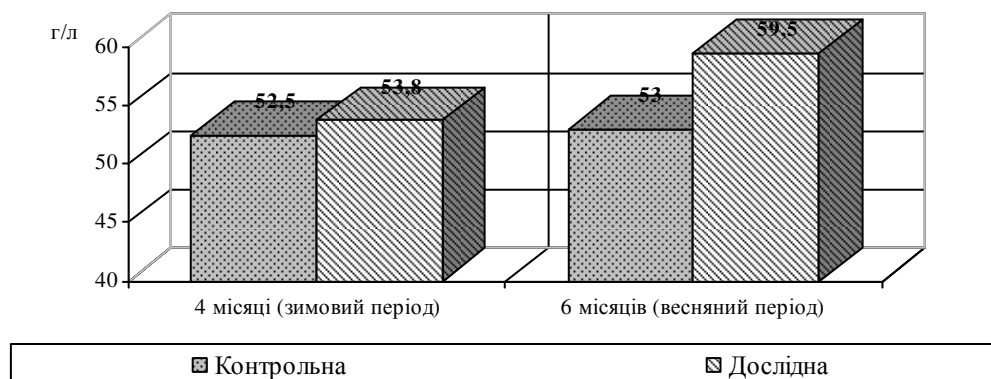


Рис. 1. Вміст загального білка у сироватці крові телят в зимовий та весняний період n=5
Fig. 1. Total protein content in blood serum of calves in the winter and spring period n=5

У телят дослідної групи під час весняного періоду віку, встановлено зміни вмісту загального білка сироватки крові. Так, у телят першої дослідної групи встановлено тенденцію до зниження вмісту загального білка сироватки крові. Натомість, збільшений рівень обмінної енергії в раціонах телят 6-місячного віку другої дослідної групи, сприяв зростанню його на 12,3 % ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою.

Аналізуючи дані білкового спектру сироватки крові тварин дослідних груп у віці 4 місяці (зимовий період) слід відмітити підвищений вміст альфа- та бета-глобулінів. Вірогідної різниці між показниками дослідних груп та контролем не встановлено.

Таблиця 5. Білковий спектр сироватки крові телят у зимовий та весняний періоди $M \pm m$, $n=5$

Table 5. Protein spectrum of blood serum of calves in winter and spring, $M \pm m$, $n=5$

| Показники/ Indexes | Групи/Groups | |
|---|----------------------|----------------------|
| | 1 контрольна/control | 1 контрольна/control |
| Вік, 4 місяців (зимовий період) /Age, 4 months (winter period) | | |
| Альбуміни, % | 42,8±0,8 | 42,5±1,0 |
| Глобуліни: α , % | 16,0±0,7 | 15,2±0,6 |
| β , % | 17,0±0,6 | 17,8±0,8 |
| γ , % | 24,2±0,7 | 24,5±0,6 |
| А/Г | 0,75±0,01 | 0,74±0,01 |
| Вік, 6 місяців (весняний період) /Age, 6 months (spring period) | | |
| Альбуміни, % | 43,1±0,8 | 47,4±0,7** |
| Глобуліни: α , % | 14,6±0,4 | 12,1±0,3*** |
| β , % | 15,9±0,5 | 11,3±0,4*** |
| γ , % | 26,4±0,8 | 29,2±0,7* |
| А/Г | 0,76±0,01 | 0,90±0,02** |

Примітка: *– $p < 0,05$; **– $p < 0,01$; ***– $p < 0,001$ порівняно з тваринами контрольної групи у цій і наступних таблицях.

У телят у весняний період, 6-міс. віку, при меншій скупченості встановлено тенденцію щодо зниження кількості альбумінів та бета-глобулінів, а також зростанню кількості альфа- та гамма-глобулінів (табл. 5). З 6-місячного віку дослідної групи рівень скупченості сприяв зростанню у сироватці крові вмісту альбумінів на 4,3 % ($p < 0,01$), гамма-глобулінів – на 2,8 % ($p < 0,05$), а також зниженню альфа- та бета-глобулінів відповідно на 2,5 % та 4,6 % ($p < 0,01$) порівняно з показниками контрольної групи тварин.

Для характеристики обміну білка в організмі тварин запропонований білковий індекс – відношення альбумінів до глобулінів – А/Г об'єктивно виражає ступінь використання азоту (чим він вищий, тим ефективніше протікає білковий обмін). Цей показник у телят 4-місячного віку коливався в межах 0,74–0,75. По закінченні досліду, у телят дослідної групи встановлено зростання на 21,6 % ($p < 0,01$) порівняно з контролем.

ВИСНОВКИ

1. Установлено, що поведінкові реакції телят на підсосі у всі сезони року, зі збільшенням площі на 1 голову на 0,2 м², супроводжуються підвищенням їх кормової активності (на 1,1 %) на фоні збільшення тривалості підсисання ними корів-матерів і зростання рухової активності.

2. Доведено, що менша щільність утримання телят на підсосі (1,2 м²/гол.) у весняний період при меншій скупченості встановлено тенденцію щодо зниження кількості альбумінів та бета-глобулінів, а також зростанню кількості альфа- та гамма-глобулінів, менший рівень

скупченості сприяв зростанню у сироватці крові вмісту альбумінів на 4,3 % ($p < 0,01$), гамма-глобулінів – на 2,8 % ($p < 0,05$), а також зниженню альфа- та бета-глобулінів відповідно на 2,5 % та 4,6 % ($p < 0,01$) порівняно з показниками контрольної групи тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Админ Е. Н., 1982. Методические рекомендации по изучению поведения крупного рогатого скота: Х.: ИЖ УААН, 27.
2. Високок М. П., Чорний М.В., Захаренко М.О., 2003. Практикум для лабораторно-практичних занять з гігієни тварин: Х.: Еспада, 218.
3. Вікторов П.И., Менькин В.К., Методика и организация зоотехнических опытов: М. : Агропромиздат, 37–95.
4. ДСТУ – 3973-2000 Система розроблення та поставлення продукції на виробництво. К.: Держстандарти України, 20.
5. Малик О.Г., Потапчук Ю.В., Фарафонов С.Ж. 2015 Спосіб підвищення антистресової дії пробіотиків. Аграрна наука – виробництву №1 22.
6. Методика проведення дослідів з кормовиробництва і годівлі тварин / [за ред. А. О. Бабича], 1998. К. : Аграрна наука, 58–66.
7. Петров К. С., Ілієв Н.А., Іванов Н.Н., 1981 Ергономія етологія і гігієна промислового тваринництва. К. : Урожай, 86–89
8. Плохинский Н. А. 1969. Руководство по биометрии для зоотехников. М. : Колос, 7–14.
9. Повозніков М. Г., 2007 Системи нормованої годівлі молодяку великої рогатої худоби м'ясних порід, Кам'янець-Подільський : Аксіома, 55–59.
10. Природна енерго- та ресурсозберігаюча технологія інтенсивного вирощування, формування і прогнозування м'ясної продуктивності бичків симентальської породи. 2005 : [науково-метод. посіб.]. – Х., 15–16.
11. Програма селекції худоби волинської м'ясної породи на період 2003-2012 роки. 2003 К. : Аграрна наука, 3–4.
12. Стратегія розвитку м'ясного скотарства в Україні в контексті національної продовольчої безпеки. 2005 К. : Аграрна наука, 19–32.
13. Coffey K. P., Coblenz K., Humphry J. B., Brazle F. K. . 2001. Review: basic principles and economics of transportation shrink in beef cattle. Prof. Anim. Sci. № 17, 247–255.
14. Gifford C. A. , Holland B. P. , Mills R. L. [et al.]. 2012. Impacts of inflammation on cattle growth and carcass merit : Growth and development symposium. J. Anim. Sci. № 90, 1438–1451.
15. Kaestner Z. 2004. Red blood cell ghosts and intact red blood as complementary models in photodynamic cell research. Bioelektrochemistry. Vol. 62, № 2, 123–126.
16. Larson R. L. 2005. Effect of cattle disease on carcass traits. J. Anim. Sci. № 83, 37–43.
17. Riccardo Compiani. 2013. Strategies to optimize the productive performance of beef cattle Milano, 34.
18. Roeber D. L. , Speer N. C. , Gentry J. G. 2001. Feeder cattle health management: Effects on morbidity rates, feedlot performance, carcass characteristics, and beef palatability. Prof. Anim. Sci. № 7, 39–44.
19. Van Arendork J. A. M., Zinamo A.-E. 2003. Dairy cattle production in Europe. Terriogology. 59, Issue, 563–569.
20. Yang W. Z. , Ametaj B. N. , Benchaar C., He M. L. , Beauchemin K. A. 2010. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. J. Anim. Sci. № 88, 1082–1092.

ABSTRACT

INFLUENCE OF THE DENSITY OF PRODUCTION ANIMALS ON PECULIARITIES OF FORMATION, ETHOLOGICAL FACTORS AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD OF CALVES AT PDSI VOLYN MEAT BREED

The agricultural complex of Volyn region has its own characteristics. The region has 1054,8 thousand hectares of agricultural land, including of 381.3 thousand hectares of hayfields and pastures, while the plowed land is 64%. Climatic conditions in the region favourable for the development of meat pastoralism (moderate and humid climate, the availability of the necessary pastures and natural pastures). One of the important elements of production is the stocking density of animals in animal houses and its effect on the formation of the ethological factors and biochemical parameters of blood. Which, in conjunction with other components of production technology enable to provide a comfortable livestock in the formation of the technological age-sex groups and give opportunities animals effectively to show the makings of a potential genotype

When holding timekeeping in winter feeding response of the animals was different, longer consumed the food animals from the control group for 17 minutes, or 1.2 %, the longest period of stay was in the first group at 36 min or 2.5% and less were observed collisions for 2 min and displacements at 46 min., or 3.2%, and sucked cows less than 3 min, or 0.1%, than in the experimental group. Thus reducing the installation space for 1 head 0.2 m², and increase the number in the group of 20 heads causes a decrease in feeding activity of the animals on the background of increasing duration pasiana their cows mothers, this increases the motor activity of the young.

During the study of ethological observations in the spring, feeding response of the animals was different, longer time consumed feed for 16 min or 1.1 %, and 17 min or 1.2 percent, rested in the control group. They had fewer collisions in 1 min and move on 11 minutes, or 0.1 and 0.7 %, respectively, while sucking cows less than 2 min, or 0.1%, than in the experimental group.

As a result of studies on Vivienne the influence of the density of the contents of the calves of Volyn meat breed in ethological reactions and biochemical blood parameters established that the behavioral responses of suckling calves in all seasons of the year, with an increase in the area per 1 head 0.2 m², accompanied by an increase in their feeding activity (by 1.1%), with increased duration pasiana their cows mothers and growth physical activity. It is proved that the lower density of the contents of suckling calves (1.2 m²/head.)

It is proved that the lower density of the contents of suckling calves (1.2 m²/head.) in the spring, with less crowding set the trend concerning the reduction in the number of albumins and beta-globulins and increase in the number of alpha - and gamma-globulins, and lower levels of crowding contributed to the increase in the serum concentrations of albumins and 4.3 % (p<0.01), gamma-globulin – 2.8 % (p<0.05) and decrease of alpha - and beta-globulins, respectively, 2.5% and 4.6 % (p<0.01) compared with the control group of animals

Key words: elements of the production of beef calves on Volyn meat breed (WM), winter stabling, typical for deep pastures, density setting, ethological factors, biochemical parameters of blood.

Людмила Слободян

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка

e-mail: ludasl18@ukr.net

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СІНАНТРОПНОЇ ФЛОРИ УКРАЇНИ ТА ТЕХНОГЕННИХ ЕКОТОПІВ НА ПРИКЛАДІ ВІДВАЛІВ ОЗОКЕРИТОВИДОБУТКУ В М. БОРИСЛАВІ

Анотація. Проведено порівняльний аналіз синантропних видів у флорі України та у флорі відвалів озокеритовидобутку в м. Бориславі, які виникли в результаті розробки родовища озокериту. Досліджено таксономічну структуру синантропної флори. Встановлено переважаючі родини синантропної флори в межах України та на території відвалів. Визначено співвідношення синантропних видів апофітної й адвентивної фракцій. З'ясовано розподіл адвентивних видів за часом поширення, походженням і ступенем натуралізації. Для оцінки масштабів і наслідків синантропізації флори визначено індекси синантропізації флори, апофітизації, антропофітизації, археофітизації, модернізації, кенофітизації. Здійснено градацію трансформованих територій відвалів озокеритовидобутку за А.М. Абрамовою та Б.М. Міркіним. За цією класифікацією територія належить до середньосинантропізованих, де участь синантропних видів у фітоценозах становить 35 %.

Ключові слова: синантропізація флори, адвентивні види, археофіти, кенофіти, апофіти, евапофіти, геміапофіти, непостійні апофіти, таксономічна структура, відвали.

ВСТУП

На сучасному етапі взаємодії людського суспільства і природи триває інтенсивний антропогенний вплив на всі компоненти навколишнього природного середовища. Наслідком цього впливу є суттєві зміни у структурі ландшафтів, видовому розмаїтті рослинного і тваринного світу, забрудненні водних об'єктів, ґрунтів, повітря [1]. Виникають нові екотопи, які не схожі на природні. Прикладом є відвали озокеритовидобутку в м. Бориславі, що виникли внаслідок розробки озокеритового родовища.

Екстремальні значення параметрів навколишнього середовища техногенних екотопів є лімітуючими для поширення зональних фітоценозів, тому їх нішу займають синантропні угруповання [17]. Масштабність цього процесу призводить до чітко виражених змін у структурі природної флори взагалі та регіональної зокрема: зменшення різноманіття автохтонних видів рослин та посилення участі адвентивних, збіднення складу рослинних угруповань, заміни домінуючих типів рослинності похідними [9].

Інтенсивне освоєння природних ландшафтів і зменшення території природної рослинності зазвичай супроводжується бурхливим розвитком процесів синантропізації та зникненням рідкісних видів рослин. Синантропізація супроводжується збідненням аборигенної флори, стиранням регіональних рис, спрощенням і уніфікацією рослинного покриву, втратою генофонду, зниженням біологічної продуктивності екосистем [2].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами досліджень були угруповання, що сформувались на території відвалів озокеритовидобутку в м. Бориславі. Польові дослідження на території області здійснювали традиційним маршрутним методом у поєднанні зі стаціонарними дослідженнями в певних об'єктах. Використовувались камеральні методи – обробка гербарного матеріалу та методи математичної статистики. За результатами описів фітоценозів, виконаних у ході цих досліджень, було проаналізовано синантропну фракцію флори. Ідентифікацію видів рослин

проводили за визначником рослин (Определитель..., 1987). Латинські назви видів подані за “Определителем высших растений Украины” (Определитель..., 1987) з урахуванням “А nomenclature checklist” (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999) та “Angiosperm Phylogeny Group” (2009) [6, 22, 20]. Синантропні види виявляли за працею В.В. Протопопової та “Екофлорою України” [15, 4, 5, 7, 18]. Класифікацію синантропних елементів виконано за J. Kohnas з урахуванням доповнень В.В. Протопопової [21, 15].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Бориславське родовище озокериту – велике родовище озокериту, що розташоване в межах міста Борислав Львівської області. Родовище розробляється з 1855р. Саме в цьому році підприємець Роберт Домс здійснив розвідку озокериту та розпочав його видобуток, який тривав до 1997 р.

Відходи, які утворювались після видобутку озокериту відсипались у понижені ділянки у заплаві потічка Крушельниця. Через хаотичне відсипання породи впродовж 150-ти років, сформувався нерівний горбистий рельєф на площі 20 га. За мікрорельєфними особливостями на відвалах виділяються схили різної крутизни та експозиції, плакори, улоговини, западини, канали [19].

Таксономічна структура видового складу синантропної флори відвалів озокеритовидобутку м. Борислава відображає умови формування рослинного покриву в досліджуваних екотопах. Вона вказує на особливості внутрішньої будови й специфічні особливості фітоценозів, є одним з основних якісних показників.

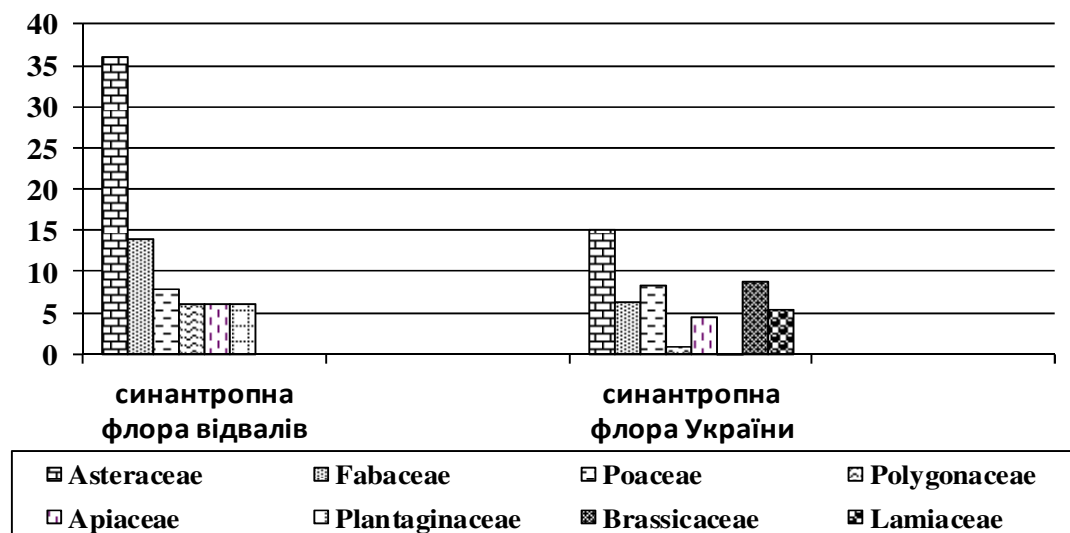


Рис. 1 Переважаючі родини синантропної флори України та відвалів озокеритовидобутку

Fig. 1. Dominating synanthropic flora families in Ukraine and at the ozokerite mining dumps

Аналіз видового спектру синантропної флори відвалів показав переважання таких родин (%): *Asteraceae* – 36, *Fabaceae* – 14, *Poaceae* – 8, *Polygonaceae* – 6, *Apiaceae* – 6, *Plantaginaceae* – 6. Якщо порівнювати із родинним спектром синантропів України загалом,

то переважання родин в порядку зменшення їх ролі виглядає так: *Asteraceae* – 15 %, *Brassicaceae* – 8,8%, *Poaceae* – 8,4%, *Fabaceae* – 6,3%, *Lamiaceae* – 5,5%, *Apiaceae* – 4,6% [15]. Отже, спільним для обох синантропних флор є велика кількість видів з родин *Asteraceae*, *Fabaceae* й *Poaceae*. Характерною особливістю синантропної флори України є значна кількість видів родин *Brassicaceae* та *Lamiaceae*, що не притаманно для флори відвалів озокеритовидобутку. Натомість, на відвалах зростає роль у процесах заростання синантропних видів з родин *Polygonaceae* та *Plantaginaceae*. Також на відвалах є родини синантропної флори, які представлені одним видом – *Equisetaceae*, *Ranunculaceae*, *Geraniaceae*, *Resedaceae*.

Синантропні види за походженням поділяють на адвентивні види (антропофіти) й апофіти. Область походження адвентивних видів лежить поза межами України, а їхня поява у флорі прямо чи опосередковано залежить від діяльності людини. Апофіти – це аборигенні види, які ростуть на антропогенно порушених екотопах [16].

Апофіти за ступенем адаптації до антропогенних чинників поділяються на три групи: евапофіти – місцеві види, які повністю або частково перейшли до антропогенних екосистем; геміапофіти – активно поширюються в напівприродних або трансформованих екосистемах, але зберігають сталі позиції у природних екосистемах; спонтанеофіти – в антропогенних екосистемах якщо і трапляються, то випадково.

Антропофіти за часом занесення поділяють на археофіти – занесені в Україну до XV ст., кенофіти – потрапили до України з XV до XX ст [8].

Серед виділених 50 синантропних видів відвалів озокеритовидобутку апофітів нараховується 41 (82%), антропофітів – 9 видів (18%). Співвідношення суми апофітів та антропофітів є важливою ознакою при аналізі ступеня синантропізації флори та для досліджуваних екотопів становить 4,6:1. На відміну від цих техногенних екотопів, для України таке співвідношення становить 1:1,3, на користь антропофітів. Це свідчить про те, що синантропна флора відвалів сформувалась під впливом аборигенної флори, а сьогодні процеси апофітизації значно переважають над процесами адвентизації. Фактично флора, яка формується на території відвалів озокеритовидобутку відрізняється від природної зональної.

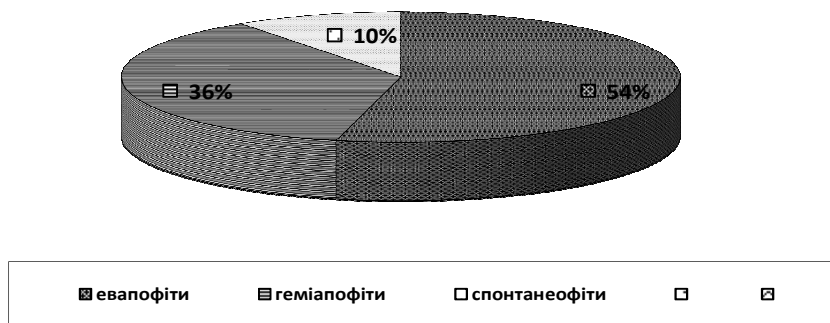


Рис. 2 Апофіти на відвалах озокеритовидобутку
Fig. 2. Apophytes at the ozokerite mining dumps

Серед апофітів за ступенем адаптації до антропогенно порушених умов переважають евапофіти – 22 види, або 53,7%. Це, наприклад, *Urtica dioica L.*, *Polygonum aviculare L.*, *Plantago major L.*, *P. media L.*, *Melilotus albus Medik.*, *M. officinalis Pall.*, *Medicago lupulina L.*, *Trifolium repens L.*, *Daucus carota L.*, *Arctium lappa L.*, *Artemisia vulgaris L.*, *Eupatorium cannabinum L.* та ін.

Другу позицію займають геміапофіти – 15 видів, або 36,6%. Це, наприклад, *Achillea millefolium L.*, *Chenopodium glaucum L.*, *Lotus corniculatus L.*, *Vicis cracca L.*, *Pastinaca sylvestris Mill.*, *Crepis biennis L.*, *Senecio jacobaea L.*, *Tussilago farfara L.*, *Stachys palustris L.*, *Pimpinella saxifraga L.*, *Plantago lanceolata L.*

Спонтанеофітів нараховується 4 види, або 9,7%. До них належать *Geranium pretense L.*, *Odontites vulgaris Moench.*, *Tanacetum vulgare L.*, *Poa compressa L.*

По території України види апофітної фракції синантропної флори розподіляються так: евапофіти – 32,8%, геміапофіти – 37,6%, спонтанеофіти – 29,6%.

Отже, серед апофітної фракції синантропної флори відвалів озокеритовидобутку більшість становлять евапофіти – типові синантропи, які ростуть в антропогенно змінених екотопах, є піонерними рослинами, що ростуть на початкових сукцесійних стадіях. Для території України серед апофітів незначно переважають геміапофіти – види з активною стратегією поширення в напівприродних або трансформованих екосистемах та сталими позиціями у природних фітоценозах.

Аналіз антропофітів на території відвалів озокеритовидобутку, за часом занесення, свідчить про незначну перевагу кенофітів (види, що потрапили до України з XV до XX ст.) – 55,6%. До них належать *Chenopodium rubrum L.*, *Erigeron canadensis L.*, *Stenactis annua Nees*, *Reseda lutea L.*, *Mentha longifolia (L.) Huds.* Археофітів (види, що занесені в Україну до XV ст.) дещо менше – 44,4%. Це такі види – *Urtica urens L.*, *Cichorium intybus L.*, *Lactuca serriola L.*, *Sonchus arvensis L.* Що ж до синантропної флори України, також переважають кенофіти, але з більшою різницею ніж на відвалах – 67,8%. Археофітів – 32,3%.

Спільним для двох синантропних флор, по антропофітній фракції, є домінування епекофітів – видів, які натуралізувалися в повністю трансформованих екотопах.

Для оцінки масштабів і наслідків синантропізації флори використовують методика польського дослідника Б. Яцковяка, яка вказує на відсоткову участь антропофітів у флорі певного регіону. При кількісному аналізі синантропних видів використовуються наступні показники:

1) індекс синантропізації (розмір впливу людини), що виражається в загальній кількості древніх іммігрантів (археофіти) і нових прибульців, які пристосувалися в природних, напівприродних і в змінених людиною місцезростаннях – ріллі, сміттєвих звалищах тощо;

2) індекс апофітизації – відношення апофітів до загального числа видів;

3) індекс антропофітизації – відношення адвентивних рослин до загального числа видів;

4) індекс археофітизації – відношення археофітів до загального числа видів;

5) індекс кенофітизації – відношення кенофітів до загального числа видів;

6) індекс модернізації флори, тобто відношення кількості кенофітів до всіх іммігрантів (метафітів) [8].

Аналіз кількісних показників антропогенних змін засвідчив, що індекс синантропізації для відвалів озокеритовидобутку становить 35%, а для всієї України – 24,9%. Це свідчить про значну трансформованість території відвалів та антропогенний тиск на фітобіоту.

Таблиця 1. Кількісні показники антропогенних змін у флорі відвалів озокеритовидобутку м. Борислава
Table 1. Quantitative indicators of anthropogenic changes in the flora of ozokerite mining dumps in Borislav

| Показник | Формула | Значення для синантропної флори відвалів | Значення для синантропної флори України |
|-----------------------|--|--|---|
| <i>IS</i> | $IS = \frac{Ap + Ar + Kn}{Ab + Ap + Ar + Kn} \times 100\%$ | 35% | 24,9% |
| <i>I_{Ap}</i> | $I_{Ap} = \frac{Ap}{Ab + Ap + Ar + Kn} \times 100\%$ | 28,7% | 10,6% |
| <i>I_{An}</i> | $I_{An} = \frac{Ar + Kn}{Ab + Ap + Ar + Kn} \times 100\%$ | 6,3% | 14,3% |
| <i>IM</i> | $IM = \frac{Kn}{Ar + Kn} \times 100\%$ | 55,5% | 67,8% |
| <i>I_{Ar}</i> | $I_{Ar} = \frac{Ar}{Ab + Ap + Ar + Kn} \times 100\%$ | 2,8% | 4,6% |
| <i>I_{Kn}</i> | $I_{Kn} = \frac{Kn}{Ab + Ap + Ar + Kn} \times 100\%$ | 3,5% | 9,7% |

Примітка: Ab – аборигенні види, Ap – апофіти, Ar – археофіти, Kn – кенофіти, IS – індекс синантропізації, I_{An} – індекс антропізації, I_{Ap} – індекс апофітизації, I_{Kn} – індекс кенофітизації, I_{Ar} – індекс археофітизації, IM – індекс модернізації.

Індекс антропізації вказує на роль інвазій адвентивних рослин. Індекс апофітизації відображає участь аборигенних видів в рослинному покриві антропогенно трансформованого екотопу [3]. Співвідношення цих двох показників доводить, які процеси переважають на досліджуваній території. Індекс апофітизації переважає над індексом антропізації (відповідно 28,7% і 6,3%), що відмінно від синантропної флори в межах України, де індекс антропізації переважає над індексом апофітизації відповідно (14,3% і 10,6%).

Індекс археофітизації показує участь видів з високим ступенем натуралізації – археофітів [10]. Фоновий показник для досліджуваної території – 2,8%, а в межах України – 4,6%.

Показники індексів модернізації та кенофітизації відображають інтенсивність інвазій в даний час [16]. Фоновий індекс модернізації в межах відвалів досить високий – 55,5%. Для України цей показник ще вищий – 67,8%, що свідчить про переважання в рослинному покриві адвентивних видів, які знаходять вільні екологічні ніші в межах техногенних екотопів.

За градацією трансформованих територій, здійсненою А.М. Абрамовою та Б.М. Міркіним територія відвалів озокеритовидобутку в м. Бориславі належить до середньосинантропізованих територій, де участь синантропних видів у фітоценозах становить 35 % [13].

ВИСНОВКИ

Одним із головних наслідків посилення антропогенного впливу на довкілля є синантропізація рослинного покриву внаслідок утворення різноманітних порушених земель, зокрема техногенних екоотопів, таких як відвали озокеритовидобутку. Масштабність цього процесу призводить до чітко виражених змін у структурі природної флори взагалі та регіональної зокрема, що виявляється у втраті ними специфічних рис – зменшення різноманіття автохтонних видів рослин та посилення участі адвентивних, збіднення складу рослинних угруповань.

Встановлено, що частка синантропних видів у флорі відвалів озокеритовидобутку у м. Бориславі досить значна і становить 35% від загальної кількості видів.

Основна кількість синантропних видів сконцентрована у 6 родинях – *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*, *Polygonaceae*, *Apiaceae*, *Plantaginaceae*.

Аналіз синантропної фракції флори засвідчив кількісну перевагу апофітів (82%) над антропофітами (18%). У апофітній фракції виключно більшість становлять евапофіти – 53,7%, що відрізняє досліджувану синантропну флору від синантропної флори всієї України (евапофітів – 32,8%). Серед антропофітів за часом занесення археофіти та кенофіти у синантропній флорі відвалів представлені схожими відсотковими значеннями (44,4% та 55,6%), що свідчить про помірний процес проникнення адвентивних видів на територію дослідження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бурда Р.И., 1991. Антропогенная трансформация флоры, 75 – 92
2. Горчаковский П.Л., 1999. Антропогенна трансформація і відновлення продуктивності лучних фітоценозів, 124 – 136
3. Григора І.М., Соломаха В.А., 2005. Рослинність України (еколого-ценотичний, флористичний та географічний нарис), 357 – 364
4. Дідух Я.П., Бурда Р.І., Зиман С.М., 2004. Екофлора України, 2, 480
5. Дідух Я.П., Плюта П.Г., Протопопова В.В., 2000. Екофлора України, 1, 284
6. Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др., 1999. Определитель высших растений Украины, 548
7. Ільїнська А.П., Дідух Я.П., Бурда Р.І., Коротченко І.А., 2007. Екофлора України, 5, 584
8. Коцун Л., Кузьмішина І., 2016. Синантропна флора Волинської області: монографія, 36 – 44
9. Коцун Л.О., Кузьмішина І.І., 2016. Синантропізація флори Волинської області. Біологічний вісник МДПУ, 1, 416 – 427
10. Крамарець В.О., Соломаха В.А., Соломаха Т.Д., 2011. Синантропізація флори національного природного парку “Сколівські Бескиди”. Науковий вісник НЛТУ України, 21, 68 – 74
11. Кузярін О.Т., 2012. Порівняльний аналіз флори вугільних відвалів Львівсько-Волинського гірничопромислового регіону. Біологічні студії, 6, 189 – 198
12. Маренчук Ю.А., 2009. Адвентивний елемент флори Центрального Предкавказья. Успехи Современного естесвознания, 3, 50 – 51
13. Миркин Б.М., Наумова Л.Г., Соломещ А.И., 2001. Современная наука о растительности, 78 – 126
14. Протопопова В.В., 1988. Натуралізація адвентивних рослин України. Укр. ботан. журн., 4, 10 – 15
15. Протопопова В.В., 1991. Синантропная флора Украины и пути ее развития, 10 – 23, 75 – 90

16. Протопопова В.В., Шевера М.В., 2012. Фітоінвазії. Аналіз основних класифікацій, схем і моделей. Промышленная ботаника, 12, 88–95
17. Соломаха В.А., Костильов О.В., Шеляг-Сосонко Ю.Р., 1992. Синантропна рослинність України, 6 – 10
18. Федорончук М.М., Дідух Я.П. та ін., 2002. Екофлора України, 3, 496
19. Цайтлер М.Й., Кучманіч Н.Г., 2009. Деякі аспекти формування рослинного покриву на відвалах Бориславського озокеритового родовища. Сучасні проблеми збалансованого природокористування: Матер. IV-ї наук.-практ. конф., 211 – 212
20. Angiosperm Phylogeny Group, 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III (PDF). Botanical Journal of the Linnean Society, 161 (2), 105–121
21. Kornaś J., 1968. A geographical-historical classification of synanthropic plants. Mater. Zakl. Fitisoc. Stos. UW., 25, 33 – 41
22. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M., 1999. Vascular Plants of Ukraine. A nomenclature checklist, 345

ABSTRACT

COMPARATIVE ANALYSIS FOR THE SYNANTHROPIC FLORA IN UKRAINE AND AT TECHNOGENIC ECOTOPES USING THE EXAMPLE OF OZOKERITE MINING DUMPS IN BORYSLAV

At present interaction between human society and nature is accompanied with intensive anthropogenic impact on all environmental components. New ecotopes, which are not similar to the natural, are arising. Ozokerite mining dumps in Borislav are one of such examples.

One of the main consequences of the human impact on the environment is synanthropization of vegetation. The scale of this process leads to distinct changes in the natural flora structure in general and, in particular, regional flora, reducing the diversity of indigenous plant species and increased participation of alien species, depletion of plant communities, replacing the dominant vegetation types with derivative.

Taxonomic structure of species composition for synanthropic flora at the ozokerite mine dumps in Borislav reflects the vegetation conditions in these ecotypes. It points to the peculiarities of the internal structure and specific features of the plant communities and is major quality indicator.

Analysis of the species range for synanthropic flora at the mine dumps showed the prevalence for the following families (%): *Asteraceae* – 36, *Fabaceae* – 14, *Poaceae* – 8, *Polygonaceae* – 6, *Apiaceae* – 6, *Plantaginaceae* – 6.

Taxonomic structure for synanthropic species regarding their response to human impact is divided into apophytes (native species wholly or partly moved to anthropogenic habitat) and anthropophytes (adventitious species).

Apophytes are divided by the degree of adaptation to anthropogenic factors into evapophytes, which are native species completely or partially switched to man-made ecosystems; hemiapophytes, which are actively distributed in semi or transformed ecosystems, but retain the stable position in natural ecosystems; and inconstant apophytes in anthropogenic ecosystems if they appear accidentally.

There are 41 apophytes (82%), 9 antropophytes (18%) among the 50 selected synanthropic species within the ozokerite mine dumps. Among apophytes, 22 species or 53.7% of inconstant apophytes are prevailing by the degree of adaptation to anthropogenically disturbed conditions. These are, for example, *Urtica dioica* L., *Polygonum aviculare* L., *Plantago major* L., *P. media* L., *Melilotus albus* Medik, *M. officinalis* Pall.

Hemiapophytes possess the second place – 15 species or 36.6%. These are, for example, *Achillea millefolium* L., *Chenopodium glaucum* L., *Lotus corniculatus* L., *Vicis cracca* L., *Pastinaca sylvestris* Mill., *Crepis biennis* L. there are 4 species, or 9.7% of spontaneophytes. These type includes *Geranium pretense* L., *Odontites vulgaris* Moench., *Tanacetum vulgare* L., *Poa compressa* L.

The ratio for the sum of apophytes and anthropophytes is an important characteristic for the analysis of the synanthropization flora degree, and it is 4.6:1 for the studied territory. It indicates that synanthropic flora within the studied territory is formed under the influence of native flora, and now apophysation processes prevail over the adventysation processes.

Oksana Protsyshyn¹, Anna Voloshanska²

¹Drohobych State Ivan Franko Pedagogical University,

²Lviv National Ivan Franko University

Email: oksana.romanivna@gmail.com

FORMATION OF COMPETITIVE ENVIRONMENT AND COMPETITION DEVELOPMENT IN TOURIST AND RECREATION AREA OF TRUSKAVETS

Abstract. This paper examines features of formation of the competitive environment and development of competition in the tourist and recreational sector of Truskavets. Authors identified that various factors of organizational, economic and legal origin that have contributed to the development of the sector. The factors have been divided on two groups, such as intensifying and weakening. The paper also examines the level of competition on the examined market segment of Truskavets. There are deterrent circumstances and various barriers that impede, limit, and sometimes even impossible competition in the national economy of Ukraine. Thus, the study shows that the competitive environment of the tourism sector as a whole is developed enough in Truskavets, mainly due to increased number of business entities and more active use of various competition methods. Despite a moderate intensity of competition, the market of health-improving services and tourism is developing intensively.

Keywords: tourist and recreation industry, Truskavets resort, factors of competitive environment formation, evaluation of the development of the competition level.

INTRODUCTION

Competition is an essential feature of the market that might develop in conditions of a competitive environment. Formation of the competitive environment is necessary for the functioning of the market as it is an important task to achieve competitiveness of a country. Providing high competitive status of the national economy in terms of a new global model of international division of labor forces the creation of the national competitive environment and encourages greater innovation potential, accelerates the pace of scientific and technological achievements.

Formation of competitive environment in national economy is a complex process connected with reforms in various spheres, such as tourism, the institutional core of which is the tourist and recreation complex.

Resort industry in is one of the most high-margin and dynamically developing in today's global economy. For many countries, they are a constantly growing source of income that attracts millions of tourists and helps to develop areas of infrastructure and create jobs. Effective development of Ukraine's resort and recreational potential can not only satisfy the full needs of the population in recreational services but also bring real economic benefits.

Truskavets resort can be considered as a benchmark model of resort and recreation areas, a place of refinement and dissemination of new technologies in the resort industry. It is a place of introduction of an effective treatment, rehabilitation and recovery of the population, rational use of recreational resources and implementation of conservation measures, what is a significant competitive advantage not only on national, but also on international level.

Competition is a prerequisite for the effective functioning and developing of tourist and recreation industry because it leads to gain of competitive advantages and develops products and services.

A lot of scholars from Ukraine and abroad studied competitive environment in various sectors of the economy.

According to specialists, tourist and recreation industry of Ukraine is defined as the one with the most developed competitive environment [8, 20], but of very low competitiveness [19], while

some researchers say that internal competition is weak [13] or tough enough [6, 10]. Along with other problems, tourist and recreation industry in Ukraine remains insufficiently studied. Questions concerning features of the formation and development of the competition on the Ukrainian market are comparatively poor studied. It is important to create a better environment enabling the operation of businesses in the resort and recreational areas in order to improve their competitiveness and industry in general.

METHODOLOGY

While studying a competitive environment and competition development in the tourist and recreational sector of Truskavets authors use general scientific methods such as observation, comparison, analysis and synthesis, induction and deduction.

Using the historical method made it possible to explore the formation of a competitive environment in examined area. A comprehensive analysis of the features of competition was conducted using applied statistics and mathematical methods.

Authors used the results of opinion poll (health resorts, boarding houses, hotels, private sector accommodation) for the purpose of qualitative assessment of the intensity of competition in the tourist and recreational sector of Truskavets. Results of the study were presented using graphical and tabular methods.

The two-limits-assessment scale was used to evaluate the degree of competition on the market. Results showed three types of markets: [17]

- with a high concentration of business entities (HHI > 1800, CR-4 > 80%);
- with a moderate concentration of economic entities (1000 < HHI < 1800, 45% < CR-4 < 80%);
- with a weak concentration of economic entities (HHI < 1000, CR-4 < 45%).

HHI - Herfindahl-Hirschman Index, which calculates the concentration of the market by summing the squares of the percentage market shares held by the respective firms.

$$HHI = S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + \dots + S_n^2 = \sum S_n^2, \quad (1)$$

where S_i – percentage market share of a firm.

CR – level of concentration in the industry :

$$CR = \frac{D_1 + D_2 + \dots + D_n}{\sum D}, \quad (2)$$

D – sales on the market, UAH.

RESEARCH OUTCOMES

The competitive environment can be seen as a well-organized system of interrelated elements that have their own structure and organization [22] or a set of factors that create the conditions for successful competition, which is the main element of the market economy. V. Martsyn [15] believes that a competitive environment is developed through a set of individual components and, above all, the competitiveness of the market.

Since the declaration of Ukraine's independence, the following factors have contributed to the competitive environment in tourist and recreation industry:

- organizational measures: implementation of the State Program of de-monopolization of the economy, adoption of several laws and decrees of the President towards the development of the competitive environment and the protection of competition.
- economic reforms (deregulation, privatization, de-monopolization, commercialization, etc.).

As a result upper-mentioned events the country has changed and conditions for competition in the tourist and recreational services were created. Among them

- legalization of private ownership, what is a necessary condition for the existence of competition;

- formation of a large number of companies, what was a prerequisite for competition.

Creation of enterprises of various legal forms and organizational structure was carried out in two directions:

- 1) reforming existing organizational structures or associations [21];

- 2) creating new businesses.

In particular, the number of hotels in Lviv region tends to increase (in 2000 - 2015 the number increased almost in 5 times). [12] The number of new businesses in the recreational sector of Truskavets during the same period (2000-2015) increased by 31% (Table 1), which is also a favorable factor for the formation of a competitive environment and competition.

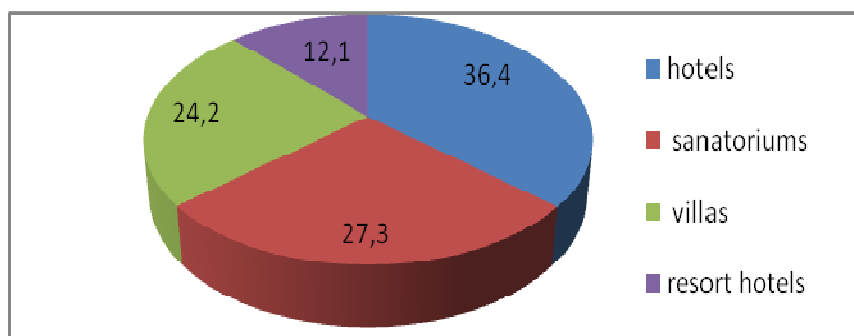
Table 1. Number of hotels and specialized accommodation facilities in Truskavets, 2011– 2015

| Year | Hotels | Similar accommodation facilities | Specialized accommodation facilities | Total |
|------|--------|----------------------------------|--------------------------------------|-------|
| 2000 | 2 | - | 40 | 42 |
| 2011 | 17 | 4 | 29 | 50 |
| 2012 | 17 | 3 | 24 | 44 |
| 2013 | 23 | 7 | 25 | 55 |
| 2014 | 25 | 5 | 24 | 54 |
| 2015 | 27 | 5 | 23 | 55 |

Source: composed by the author using data of Lviv regional office of statistics [18]

Institutional basis for tourism and recreation industry consists of the hotels, sanatorium institutions, sanitary and wellness centers, recreation and resort institutions and other accommodation facilities. Hotels share the biggest part of the market among others (see Picture 1).

Despite the general growth trend in the number of accommodation facilities, the dynamics of changes in the structure of above-mentioned establishments is not unambiguous. In particular, the number of hotels in the examined period increased by 13.5 times and the number of health-improving facilities decreased by 42.5%. Services of temporary accommodation in Truskavets are actively provided by local people, renting their homes, thereby entering a competitive relationship.

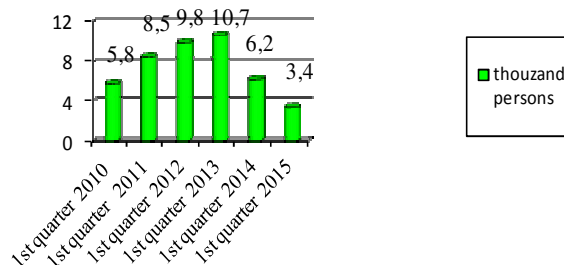


Pic.1. Structure of health-improving facilities in Truskavets, 2015

Besides that, it is important to note that the companies of the tourism sector tend to compete for client services, not only for accommodation, food, services, but for health-improving treatment as well, due to the balneological specialization of the resort. An increasing number of tourist sector

institutions demonstrates the increasing competition between them, and intensive development of the competitive environment.

- Businesses in Truskavets are not limited to the domestic market, and act beyond the limits of the national market introducing new forms of cooperation, increasing influence of competition on their activities (see Figure 2).



Pic.2. Dynamics of foreign visitors of health-improving facilities, 2010 – 2015 [8].

As can be seen from Picture 2, the number of foreign visitors in 2010 - 2013 increased 1.8 times, but during the last 2 years decreased by 68.2%, what has happened mainly due to the political situation in the country. In 2105 health-improving institutions rendered services for foreign citizens from 35 countries, among them Moldova, Azerbaijan, Belarus, Russia and Uzbekistan.

- Management methods have changed. Cost accounting, which puts companies in equal conditions on market relations, have become the main method of management. Despite the fact that there are 940 business entities (legal entities as of 10th Jan 2016) registered in Truskavets in various fields of economic activity, health-improving and resort services are the main economic activity of the town. In particular, the volume of services provided in Truskavets for 1st quarter of 2015 by various accommodation facilities businesses and catering services met the amount of UAH 275.4 million, what is 32.7% of all services. 11801 UAH of services sold per person puts Truskavets on the 2nd place in the Lviv region after the Morshyn resort [23].

- Relations between business entities have changed. Now, main business activities are focused on the needs of a buyer. Businesses have become more competitive as to attract a buyer, using different methods to compete actively. This trend leads to the growing desire of tourists to get quality treatments, individualization of a rest, increasing requirements for health-improving activities and reducing the length of stay. [20] At the same time the competition with recreational activities abroad have increased [13].

Using more methods of competition promotes competition. In particular, the use of instruments of the price competition has a decisive influence on the volume and profitability of sales, and on the profitability of a business. Therefore manipulating the price, companies increase or decrease the pressure of competition. If several companies of similar type in the strategic industry are offering lower prices in order to increase sales, the competitors have to implement countermeasures. Such actions mean increased competition. By non-price methods of competition, health-improving institutions promote the creation of new services and improve their quality.

The fact, how soon competitors implement countermeasures, also significantly affects the intensity of competition. It depends on the effectiveness of the countermeasures used by a competitor. The greater impact of the measures, which company uses to implement competitive strategies and to obtain competitive advantages, makes more likely that such activities can be used

over by competitors. Under these conditions, competition increases. If competitors react slowly to the actions of a company, the intensity of competition weakens.

- Expansion of the tourist business on rural areas, expanding the strategic area of the competitive environment, increasing number of competitors. For example, Truskavets competitors are tourist and recreational zone of Modrychi and Skhidnytsia villages.

Since the adoption of the Law of Ukraine "About special economic zone of tourist and recreational type "Health Resort Truskavets" " were registered 25 investment projects estimated of \$96.9 million. Since the beginning of functioning of the special economic zone 01.11.2011, investment counted \$117.1 million, \$26.5 million of which were foreign investing in infrastructure objects of private ownership. Among them health services and tourism attracted \$90,630.7 thousand to implement 11 projects (Truskavetskurort JSC, Truskavetsinvest LLC, Sanatorii Karpaty LLC, Dnipro-Beskyd JSC, International Clinic of Rehabilitation LLC, Kyiv mobile mechanized column-2 JSC, Volyn agro-trading house) [8].

Authors used the two-limit scale to assess the competition in the examined market segment Truskavets. Herfindahl-Hirschman Index (HHI) was slightly lower than 1000, and the ratio of market concentration - 1.5% lower than 45%, so the intensity of competition is moderate. It should be noted that the calculation takes into account only hotels and similar accommodation facilities. It should be believed that this indicator would be even lower if the amount of accommodation facilities provided by the private sector had been used in calculations, what means a higher level of competition intensity. It is impossible to calculate the volume of temporary accommodation services for tourist and resort vacationers provided illegally by local residents in private houses, flats, etc., without taxation. Along with that, tourists and vacationers that use such illegal services have access to recreational resources of the resort, therapeutic mineral water and therapeutic procedures.

Results of the opinion poll of sanatorium sphere and private sector about the impact of competition on their activities show that the intensity of competition is moderate (26.7% of respondents believe that feel the impact of competition moderate action by different actors) (Table 2).

Table 2. Estimated influence of the competition on examined health-improving facilities in Truskavets, % of questioned

| Types of facilities | Competition level | | | | Competitors |
|-------------------------------|-------------------|----------|-------|-----------|--------------------------------|
| | Low | Moderate | Hight | Very high | |
| Sanatoriums and resort hotels | - | 84,5 | 15,5 | - | Similar type facilities |
| | 12,4 | 23,4 | - | - | Other accommodation facilities |
| | 26,9 | 17,3 | - | - | Private sector facilities |
| Average estimate | 13,1 | 41,7 | 5,17 | - | Total |
| Hotels and villas | 10,5 | 36,8 | 26,3 | 20,4 | Similar type facilities |
| | 10,5 | 9,8 | 39,4 | 11,7 | Other accommodation facilities |
| | 10,5 | 3,2 | 39,4 | 31,5 | Private sector facilities |
| Average estimate | 10,5 | 16,6 | 35,0 | 21,2 | Total |
| Private sector facilities | - | 54,6 | 18,2 | 16,7 | Sanatoriums and resort hotels |
| | 42,5 | - | 12,5 | - | Other accommodation facilities |
| | 36,4 | 11,2 | - | 22,4 | Private sector facilities |
| Average estimate | 26,3 | 21,9 | 10,2 | 13,0 | Total |
| Average estimate | 16,6 | 26,7 | 16,8 | 11,4 | All respondents |

Research and daily practice of management in Ukraine show that there are certain aggravating circumstances and various barriers that complicate, limit, and sometimes even impossible competition in the national economy. A considerable part of them consists of unsolved

problems in limiting monopolies, ensuring adequate state protection of fair competition in business. The main factors that impact competition are the following: imperfect tax policy [1], which provides unjustified benefits to certain businesses and emerging industries and an immature system of tax management of the market [2].

Competition increases proportionally to the profits from successful strategic decisions. The higher is the potential return, the greater is the likelihood that other companies will operate using the same strategy in order to receive this high income. The analysis of the financial performance of temporary accommodation and catering services in Truskavets has a negative trend: the amount of loss increased by 4,4 times during 2012 - 2014 years [23].

Negative factors that impact competition are inadequate and ineffective management of sanatorium and resort institutions [1, 5], including improper subordination, which often leads to a distortion of their market strategy and excludes them from real competition.

DISCUSSION OF THE RESULTS

The aim of further studies is to find effective mechanisms of formation of the competitive environment in the tourist and recreational sector of Truskavets that encourage businesses in this sector to improve service quality and level, and contribute to the development of the resort. From this point of view, an important research strategy is to define methods of gaining and retaining competitive advantages to enhance the competitive status of the tourist sector of the resort both on national and international levels, and developing competitive strategies of improving the competitiveness of tourist and recreation industry.

CONCLUSIONS

The competitive environment is a set of conditions and factors for successful competition. Its development is associated with a large number of counterparties. The absence of competition suggests monopolized environment, and as a result - weakening of market economy. Competitive environment of the tourist sector of Truskavets is influenced by a number of government measures of organizational, economic and legal character of both national and regional importance. Factors that influence competitive environment can be divided on intensifying and weakening. Intensifying factors are the following: de-monopolization and privatization, government measures to protect competition and competitive environment, the formation of a large number of companies of various legal and organizational forms, active application of competition tools. The weakening factors include: decline in the number of sanatoriums (health facilities), inadequate and ineffective management of the health-improving facilities and low profitability as a consequence, the government tax policy.

Thus, this study shows that the competitive environment of the tourist sector of Truskavets is developed. Despite a moderate intensity of competition, health-improving and tourist market is actively developing (even though a lot of problems appear) and is improving in terms of the requirements of a modern market economy.

REFERENCES

1. Борулько Н.М., 2014. Сучасний стан та перспективи розвитку санаторно-курортного комплексу України. Вісник Східноукраїнського національного університету імені Володимира Даля, №8(215), 10-15.
2. Гуменюк В. В., 2014. Тенденції податкового регулювання ринку санаторно-курортних послуг в Україні [Електронний ресурс]. Економіка розвитку, № 3, 18 – 24. – Режим доступу: <http://nbuv.gov.ua>.
3. Димчук А., 2011. Особливості конкуренції на регіональному ринку туристичних послуг. Конкуренція. Вісник Антимонопольного комітету України, №1, 24 – 29.

4. Добуш Ю.Я., 2009. Тенденції розвитку ринку рекреаційних послуг [Електронний ресурс]. Львів, 50 – 61. – Режим доступу: <http://www.nbu.gov.ua>.
5. Жидяк О.Р., Вівчарук О.М., Фурсіна О.В., 2015. Тенденції розвитку санаторно-курортного комплексу: напрями змін та фактори впливу [Електронний ресурс]. Соціально-економічні проблеми сучасного періоду України. Львів, Випуск 5 (115), 3 – 6. – Режим доступу: [http://ird.gov.ua/sep/sep20155\(115\)](http://ird.gov.ua/sep/sep20155(115)).
6. Захарченко П. В., Жваненко С. А., 2016. Модель конкурентоспроможності територіального курортно-рекреаційного комплексу [Електронний ресурс]. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія „Економічна”, №90. – Режим доступу: <http://periodicals.karazin.ua/economy/index>.
7. Іванченко Н.М., 2015. Проблеми та перспективи розвитку рекреаційного туризму. [Електронний ресурс]. Ефективна економіка, № 5. – Режим доступу: <http://www.economy.nauka.com.ua>.
8. Інформація про діяльність СЕЗ „Курортполіс Трускавець” на підставі Закону України „Про спеціальну економічну зону туристсько-рекреаційного типу „Курортполіс Трускавець” [Електронний ресурс]. – Режим доступу: truskavets-city.gov.ua/doc/viddilukurortopolis2.doc.
9. Інформація про основні показники роботи господарського комплексу міста Трускавець за I кв. 2015 року [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [/ truskavets-city.gov.ua/doc/planovo_ekonomi4nui/13.05.2015.doc](http://truskavets-city.gov.ua/doc/planovo_ekonomi4nui/13.05.2015.doc).
10. Коваленко Н.О., 2015. Аналіз ринку санаторно-курортних послуг України. Економіка харчової промисловості, Том 7, Випуск 4, 21 – 27.
11. Коваленко Н., 2015. Прогнозування розвитку санаторно-курортної діяльності в Україні. Серія „Економічні науки”. Схід, № 8 (140) грудень, 21 – 25.
12. Колективні заклади розмішування у Львівській області [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.lv.ukrstat.gov.ua/index.php>.
13. Крап Н., Юзевич В., 2010. Якість туристичних послуг на Львівщині. Стандартизація сертифікація якості, №4, 64 – 65.
14. Кушнір Н. Б., Дячук О.І., 2009. До питання впливу рекреаційно-туристичної сфери на еколого-економічний розвиток регіону [Електронний ресурс], 165 – 172. – Режим доступу: <http://www.nbu.gov.ua>.
15. Марцин В. С., 2008. Конкурентне середовище, шляхи його реформування та механізм забезпечення конкурентоспроможності підприємства. Наукові праці ДонНТУ. Серія: економічна, № 33-1, 78 – 84.
16. Про спеціальну економічну зону туристсько-рекреаційного типу „Курортполіс Трускавець”. Закон України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: zakon.rada.gov.ua/laws/show/514-14.
17. Процишин О.Р., 1998. Формування конкурентного середовища як елемент ринкових перетворень в галузі торгівлі. Соціально-економічні дослідження в перехідний період. Регіональні аспекти розвитку підприємництва. Львів, Вип. 7, 383 – 389.
18. Регіональна статистика Львівщини [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://database.ukrcensus.gov.ua/regiostat>.
19. Ринки туристичних послуг: стан і тенденції розвитку : монографія, 2013. За заг. ред. професора В.Г. Герасименко. Одеса, 73 – 80.
20. Савушкін Д. І., 2014. Розвиток курортно-рекреаційних систем як інструмент трансформаційних перетворень в економіці [Електронний ресурс]. Ефективна економіка, № 4. – Режим доступу: <http://www.economy.nauka.com.ua>.
21. Стасик О. О., 2013. Аналіз проблем та перспектив реструктуризації санаторних закладів України за допомогою процесів злиття і поглинання. Економічний аналіз, Том 13, 183 – 187.

22. Хвостенко О.А., 2009. Використання системного підходу у визначенні складових та факторів конкурентного середовища [Електронний ресурс]. Проблеми системного підходу в економіці, Вип. 1, №9. – Режим доступу: <http://jrn1.nau.edu.ua/index.php/EPSE/article/view/4376>.
23. Статистичний щорічник Львівської області за 2014 р., 2015. Головне управління статистики у Львівській області. Львів, Частина II, Розділ 12.1;13.1.

АНОТАЦІЯ

ФОРМУВАННЯ КОНКУРЕНТНОГО СЕРЕДОВИЩА ТА РОЗВИТОК КОНКУРЕНЦІЇ У ТУРИСТИЧНО-РЕКРЕАЦІЙНОМУ СЕКТОРІ КУРОРТУ ТРУСКАВЕЦЬ

Курортполіс Трускавець може бути визнаний моделлю для сучасних курортів та рекреаційних зон. Туристично-рекреаційна галузь здатна ефективно функціонувати і розвиватися тільки в умовах конкурентного середовища, оскільки саме наявність активної конкуренції змушує бізнес набувати конкурентних переваг і розвивати власні продукти і послуги.

З моменту проголошення незалежності України конкурентне середовище в сфері туризму та індустрії відпочинку розвивається за підтримки урядових заходів організаційного, економічного і правового характеру як національного, так і регіонального значення. В результаті цих кроків відбулися певні зміни, що послужило основою для створення сприятливих умов для розвитку конкуренції у сфері туристичних і рекреаційних послуг. До таких змін можна віднести легалізацію приватної власності; появу великої кількості підприємств різних форм власності; можливість доступу на зовнішні ринки; впровадження нових форм співпраці та їх вплив на конкуренцію; нові методи ведення бізнесу і зв'язків між бізнесом, які спрямовані на задоволення потреб споживачів; розширення туристичного бізнесу в сільській місцевості.

Зміни в курортно-рекреаційній зоні м.Трускавця підтвержені результатами дослідження. У період з 2000 до 2015 року кількість нових підприємств зросла на 31%. Незважаючи на загальну тенденцію зростання кількості готелів та засобів розміщення, зміни в структурі установ не є такими очевидними. Зокрема, кількість готелів за цей період збільшився в 13,5 разів, а кількість оздоровчих закладів (санаторії) зменшилася на 42,5%. Кількість іноземних відвідувачів в 2010 - 2013 роки зросла в 1,8 рази, але протягом останніх 2-х років знизилася на 68,2% , що відбулося здебільшого через політичну ситуацію в країні. Обсяг послуг, наданих протягом 1 кварталу 2015 року в готелях, інших засобах розміщення та закладах громадського харчування, склав 32,7% усієї сфери послуг міста. Суб'єкти підприємницької діяльності стали більш конкурентоспроможними з метою залучення нових споживачів. Основними конкурентами Трускавця є туристично-рекреаційні зони смт. Східниця та с.Модричі. Закон України "Про спеціальну економічну зону туристсько-рекреаційного типу "Курортполіс Трускавець"" є особливим організаційним і економічним фактором у формуванні конкурентного середовища у сфері туризму і відпочинку.

Індекс Герфіндаля-Гіршмана у дослідженому сегменті ринку для туристично-рекреаційної зони Трускавця визначається як помірний. Результати опитування громадської думки для санаторно-курортних установ, а також закладів розміщення приватного сектору підтверджують наведені у статті результати. Так, 26,7% респондентів відчувають вплив конкуренції помірної дії з боку різних суб'єктів. Мають місце стримуючі обставини і різноманітні перешкоди, що заважають, обмежують, а іноді навіть унеможливають конкуренцію у цій сфері.

Таким чином, дослідження показує, що конкурентне середовище туристично-рекреаційного сектору в Трускавці є в цілому доволі розвиненим. Незважаючи на помірну інтенсивність конкуренції, ринок оздоровчих послуг і туризму інтенсивно розвивається.

Lesya Koltok

Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University, *Ukraine, Drohobych*

e-mail: lesia_koltok@ukr.net

TEACHING OF ECOLOGICAL CULTURE OF PUPILS IN PRIMARY SCHOOL THROUGH TECHNOLOGY HEALTH SAFETY

Abstract. Creating a learning environment, aimed at improving pupils involves the introduction of means continuous to full development, strengthening and preserving their health.

Now to describe the nature of therapeutic effects on the human body uses the terms interchangeably, "ekotherapy" and, "nature therapy", but their use in an educational context is given little attention. Given the urgency of the above, stop in more detail on the definition "nature therapy". The natural environment (water, air, sun, cold, forest noises) for a long time used different people for healing and prevention of disease. Nature therapy in our understanding - is, first of all, a healthy effect on the human body by means of nature. The powerful effect nature therapy - restoring health through contact with nature – is not only a significant improvement in physical and mental state, but also in enhancing the intellectual abilities of the child.

Keywords: nature therapy, technology, ekotherapy, physical health, the natural environment, ecological culture, body care.

INTRODUCTION

Ecological culture - the culture of all human activities are somehow related to the knowledge, development and transformation of nature; consists of knowledge and understanding of environmental regulations, realization of the necessary of fulfillment, a sense of civic responsibility for the destiny of nature, environmental protection and the development of direct participation in their conduct [14].

Today, environmental education is considered as a unique tool maintenance and development of human life extension of the human community. Its top target is to not only understanding the latest scientific and environmental developments and achievements, but also the need to form a new ecological thinking, which can synthesize scientific knowledge and ethical attitude to the environment. Environmental education aims to promote the comprehensive development of personality, improve professionalism, to be a powerful specialist in the development of spiritual culture of the Ukrainian people [8].

This, the target of environmental education is the people armed with knowledge in the natural and social sciences, highlighting the features of the interaction between society and nature, develop the ability to understand and evaluate specific actions and situations.

So school aims to educate a person that strives for continuous self-development, self-improvement, to realize their potential, able to understand and answer for their actions and more. However, as the results of psychological, pedagogical and medico-sociological research, any social and educational reforms will not be effective unless the pupils are not healthy, developed, not consciously choose healthy lifestyles.

One of the top functions of education at the present stage of our society is to preserve and promote the health of pupils.

The main reasons for the deterioration of the health of younger pupils is not only the result of prolonged adverse effects of socio-economic factors, but also educational:

- Intensification of the educational process (continuous improvement and increased pace of training load).
- Failure to comply with basic hygiene requirements for the organization of educational process in primary school.

- Lack of training of primary school teachers on health of younger pupils.
- Mass illiteracy of parents on maintaining the health of children of primary school [2].

METHODS

The leading purpose of environmental education is now not only understanding the latest scientific and environmental developments and achievements, and the need to form a new ecological thinking, which can make a synthesis of scientific knowledge and aesthetic of the environment, the need to "learn to live" the realities of modern society today [8].

An important place in the system of continuous environmental education belongs to the primary school. However, the features of the positive impact of various natural objects in the primary school children studied superficially, and most of this area remained out due care professionals. Instead, the need for such research has assumed relevance, primarily due to significant increase of attention of modern researchers to study such a phenomenon as a positive effect of natural objects in mental and physical condition of children, which we called "nature therapy" [8].

Creating a learning environment, aimed at improving pupils involves the introduction of nature products conducive to its full development, strengthening and preserving their health.

Now to describe the nature of therapeutic effects on the human body uses the terms interchangeably, "eko therapy" and, "nature therapy", but their use in an educational context is given little attention. Given the urgency of the above, stop in more detail on the "nature therapy".

The natural environment (water, air, sun, cold, forest noises, etc.) for a long time used different people for healing and prevention of disease. Nature therapy - a totality of folk knowledges, techniques and methods of use of natural therapeutic factors for the prevention and treatment of diseases, to support and strengthen health. Nature therapy in our understanding - is, first of all, a healthy effect on the human body by means of nature. The powerful effect nature therapy - restoring health through contact with nature - is not only a significant improvement in physical and mental state, but also in enhancing the intellectual abilities of the child [15].

Types nature therapy we consider as a means of personal information protection junior pupils, within which is the implementation of health targets of the educational process of primary school.

DISCUSSION OF RESULTS

Modern society is reaching a high level of technological development, ignores the laws of nature, changing accents and defining directions of interaction with nature, which usually leads to negative consequences. The ecological crisis is the result of negligent attitude to nature and its belief in its own power, reduce cultural and spiritual level, human incompetence and lack of professionalism in dealing with national and international issues and so on. However, despite the worsening ecological situation is now not enough attention to the use of natural objects in the educational process primary school to prevent and improve mental and physical health of pupils.

The technology natural therapeutic systems include forming value attitude to nature, knowledge and skills, enabling teachers to use mean nature therapy s in the formation of ecological culture of children of primary school.

REFERENCES

1. Bondarenko V. B. Psykhokorektsiina robota vchytelia, yak odyh iz napriamkiv zdoroviazberezhennia uchniv / V. Bondarenko // Pochatkova shkola. – 2014. – №3. – S.44-46.
2. Dudko S. H. Zdoroviazberihaiuchi tekhnolohii v osvithomu seredovyshchi pochatkovykh klasiv / S. H. Dudko // Postmetodyka. – 2010. – № 5 (96). – S. 45–47.

3. Dudko S. H. Zdoroviazberezhuvalni kompetentnosti uchniv pochatkovykh klasiv ta shliakhy yikh formuvannia / S. H. Dudko // Naukovyi chasopys NPU im. M. P. Drahomanova. Serii 16. Tvorchia osobystist uchytelia : problemy teorii i praktyky : zb. nauk. prats / red. kol.: N. V. (vidp. red.). – K., 2013. – Vyp. 232 (32). – S. 203–207.
4. Dudko S. H. Zdoroviazberezhuvalni tekhnolohii yak skladova osvity dlia staloho rozvytku / S. H. Dudko // Tekhnolohii intehratsii zmistu osvity : zb. nauk. prats za materialamy mizhnar. nauk.-prakt. konf. «Intehratsiia zmistu osvity na zasadakh osvity dlia staloho rozvytku», 26 kvit. 2012 r. – Poltava, 2012. – Vyp. 4. – S. 135–142.
5. Dudko S. H. Informatsiino-osvitnii prostir yak zdravotvornivshchynstvo osvity / S. H. Dudko // Naukovi zapysky Maloi akademii nauk Ukrainy : zb. nauk. prats. – K., 2013. – S. 156–162.
6. Dudko S. H. Kraina zdorovykh ditei: Vprovadzhennia zdoroviazberihaiuchykh ta zdoroviarozvyvaiuchykh tekhnolohii v navchalnomu protsess / S. H. Dudko. – Poltava : Dovkillia-K, 2010. – 43 s.
7. Dudko S. H. Rezultaty eksperymentalnykh doslidzhen stanu zdorovia uchniv v umovakh zdravotvornivshchynstva navchalnoho seredovyschcha pochatkovoi shkoly / S. H. Dudko // Imidzh suchasnoho pedahoha. – 2014. – № 9. – S. 57–59.
8. Malyshevska I. A. Metodyka vykorystannia pryrodoterapii yak tekhnolohii korektsii zdorovia uchniv pochatkovoi shkoly: monohrafiia / I. A. Malyshevska. – Uman : Vizavi, 2013. – 162 s.
9. Mameshyna O. Ekolohichni hry yak metod ekopedahohiky / O. Mameshyna // Ekolohichne vykhovannia v pochatkovii shkoli / uporiad. I. Vasylenko, O. Kondratiuk. – K. : Red. zahalno ped. haz., 2005. – 128 s.
10. Orzhekhovska V.M. Zdoroviazberezhuvalne navchannia i vykhovannia: problemy, poshuky / Valentyna Mykhailivna Orzhekhovska // Teoretyko-metodychni problemy vykhovannia ditei ta uchnivskoi molodi : [zbirnyk naukovykh prats / Instytut problem vykhovannia APN Ukrainy; za red. I.D. Bekha]. – Vyp. 10, t. 1. – Kamianets-Podilskyi : Vydavets Zvoleiko D.H., 2007. – S. 461.
11. Nature therapy [Elektronnyi resurs]. – Rezhym dostupu : 24.11.2009 : <<http://www.medlinks.ru/article.php?sid=31148>>. – Zahol. z ekranu. – Mova ros.
12. Riznyk L. M. Ekolohichne vykhovannia molodshykh shkolariv na narodnykh pryrodoznavchykh tradytsiiakh : dys. ... kand. ped. nauk : 13.00.01 / Riznyk Liubov Mykolaivna. – K., 1995. – 227 s. – Bibliohr. : S. 134–154.
13. Sukhomlynskyi V. O. Vybrani tvory v 5 t. T. 3. – K. : Rad. shkola, 1977. – 659 s.
14. Shapoval L. V. Ekolohichne vykhovannia molodshykh shkolariv u protsesi vyvchennia pryrodnych predmetiv : dys. kand. ped. nauk : 13.00.01 / Shapoval Larisa Vasylivna ; Instytut problem vykhovannia APN Ukrainy. – K., 1999. – 237 s.
15. Iasvyn V. A. Psykholohiia otnosheniia k pryrode / V. A. Yasvyn. – M. : Smysl, 2000. – 456 s.
16. Iakymenko S.I. Formuvannia kultury zdorovoho sposobu zhyttia uchniv osnovnoi shkoly u pozaklasnii roboti: navch.-metod. posibnyk / S.I. Yakymenko, N.V. Oksenchuk. – K. : Vydavnychii Dim «Slovo», 2012. – 288 s.
17. Экоterapia [Elektronnyi resurs]. – Rezhym dostupu : 15.01.11 <<http://www.sunhome.ru/journal/121579>>. – Zahol. z ekranu. – Mova ros.
18. Экоterapia, yly nazad k pryrode! [Elektronnyi resurs]. – Rezhym dostupu : 15.12.2009 : <<http://nnpctokz.ru/zdorove/ekoterapiya-ili-nazad-k-prirode.php>>. – Zahol. z ekranu. – Mova ros.
19. Handbook of music therapy / Edited by L. Bunt and S. Hoskyns. Hove, 2002.
20. Green M. Existential encounters for teachers / M. Green // Philosophic alternatives in education / ed. by G. Gutch. – NY : Random House, 2004. – 216.

АНОТАЦІЯ

ФОРМУВАННЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ КУЛЬТУРИ МОЛОДШОГО ШКОЛЯРА ЧЕРЕЗ ЗДОРОВ'ЯЗБЕРЕЖУВАЛЬНІ ТЕХНОЛОГІЇ

Основним завданням початкової школи на сучасному етапі розвитку суспільства є виховати особистість, яка прагне до постійного саморозвитку, самовдосконалення, реалізації власного потенціалу. Проте, як показують результати психолого-педагогічних і медико-соціологічних досліджень, будь-які соціальні й освітні реформи не будуть дієвими, доки учні не будуть здоровими, розвиненими, не оберуть свідомо здоровий спосіб життя.

Сучасне суспільство, досягнувши високого технологічного рівня розвитку, нехтує законами природи, змінюючи акценти і визначаючи напрями взаємодії з природою, що досить часто призводить до негативних невідворотних наслідків. Екологічна криза є результатом недбалого ставлення людини до природи, її переконаності у власній могутності. Природотерапія – це, в першу чергу, оздоровчий вплив на організм людини засобами природи.

Потужний ефект природотерапії – відновлення здоров'я через спілкування з природою – полягає не тільки в значному поліпшенні фізичного та психічного стану, але й у підвищенні інтелектуальних здібностей дитини. Сучасна людина, особливо та, яка живе у великих містах, давно замінила природне середовище на штучне, відгородившись від природи, забувши про те, що сама є її частиною і залежить від неї, як дерева залежать від ґрунту і сонячного світла. Лікування “живою природою”, на думку вчених, включає прогулянки в парку, садівництво й інші види відпочинку на природі. Перебування на природі, як доводять вчені, вкрай необхідне для розширення життєвого простору, фізичного розвитку, отримання екологічних знань, заряджає позитивними емоціями. Природа є найбагатшим середовищем для розвитку сенсорних систем дитини (слуху, зору, нюху, смаку, дотику).

Усе вищезазначене свідчить про нагальну потребу наповнити зміст початкової освіти турботою про здоров'я дітей. Це передбачає запровадження системи педагогічних, медичних, соціальних заходів, спрямованих на відновлення, корекцію станів, особистісного та соціального статусу дітей.

Nadiia Stetsula¹, Svitlana Pavliukh²

¹ Drohobych State Ivan Franko Pedagogical University,

² Education Department, Drohobych District State Administration
e-mail: n.stetsula@gmail.com

THROUGH ECOLOGICAL EDUCATION TO THE ECOLOGICAL CULTURE

Abstract. The article is devoted to a wide range of contemporary problems in ecological education. Educational and educative problems space, namely the formation of ecological culture in the system of secondary education in Ukraine are the center of research. The evolution of ecological education in Ukraine and its condition at the present stage, its components, goals, priorities and prospects were studied. Phases in forming of ecological culture that foresees complex effect on the sphere of consciousness: cognitive, affective, and practical, were analyzed. It was established that the ecological education should include general scientific, moral, aesthetic and practical aspects. Different forms and methods of educational activities that contribute the formation of ecological culture the most were presented. The holistic ecological-educational model and key directions of development ecological education were formulated. Priority trends in development of teacher as the founder of personality with deep ecological knowledge and high ecological culture were defined.

Keywords: Secondary Education, Ukraine, ecological culture, concept of ecological education, ecological and educational model, methods of educational work.

INTRODUCTION

The society is undergoing fast and fundamental changes in its structure and industries. The roots of change many lie in new interactions of human and nature. Until mid-twentieth century, a technocratic optimism dominated when that the power of the man is limitless. At the end of this century, have other representations arisen – ecological pessimism, when it seemed that the ecological disaster is inevitable. But there is a third, modern way – ecological parity with the environment, which is based on environmental education and culture [13; 14; 18].

Organization of ecological education is dictated by comprehensive nature of environmental problems and transition of society from consumer use of resource potential to the modern concept of sustainable development, based on the principles of interaction between society and nature, and which provides the harmonization of economic and social development and environmental protection. Understanding their nature, degree of danger and ways of implementation of education provisions for sustainability is the most topical matters requiring interpretation [2; 8; 16; 19; 21].

The beginning of the XXI century appointed the finding new prospects for the development of the modern school and environmental education. Ecological problems and implementation of sustainable development concept are the meaningful “pillars” for integration of ecological knowledge into the system of the general secondary education in modern school. Standard content of school environmental education is based on principles established by the State national program “Education”, the Concept of 12-year school and the Concept of environmental education in Ukraine. Given this, the standard included knowledge and skill ensuring sequence for the formation of ecological culture personality [7; 17; 20]. The Conception of Environmental Education of Ukraine specified “The main goal of environmental education is the formation of ecological culture for individuals and society as a whole; the skills, basic environmental knowledge, ecological thinking and consciousness, based on treating nature as universal, unique value. Environmental education on the one hand, should be independent element in the system of

general education, and on the other hand, to play an integrative role in the whole system of education” [1].

Nowadays preschool, comprehensive and after-school educational establishments are aimed to form environmental knowledge, to implement ecological upbringing school youth, to develop ecological culture [15]. The objective of the study is to summarize the situation of ecological education in the modern comprehensive school; to analyze different forms and methods of learning best facilitating the assimilation of knowledge and skills of disciple the study of ecology, and to identify priority trends for the teacher as the founder of personality with deep environmental knowledge and high ecological culture.

RESULTS

Research of mutual influence for social and natural in human life permits to talk about specific manifestations of culture at the ecological sense. It is reproduced in contemporary of philosophy of ecology in the concept of “Ecological culture”. Ecological culture is defined as the form of culture, as a person's ability to feel life of the world, to adapt it for himself, to harmonize own needs and to structure the environment [10].

Ecological culture depends on many factors, among which environmental education is one of the major. Ecological education is a continuous upbringing, training, self-education and personal development aimed at fostering norms of moral behavior, the duties and responsibilities related to the environment and to obtain special knowledge and practical skills in protecting the environment, rational management of natural resources, and environmental security. In the process of ecological education, environmental knowledge, skills that are the basis forming ecological consciousness and thinking person are assimilated. The latter are the basis for ecological worldview and of ecological culture (Fig. 1).

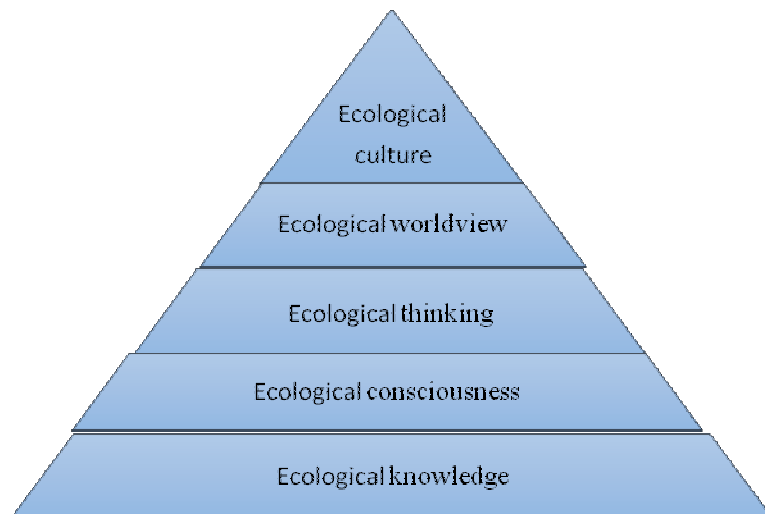


Fig. 1 Stages of ecological culture formation

Ecological culture is a functional basis for human existence. It is characterized by new deep environmental knowledge about the natural and social environment, the presence of philosophical value orientations regarding the nature, of ecological thinking and responsible attitude to nature and their own health, obtaining skills and experience of solving environmental problems at the

local and global levels, direct participation in ecological work, the prediction of a possible negative consequences as a result of the natural conversion due to the human activity [6].

The unity of environmental education, consciousness, thinking, worldview and culture involves their sequential interdependent development. Each of the above components occupies the assigned “ecological niche”, and the process of its forming can be considered as a purposeful given the current implementation of educational and cultural problems.

The goal of ecological culture can be realized by means of resolving the triune task: educational - formation of knowledge system about the modern environmental problems and their solutions; upbringing - forming motives, needs and skills for environmentally directed behaviors and healthy lifestyle activities; developmental – developing the system of intellectual and practical skills to study, evaluate and improve the environment, the development of active environmental protection [11; 12; 15].

Concept of ecological education in Ukraine, which was adopted by in 2001, defines ecological education as a continuous education and development, aimed at forming ecological culture, ecological responsibility for every inhabitant of the planet for its state and development. According to this concept, a training course “Ecology” is introduced in class 11 in upper secondary school in 2011. Nowadays ecology in a comprehensive school based on teaching the lessons on topics of corresponding natural disciplines, ecologization of individual topics in the educational process and at the initial stage of formation in continuous environmental education [20].

Ecological education in modern secondary school is conditionally divided into three stages. The first stage is studying parts of nature, seasonal changes and their causes, of general concepts about using natural resources in 1-4 grades. At this age, it is important to teach children to think ecologically competently. It is the main task of the teacher, awareness of the negative impact of human activities on the environment and dangers to humans from contaminated environment. In practice, the academic course “Ecological alphabet” must be introduced. At the second stage, schoolchildren of 5-9 grades get fragmented ecological knowledge (unstructured), studying science, botany, zoology, human anatomy, chemistry, physics, geography. In that age period, optional courses on ecology, history of its development, the current state of natural systems and their protection are important. However, this is not enough. The questions about the continuous course “Foundations of environmental knowledge”, “Nature Conservancy”, or “Ecological Ethics” should be introduced in secondary school as permanent educational subjects that should be started from grade 5, when is formed a conscious relationship to the environment [12]. The third stage is the positioning of “Ecology” itself in 10-11 grades as a separate discipline, aimed at generalization in environmental knowledge and skills obtained during the study of natural sciences of secondary and older school.

Modern school is trying to form ecological culture of schoolchildren through not only traditional teaching technologies but also tries to use innovative technologies, which stimulates independent search for new knowledge and develops a personality emotionally. Methodical work of creative teachers is aimed to develop new types of lessons that differ from planned, for which the different types of cognitive activity and schoolchildren transition to the active search, and practical thinking. The effectiveness of unconventional lessons is based on the use of new methods, namely, project, problem, search, research teaching that forms the ability to make rational decisions on activity in the environment, to predict consequences and to involve social and cultural environment.

In the process of ecological culture formation in secondary school, it is important to apply basic and additional forms of teaching [3]. Recent widespread use in educational activities have gained the following additional organizational forms of teaching: ecological projects, ecological action and flash mobs, ecological excursions, eco-picnics, eco-quests, ecological paths and conferences [5].

Ecological projects. The application of project activity is aimed at the formation of experience, independent and collective search of new knowledge and use them in real conditions, finding their professional orientation in the schoolchildren.

Ecological action is an effective form of ecological education. These measures form the proactive position of the child, and they must be performed at school starting from the first grade.

Ecological flash mob is a way to attract attention of society to the problem of ecological culture by applying music and dance performances with elements of the choreography and of acting.

Ecological excursions. During the tour, schoolchildren learn to observe, analyze, draw conclusions and generalizations concerning the nature objects of and phenomena.

Contests, tournaments and competitions. Intellectual competition in the educational space of Ukraine is directed to encourage schoolchildren to study certain subjects. This is an opportunity for the schoolchildren to demonstrate opportunities to find their calling (mission).

Trainings is an interesting process of both self-discovery and discovering others; intercourse; effective form of mastering knowledge; a tool of formation abilities and skills; a form of experience extensions [9]. The training creates the informal, relaxed atmosphere of communication that opens the before a group of people many of options for development and solution on the problem, for which they were gathered. It is important to choose the most expedient topics for environmental training, in which content the contradiction is laid down. "Waste Disposal – a problem or opportunity?" [4].

Ecological conference is a periodic gathering of schoolchildren and teachers to exchange information on particular topics, discussion and solution for the specific environmental problems and issues approaching the learning activity to the scientific forms.

Eco-quest is a form of learning allowing the schoolchildren to apply theoretical knowledge in practice. It involves the passage of a route, where schoolchildren should decide various problems, overcome a difficulty and relax by ecological games during the stops. Performing tasks allows schoolchildren to seek solutions for ecological problems, to learn how to determine threats to the environment, and to apply ecological knowledge.

Eco-picnic is informal communication and training, which demonstrates how to make outdoor recreation secure to environment.

Ecological paths are the basis of environmental education and ecological culture of schoolchildren and determine the formation of environmentally literate human behavior towards the environment.

The content of ecological culture largely depends on the actual attitude of society to the nature of the material conditions and human needs.

CONCLUSIONS

The importance of ecological knowledge in formation of environmental culture of schoolchildren is underestimated. It is evidenced by: the lack of proper status for environmental education at school; imperfection of programs and textbooks; the complexity of new programs; the lack of proper teachers preparation, as well as the proper educational and methodological support, including teaching aids for teachers on methods of teaching in modern schools using new forms and methods of active learning activities.

The traditional education is unable to form environmental competence in schoolchildren, and only recounts the problems not aiming to address them. It does not allow understanding the systemic view of the world, as most subjects are taught isolated; it is not aimed at the study and practical solving of local problems.

The main trend of environmental education is its integration into the formal system of general education.

It is not about the fact that teaching of each discipline shall be permeated by ecological ideas, it is about the study of the environmental issues in separate educational courses, which have and establish the close connection between all subjects. Unfortunately, environmental education in Ukraine is not yet on the proper level.

The main strategic directions for the development of ecological education are to reform general ecological education; upbringing generation with the new ecological culture, new ecological outlook, based on the principles of humanism and the ecologization of thinking.

The main ways for reforming education are creation of the atmosphere for promoting education, concern for the enhancement of intellectual and spiritual potential of the nation; provision for the development of education using modern technology and scientific and methodological advances; the preparation of teaching staff on the modern professional level.

REFERENCES

1. Conception of ecological education of Ukraine, 2002. Ecology of and Resources. Kyiv, 4, 5–25.
2. Defining and Implementing Sustainable Agriculture, 1997. Norman D., Janke R., Freyemberger S, Schurle B., Kok H., Kansas State University, 157.
3. Environmental education and upbringing school youth in games and trainings, 2003. Horiana L.H., Khrutba V.O., Malko H.O. and others. Kyiv. Osnova, 132 p.
4. Environmental Education in Botanic Gardens. Guidelines for Developing Individual Strategies, 2002. Richmond: Botanic Gardens Conservation International, 35 p.
5. Environmental Education in Canada, 2006. An Overview for Grantmakers. Toronto: Canadian Environmental Grantmakers` Network, 17.
6. Fedorenko O., Tymochko T., Tkach V., 2005. The question ecological upbringing and education of the population. Ecological Bulletin, 3, 16-21.
7. Hrebilskyi L., Yemelianov I, 1999. The concept of national program for the integration of environmental education. Visnyk of the National Academy of Sciences of Ukraine, 11, 40–49.
8. Jones T., Phillips B., Williams C., Pittock J., 2003. Managing Rivers Wisely: Lessons from WWF's work for integrated river basin management. Gland, Switzerland: WWF-International, 94.
9. Karpova V., 2005. Technology training. Open Lesson: development, technology, experience. Kyiv.: Hlavnyk, 10–15.
10. Krysachenko V., 1996. Ecological culture: theory and practice. Kyiv, 352.
11. Matuzova I., 2012. Results of implementation of organizational-pedagogical conditions of increase of ecological education of senior schoolchildren in the process of profile learning. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv , v. 11, P. I, 140–152.
12. Naumenko R., 1994. Ecological education of the schoolchildren of 5-9 forms of boarding schools in their free time, Kyiv, 1994.
13. Pidlisnyuk V., Stefanovska T., 2004. Organic farming in Ukraine: a legacy from the past and perspective for future. In: Economics and the Environment "Ecological agriculture in Central and Eastern Europe", 32, 53 – 60.
14. Pidlisnyuk V., Stefanovska T., 2001. Women's role in Ukrainian Environmental Management. Proceeding of the International Conference "Taking Nature Seriously: citizens, science and environment", Oregon University Press, Oregon, USA, February.
15. Pustovit P., 2003. Modern approaches to the content of ecological education of schoolchildren in out-of-school institutions. Ecological Bulletin, v. 3–4, 13–15.
16. Strategics for Sustainable Development. Editor Steve Moguire, 2001. An explanatory Handbook 276-440/640, McGill University, Faculty Management, Montreal, Canada, 361.

17. The Law of Ukraine “On Education”, 1996, April 25th. Voice of Ukraine.
18. Tolstoukhov A., Khylyk M., 2001. Ecosafety development, search of stratagems. Kyiv: Knowledge of Ukraine, 285.
19. Tookey D., Simonov S., 2001. Ukrainian Environmental NGOs: Do they make a difference? The Journal of East European Law, Columbia University.
20. Tsaryk L., Hrubinko V., 1999. To the concept of a regional program of ecological education in secondary school. Ecological and geographical research in modern science. Ternopil, 83-84.
21. Tur O., 2016. Structure of Communicative Competence of a Personality, Pedagogical Discourse, 20, 187–191. <http://collections.infocollections.org/ukedu/uk/d/Js5131u/2.html>

АНОТАЦІЯ

ДО ЕКОЛОГІЧНОЇ КУЛЬТУРИ ЧЕРЕЗ ЕКОЛОГІЧНУ ОСВІТУ

Екологічні проблеми та реалізація концепції сталого розвитку виступають змістовними “стержнями” інтеграції екологічних знань у систему загальної середньої освіти сучасної школи. Стаття присвячена широкому колу проблем сучасної екологічної освіти. У центрі дослідження – проблеми освітньо-виховного простору, а саме формування екологічної культури в системі середньої освіти України. Досліджено еволюцію екологічної освіти в Україні та її стан на сучасному етапі, її компоненти, цілі, пріоритети, перспективи розвитку. Перший – вивчення в 1-4 класах складових частин природи, сезонних змін і їх причин, загальних понять про використання природних ресурсів. Другий етап – учні 5-9 класів отримують екологічні знання фрагментарно (несистематизовано), вивчаючи природознавство, ботаніку, зоологію, анатомію людини, хімію, фізику, географію. Третій – в 10–11 класах “Екологія” позиціонує себе як самостійна навчальна дисципліна, спрямована на узагальнення в учнів набутих екологічних знань, умінь і навичок, здобутих протягом вивчення всіх природничих дисциплін середньої і старшої школи. Проаналізовано етапність у формуванні екологічної культури особистості, який передбачає комплексний вплив на сфери свідомості: когнітивну, афективну, діяльну. У процесі екологічної освіти засвоюються екологічні знання, уміння, які є основою формування екологічної свідомості і мислення людини. Останні виступають підґрунтям становлення екологічного світогляду та екологічної культури. Єдність екологічної освіти, свідомості, мислення світогляду та культури передбачає їх послідовний взаємопов’язаний розвиток. Кожен із названих компонентів займає відведену йому “екологічну нішу”, а процес формування можна вважати цілеспрямованим за умови поточної реалізації освітніх і виховних екокультурних завдань. Встановлено, що екологічна освіта повинна включати загальнонаукові, морально-естетичні і практичні аспекти. Наведено різні форми і методи навчальної роботи, які найбільше сприятимуть формуванню екологічної культури. Останнім часом широкого застосування у навчально-виховній діяльності набули такі додаткові організаційні форми навчання: екологічні проекти, екологічні акції та флешмоби, екологічні екскурсії, екопікніки, екоквести, екологічні стежини та конференції. Сформульовано цілісну еколого-освітню модель та основні напрями розвитку екологічної освіти. Виділено пріоритетні тенденції розвитку вчителя, як фундатора особистості з глибокими екологічними знаннями та високою екологічною культурою. Основною тенденцією екологічної освіти є її інтеграція в офіційну систему загальної освіти. Ідеться не про те, що викладання кожної дисципліни має бути пронизане екологічними ідеями, а про те, щоб розглядати екологічні питання в окремих курсах, які мають встановлювати тісний зв’язок між усіма навчальними предметами.

Головні стратегічні напрями розвитку екологічної освіти: реформування загальної екологічної освіти; виховання покоління з новою екологічною культурою, новим екологічним світоглядом, який ґрунтується на принципах гуманізму та екологізації мислення.

Małgorzata Bąk, Weronika Janowska-Kurdziel
University of Rzeszow, Poland

FORMS OF SUPPORT FOR THE FOSTER FAMILIES ON THE ACTIONS TAKEN BY TEAM FOR THE ORGANIZATION OF THE FOSTER CARE SYSTEM BY SOCIAL WELFARE CENTRE IN RZESZÓW

Abstract. The article is about the role which the coordinator of family foster care and social workers plays in foster families that operate in Rzeszow. After legislative changes, which began in 2012, many things have changed in the organization and functioning of the institutions which organize family foster care. In the year 2012 coordinators of family foster care started working with foster families. This article shows the legal basis and the duties of the coordinators, which are included in the Act on family support and foster care system. This article also gives a better understanding of the structure of the foster families that live in Rzeszow. Non-statutory activities that are being undertaken by people who work for foster care in Rzeszow were also pointed out.

Key words: coordinator, foster families, foster care, families, Rzeszow

INTRODUCTION

The preamble to the Convention on the Rights of the Child on November 20, 1989 includes the statement that family as the basic cell of society and the natural environment for the growth and benefit of all its members and particularly children, should be afforded the necessary protection and assistance so that it can fully assume its responsibilities within the community. Recognizing that the child, for the full and harmonious development of his or her personality, should grow up in a family environment, in an atmosphere of happiness, love and understanding [DzU 2013, poz. 677]. Accordingly, the main subject of social policy should be a family and its needs, which are to determine the scope of the programs and forms of action for the reintegration of family environment.

Active actions carried out by family assistance centers should be targeted at multi-band support the child and the family, and to support families in all their functions. The law on family support and foster care system of 9 June 2011 [DzU 2015, poz. 332] gives the possibility of building a new system of family support educationally inefficient at different stages of its operation, from the problems of care and education need temporary support in a situation in which the child was placed in foster care. Family assistance centers take a lot of activities are posed procedures, regulations, which are to serve childcare and education [Tyszka, 1984: 135].

Familial forms of alternative care are the subject of my considerations, because it is a form of child care for abandoned, orphaned, a child who has repeatedly been spurned, unwanted. Foster parents, taking a child into care, they should create a warm, full of home care, so that children feel safe in it and always eager to him returned, and gained memories from childhood were valuable to them. A difficult environment in which the child grew up, full of disappointments, failures means that foster parents should have a big understanding, patience, assertiveness towards the child, they must put a lot effort to counteract the aggressive child's inappropriate behavior. Hence, it is necessary to draw the attention of parents to concentrate on the child's emotions, communication, showing that he is loved, accepted, often in spite of deficits and disability.

THE SYSTEM OF FAMILY SUPPORT ON THE BASIS OF THE ACT OF SUPPORTING FAMILY AND FOSTER CARE SYSTEM

The law on family support and foster care system requires the district to organize child care, for children deprived it from generation family, by placing it in the family or institutional foster care.

A large role in the actions taken to improve the functioning of the family after the placing a child in a foster care will have the cooperation of a social worker, family's assistant and the coordinator of family foster care. The roles of these professionals overlap; thanks to the joint efforts good cooperation among the employees will be able to complement each other, and take care of the needs of both, the child and the family.

The Municipal Social Assistance Centre in Rzeszow in March 2012 created the Team for the Organization for the Foster Care System, which carries out tasks resulting from the above-mentioned statute [Biuletyn Informacji Publicznej, 2011]. The basic task of the team is promoting foster care in the local community; conducting recruitment, qualification and training of candidates for the implementation of foster care forms. The team is providing counseling and therapies for people having custody of foster family and their children, but also for children placed in foster care. Furthermore, there is support provided by psychologists. In addition, an important task seems to be support groups for foster parents and families. The crucial is to organize help or volunteer support involving the learning support pupils placed in family forms of alternative care, conducting socio-therapeutic groups for the children placed in foster care for children and their foster parents. Another task of the organizer of family foster care is a collaboration with the local community, a social welfare center, a partnership with the courts and their subsidiary bodies, educational institutions, entities medicines, as well as churches and social organizations.

An important task of the organizer of the family foster care is to assess the merits of a further stay of the child in the foster care. Currently, in the city, in family foster care are placed 145 children. In this case, there are seven families where children under three years old are placed, which should be assessed every three months. Likewise, 109 cases are children under eighteen years old, that have to be examined every six months.

Team for the organization of foster care, carrying out statutory tasks, provides guidance to foster families, which aims to preserve and strengthen their competence and to counteract the phenomenon of burnout, organizes workshops and group training [Cyrych, 2017]. The subject of training has adjusted to those reported by the foster parents and the needs of the most common concerns and the difficulties encountered in the performance of their duties. Among the important tasks that the legislature requires on the organizer of the family foster care, is reported to the adoption agency, information about the children with the regulated legal situation, in order to search adoptive families for them, and to bring an action on the award of maintenance for the child who is in foster care. In addition, the act requires the preparation of a foster family or conducting family home child for adoption of a child to foster care; keeping a register of qualified candidates to serve as a foster professional or non-professional to keep the family home of the child and those already serving as a foster family or family of professional children's home [Janowski, 1984: 94]. Another task of the organizer is to prepare an opinion on the merits of a further stay of the child in foster care, and then to transfer it to the competent court. After that, drafting evaluation foster family or conducting family home child, in consultation with the family assistant, social worker [DzU 2015, poz. 332, art. 128–131]. Furthermore, the organizer should keep the register of issuing opinions, and issued certificates of qualification and cooperate with the team for the benefits in terms of proper use of the financial assistance granted and changes in the family and the child. During working with the foster family, it is important to be aware of many law aspects, like the ability to make a diagnosis of the needs of individual family members, create the necessary maps institutions providing support in a very broad sense, and so psychological, legal, medical, or social speech therapy [Muszyńska, 1976: 49].

Upon request, a family foster has assigned a coordinator of family foster care [DzU 2015, poz. 332, art. 77 ust. 1–2]. The coordinators of family foster care provide assistance to foster families and orphanages leading family in the tasks arising out of foster care. They also prepare, in cooperation with the assistance of the family, and the family does not support assistant - social worker and appropriate foster family or conducting family home child plan to help the child. To theirs responsibilities include likewise assistance to foster families and leading family orphanages in connection with mutual contact. Moreover, they provide access to specialist help for children, including psychological re-education and rehabilitation, provide support for an adult alumni of foster care forms [Kusio, 1998: 56].

FAMILIES COVERED BY THE SUPPORT OF THE ORGANIZER OF FAMILY FOSTER CARE IN RZESZÓW

During making an environmental diagnosis of foster families operating in Rzeszow, important is to take a look on the number and types of foster families, the number of children placed in these families, the age of the children and the reasons for their placement in foster care.

The information given by the Team for the Organization of the Foster Care System by Social Welfare Centre in Rzeszów presents data of which is due, that on the 31st of December 2015, in Rzeszów functioned 113 foster families, including 74 families related, 32 non-professional and 7 unions, along with one specialist and one serving as a family emergency. In total, in all of these families were placed 145 children. The collected data show that in families of related was placed 89 children in families nonprofessional 42, and the professional 14.

Analysis of the reports shows that the majority of foster families has custody of one child (up to 88 cases). Only in five families were placed three kids, in only one family - five kids, and two kids in nineteen families. Among the children alone growing up in foster care, 12 has a sibling that is placed in residential institutions or other foster families, a group of children remains under the care of the biological parents, and some had already become independent.

Important in the care of the child is age, which determines the selection of appropriate educational methods, requires parents the right attitude and knowledge of the developmental stages of children. The largest group of children placed in foster care is from 7 to 17 years: between the ages of 7 to 13 years is 44 children, ranging in age from 14 to 17 years - 53 children. The smallest group is with children from birth to 3 years of age – 7 children.

The reasons for placing children in foster care in Rzeszow the most often were: the addiction of parents (45 children); helplessness in matters of care and education (32 children), half-orphanhood (19 children) and orphanhood (11 children); disability and long-term illness of parents (17 children); parent stays abroad the country (3 kids) and underage mothers (1 child). For other reasons than those listed were placed 18 children.

IMPLEMENTATION OF LEGISLATIVE ACTIVITIES CARRIED OUT BY THE TEAM FOR THE ORGANIZATION OF FOSTER CARE SYSTEM

Team for the Organization of the Foster Care System performs tasks resulting from the act of supporting family and foster care system by taking a number of actions for children placed in foster care and to foster family. An important task of the team is the qualification of candidates to serve as a professional foster family, non-professional foster family or to manage a family orphanage [Ostojski, 2005: 167-171]. Eligibility requires an in-depth pedagogical and psychological diagnosis in terms of creating the right environment for family life for the adopted child, the motivation to act as a foster family and parental competence. Developed by the team qualification procedure consists of two stages and its aims to identify how and to whom the

candidates will be able to help best. Pedagogical research is carried out at the place of residence of the family. During this the housing situation, assets, and family health are analysed [Jarosz, 2003: 16-17]. Workers gather the necessary documentation. Determined are the funds that the family has, where the candidates work, what is the structure of expenditures, how they spend their free time. An important seems to be to collect information on the ideas of potential foster parents for the child's upbringing.

The next step is psychological research, consisting of standardized tests. Tests take place on three, possibly four meetings with a psychologist. This phase is followed by a meeting of all persons conducting the qualification of the family. The team decides whether a diagnosis of pedagogical and psychological are compatible and whether the candidates have the appropriate abilities and motivation to act as a foster family. The diagnosis takes about a month. Regardless of the results, whether positive or negative opinion of the candidates, the employees of the Group are being presented with its contents. If as a result of the research team qualifying recognizes that the family has the appropriate predisposition, the candidates are referred to training.

The training is conducted in accordance with the "Program of training candidates to carry out foster care" which has been prepared by the Team and approved by the Minister of Labor and Social Policy for a period of five years [Decision DSR-I-5121-19-1-TU/12z 18.04.2012]. The basic part of the training includes 60 hours of teaching. It is 50 hours of theory and 10 hours of practice. The aim of the training is to provide knowledge of pedagogy, developmental psychology, educational, social and legal basis of care. The program includes topics regarding the custody, upbringing of a child abandoned in need of support and help from the adults, but also a disabled child or placed under the provisions of the procedure in cases involving minors. The scope of the training program includes elements of family law and issues of children's rights, the role and functions of the family in education, psychological and social aspects of development of the child brought up beyond the natural family. Particular attention is paid to the specific nature and purpose of the temporary nature of foster care, as well as the recognition of the individual needs of the child and developing his interest, to compensate for delays and deficits in learning and development, including those resulting from negligence in the natural family. Additionally, the program covers issues necessary for candidates to serve as director of care and educational institution with a family and to act as a family emergency. Activities for candidates are carried out in the framework of group meetings and individual consultations. Training leads to employees of the organization of foster care and the Center for Counseling and Crisis Intervention Specialist Social Welfare Centre in the form of lectures, discussions (brainstorming, games, discussions), workshops and workshop exercises based on their own experiences of the participants. The practical part of the training involves reviewing the educational experiences of families who are custodians replacement. Meetings with the established foster families are held both in their place of residence, as well as at the Centre. In addition, candidates have the possibility to take part in a meeting of a support group for foster parents, where they share their expectations, concerns and are willing to benefit from the knowledge and experience of foster parents perform this function. After the training, candidates receive a certificate of completion of training and qualification certificate.

Placing a child in a qualified foster family does not stop the whole process and does not indicate leave a foster family itself. Foster families from the area of Rzeszow, in which children are placed are covered by the support and help from both coordinators, family foster care, as well as psychologists and teacher team. Foster parents have the opportunity to take advantage of the many offered forms of support, which include: support group, support volunteers, training for already existing foster families. In addition, children placed in foster care and children's own parents have the possibility to participate in social therapy groups and youth groups.

The support group is one form of aid, which is targeted to people with similar experiences, struggling with similar problems. It allows mutual support of foster families through contact with other families, raising awareness and improving parenting skills, helps foster cares in their

problems related to child care and integrates the environment of foster families. Support group for foster parents in the Municipal Social Assistance Centre in Rzeszów has been operating since 2009. Within the group are held: group classes, meetings, training, workshops and refresher trainings of skills of care and parenting, consultations and individual counseling. Participants during regular classes have the opportunity to exchange experiences and comments, assistance and support, which can be used in solving difficult problems related to the functioning of the family. Objectives of support groups in Rzeszów include: creating a safe environment to share their experiences and feelings, allowing networking with other foster families and to creating a space to talk about the difficulties, problems and finding solutions.

The subject of training for already existing foster families is selected for the needs of that report to parents during meetings with the staff of the Centre. The trainings are aimed at improving the competence of care and education of parents and broaden their knowledge of the child and its development.

Another form of support is offered to organize **the help of volunteers**. Volunteering in the group has been operating since 2010. Volunteers are recruited from among the students of universities in Rzeszów. The information is placed on the websites of the Centre. The volunteers are mostly students of pedagogical and sociological, in some cases, these people were workers. The duties of volunteers are: supporting children and young people from forms of family foster care with learning, developing their knowledge and skills, presenting patterns – study well = helping others, developing interpersonal skills, as well as for the students experience in working with others.

The Team for the Organization of the Foster Care System offers foster families with comprehensive legal counseling, psychological and pedagogical, provided by both, pedagogue and team's psychologists, as well as by legal counsel and psychologists from the Center for Counseling and Crisis Intervention Specialist Social Welfare Centre in Rzeszów. Counselling aims to preserve and strengthen the powers of foster parents, and in the case of professional families - counteracting the phenomenon of burnout.

Employees of its own initiative, undertook to conduct a **socio-therapeutic** groups for the children of foster families and the children's own foster parents. Groups are functioning from 2012. Socio-therapeutic classes based on a authorial program developed by the persons leading groups adapted to the individual needs of the group, previously diagnosed during individual consultations with children and parents. Classes incorporate the three types of objectives: developmental, educational, therapeutic. These objectives are closely associated with the age of the participants. The classes aim to satisfy their basic needs, develop individual interests and undertake important for a particular age group issues (development goals). Participants are acquiring knowledge about themselves and about other people (for educational purposes). Moreover, the classes help to rebound emotional tensions and provide corrective experiences, opposed to the content of the experience traumatic. It is achieved with the help of carefully selected exercises, games - in the organization of such situations, which provide child new experiences opposed to traumatic experiences and will train and test under secure conditions the new ways of behavior (therapeutic targets). The classes are shaping attitudes of respect, acceptance and tolerance towards peers, acquiring skills associated with assertive behavior, develop the skills needed for the proper functioning of the group, acquiring skills needed to cope with stress. They also contribute to the development of new forms of leisure and modify the existing negative habits. Sociotherapeutic classes are organized by the employees of the group, and carried out in closed groups of 8 to 10 people. The participants of the course are children and adolescents in age between 8-14 years. Leading youth work, the employees of the Centre took into account the fact that many young people find it difficult to establish and maintain positive relationships with others, joining the group, showing understanding and constructive coping with problems and conflicts. Disturbances in the functioning of young people reveal themselves in relationships with peers and adults in the relationship with oneself. One of the forms of assistance to children

manifesting this kind of difficulties is a group of social therapy. Participation in the activities of the group is developing the ability to cope with emotional problems associated with behavior, social contacts, and mental health problems related to the development process. Taking into account the needs of young people, employees of the Organization for foster care for the first time formed and led a youth group in February 2016. The group consisted of twelve members and had a group meetings every day for one week during the winter. Each meeting lasted for three hours.

Members of the group are young people from classes I-III of junior-high school, struggling with the difficulties of adolescence, seeking acceptance and self-identity. Participation in the classes was voluntary, each participant had a consent signed by the supervisor. The group's objective was to build a sense of security, allowing expression of emotion, increase in the sense of acceptance and self-acceptance group, increase awareness of their own emotions, improving methods and forms of communication with parents, guardians, peers.

The team is taking many steps to integrate environmental foster families. For this purpose team organizes meetings for families and children with Santa Clause, since 2013. Employees are looking for sponsors in Rzeszów and thanks to their generosity and good will, the children are receiving gifts. Also a picnic organized on May 30 last year on the occasion of Foster Care was a way to integrate families. The event was attended by approximately 150 people. The participants of the picnic had an occasion to spend time with children during sports games, competitions and performances of invited guests.

CONCLUSIONS

The demand for foster parents is increasing. In Rzeszów very few candidates report, and from year to year, unfortunately, this number decreases. It seems difficult to determine why it is like this. On the one hand it can be a fear that people cannot deal with a child who were in a special situation, on the other hand it can be a lack of motivation or predisposition to act as a responsible function. Often, the mere fact of educating an own child is not enough to cope with so requiring challenge as it is with a foster child.

By making an analysis carried out by the team activities for foster families the priority should be the promotion of foster care in the city in order to attract candidates for foster families, their qualification and the creation of foster care forms. An important task of the group is also preparing further specialized training aimed at improving the qualifications. Necessary is also to preserve and strengthen the educational and care competencies of already existing foster families, in addition to further support the organization of psychological, pedagogical and legal for parents.

REFERENCES

1. Drozdowski L., Weigel B., 2011, *Rodzinne domy dziecka – opieka, wychowanie terapia*, Warszawa. Fundacja Orlen – Dar Serca 2011
2. Janowski A. (1980) *Psychologia społeczna a zagadnienia wychowania*. Wrocław-Warszawa, Wyd. Ossolineum;
3. Jarosz E., (2003) *Wybrane obszary diagnozowania pedagogicznego*, Katowice, Wyd. UŚ;
4. Kusio U. (1998) *Rodzina zastępcza jako środowisko wychowawcze*. Lublin, Wyd. UMC;
5. Kwaśniewska A., 2013, *Poradnik rodzicielstwa zastępczego*, Stowarzyszenie Interwencji Prawnej, Warszawa.
6. Lewin A. (1999) *Korczak znany i nieznan*. Warszawa, Wyd. Ezop.
7. Łuczyński A. (2008) *Dzieci w rodzinach zastępczych i dysfunkcyjnych*. Lublin, KUL;
8. Muszyńska Ł. (1976) *Altruizm i kolektywizm dziecięcy*. Warszawa, WSiP;
9. Ostojski J. (2005) *Mass-media zagrożeniem dla procesu socjalizacji i bezpieczeństwa psychicznego dzieci i młodzieży*, w: *U progu wielkiej zmiany. Media w kulturze XXI wieku*. Olsztyn;

10. Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Społecznej z dnia 9 grudnia 2011 r. w sprawie szkoleń dla kandydatów do sprawowania pieczy zastępczej, DzU2 2011 r., nr 274, poz. 1620.
11. Tyszka Z. (1984) *Teoretyczno-metodologiczne podstawy badań funkcji rodziny współczesnej*, w: *Rodzina a struktura społeczna*. Bydgoszcz, Bydgoskie Towarzystwo Naukowe;
12. Ustawa z dnia 9 czerwca o wspieraniu rodziny i systemie pieczy zastępczej, DzU2015, poz. 332 z póź. zm.
13. Zarządzenie Prezydenta Miasta Rzeszowa Nr 109/2011 z 27 grudnia 2011 r. w sprawie wyznaczenia organizatora rodzinnej pieczy zastępczej na terenie Miasta Rzeszowa.

Internet pages:

1. bip.erzeszow.pl/preview/9980/1/30; stan na 10.11.2016;
2. Cyrych E. <http://www.szkolnictwo.pl/index.php?id=PU2344>; stan na 15.01.2017.
3. <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/rankorder/2127rank.html>; stan na 15.01.2017;

STRESZCZENIE

FORMY WSPARCIA DLA RODZIN ZASTĘPCZYCH W ZAKRESIE DZIAŁAŃ PODEJMOWANYCH PRZEZ ZESPÓŁ DO SPRAW ORGANIZACJI SYSTEMU OPIEKI FOSTER OD MIEJSKIEGO OŚRODKA POMOCY SPOŁECZNEJ W RZESZOWIE

Preambuła Konwencji o prawach dziecka z dnia 20 listopada 1989 r. zawiera stwierdzenie, że rodzina jako podstawowa komórka społeczeństwa oraz naturalne środowisko rozwoju i dobra wszystkich jej członków, a w szczególności dzieci, powinna być otoczona niezbędną ochroną oraz wsparciem, aby mogła w pełnym zakresie wypełniać swoje obowiązki w społeczeństwie, uznając, że dziecko dla pełnego i harmonijnego rozwoju swojej osobowości powinno wychowywać się w środowisku rodzinnym, w atmosferze szczęścia, miłości i zrozumienia. Zgodnie z powyższym, głównym podmiotem polityki społecznej powinna być rodzina i jej potrzeby, które mają wyznaczać zakres programów i form działania na rzecz reintegracji środowiska rodzinnego.

Zapotrzebowanie na rodziców zastępczych jest coraz większe. W Rzeszowie zgłasza się bardzo mało kandydatów, a z roku na rok, niestety, ta liczba maleje. Trudnym wydaje się określenie, z czego to wynika. Z jednej strony może to być obawa przed tym, że mogą sobie nie poradzić z dzieckiem, które znalazło się w szczególnej sytuacji, z drugiej strony może to być brak odpowiedniej motywacji czy predyspozycji do pełnienia tak odpowiedzialnej funkcji. Niejednokrotnie sam fakt wychowania własnego dziecka nie jest wystarczający do tego, by podołać tak wymagającemu wyzwaniu, jakim jest piecza zastępcza.

Dokonując analizy realizowanych przez Zespół działań na rzecz rodzin zastępczych, za priorytetowe należy uznać promowanie rodzicielstwa zastępczego na terenie miasta w celu pozyskiwania kandydatów do pełnienia funkcji rodzin zastępczych, ich kwalifikowanie i tworzenie rodzinnych form pieczy zastępczej. Ważnym zadaniem Zespołu jest również przygotowywanie kolejnych specjalistycznych szkoleń mających na celu podnoszenie kwalifikacji, a także zachowanie i wzmocnienie kompetencji opiekuńczo-wychowawczych już funkcjonujących rodzin zastępczych, ponadto organizacja dalszego wsparcia psychologicznego, pedagogicznego i prawnego dla rodziców.

Ustawa o wspieraniu rodziny i systemie pieczy zastępczej zobowiązuje powiat do zorganizowania opieki nad dzieckiem, pozbawionym jej ze strony rodziny generacyjnej, poprzez umieszczenie go w rodzinnej czy instytucjonalnej pieczy zastępczej.

Dużą rolę w procesie podejmowanych działań na rzecz poprawy funkcjonowania rodziny po umieszczeniu dziecka w pieczy, będzie miała współpraca pracownika socjalnego, asystenta rodziny i koordynatora rodzinnej pieczy zastępczej. Role tych specjalistów zachodzą na siebie; dzięki wspólnym działaniom, dobrej współpracy pracownicy będą mogli się uzupełniać i zadbać o potrzeby zarówno dziecka, jak i rodziny.

W Miejskim Ośrodku Pomocy Społecznej w Rzeszowie w marcu 2012 roku został powołany Zespół do Spraw Organizacji Pieczy Zastępczej, który realizuje zadania wynikające z wymienionej wyżej ustawy. Podstawowe zadania Zespołu to promowanie rodzicielstwa zastępczego w środowisku lokalnym; prowadzenie naboru, kwalifikowanie i szkolenie kandydatów do prowadzenia rodzinnych form pieczy zastępczej; prowadzenie poradnictwa i terapii dla osób sprawujących rodzinną pieczę zastępczą i ich dzieci oraz dzieci umieszczonych w pieczy zastępczej, zapewnienie pomocy ze strony psychologów, pedagogów. Ponadto ważnym zadaniem wydaje się prowadzenie grup wsparcia dla rodziców zastępczych oraz organizowanie rodzin pomocowych czy wsparcia wolontariuszy polegającego na pomocy w nauce wychowankom umieszczonym w rodzinnych formach pieczy zastępczej, prowadzenie grup socjoterapeutycznych dla wychowanków umieszczanych w pieczy zastępczej i dla dzieci własnych rodziców zastępczych. Kolejne zadania organizatora rodzinnej pieczy zastępczej to współpraca ze środowiskiem lokalnym, ośrodkiem pomocy społecznej, sądami i ich organami pomocniczymi, instytucjami oświatowymi, podmiotami leczniczymi, a także kościołami i organizacjami społecznymi.