

ISSN 2663-0613 (online)



НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
«КИЄВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ»

НАУКОВІ ЗАПИСКИ НаУКМА БІОЛОГІЯ І ЕКОЛОГІЯ

Том 7 ♦ 2024

Науковий рецензований фаховий електронний журнал
Щорічник ♦ Заснований у 1996 р.

nrpbe.ukma.edu.ua

Київ
2024

**Національний університет «Києво-Могилянська академія»
заснував видання «Наукові записки НаУКМА» 1996 року**

«Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія» (англ. *NaUKMA Research Papers. Biology and Ecology*) – науковий рецензований фаховий електронний журнал (категорія «Б») відкритого доступу, який публікує статті з біологічної та екологічної проблематики. Виходить один раз на рік.

Видання проіндексовано в науково-репозитарних базах, наукометричних базах даних та наукових пошукових системах: Наукова періодика України, AGRIS (International System for Agricultural Science and Technology), Baserech (Bielefeld Academic Search Engine), CORE, Crossref, Dimensions, EBSCO Central & Eastern European Academic Source, EBSCO Global Health, Google Scholar, Index Copernicus International, OpenAire Explore, Open Ukrainian Citation Index, Scilit, Sherpa Romeo, Ulrichsweb (Ulrich's periodicals directory) та ін.

Мови видання: українська, англійська

Вебсайт журналу: <http://nrpbe.ukma.edu.ua>

Редакційна колегія

Терновська Тамара Костянтинівна, доктор біологічних наук, професор (НаУКМА),
<https://orcid.org/0000-0002-9712-1516>

головний редактор

Антонюк Максим Зиновійович, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник (НаУКМА),
<https://orcid.org/0000-0002-5877-969X>

відповідальний секретар розділу «Біологія»

Вишеська Ірина Георгіївна, кандидат біологічних наук, доцент (НаУКМА),
<https://orcid.org/0000-0002-2075-5705>

відповідальний секретар розділу «Екологія»

Білько Надія Михайлівна, доктор медичних наук, професор (НаУКМА),
<https://orcid.org/0000-0002-3213-0032>

Верьовка Сергій Вікторович, доктор біологічних наук, професор
(ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка НАМН України»),
<https://orcid.org/0000-0002-3578>

Дідух Яків Петрович, доктор біологічних наук, професор, академік НАН України
(Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України),
<https://orcid.org/0000-0001-7619-0283>

Кравець Олександра Петрівна, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник
(Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України),
<https://orcid.org/0000-0002-4979-5022>

Міхеєв Олександр Миколайович, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник
(Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України),
SCOPUS ID: 35753492600

Сергеева Тетяна Анатоліївна, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, член-кореспондент НАН України
(Інститут молекулярної біології і генетики НАН України),
<https://orcid.org/0000-0003-3486-2701>

Федак Джордж, доктор біологічних наук, головний науковий співробітник
Міністерства сільського господарства і продовольства Канади (Оттава, Канада),
SCOPUS ID: 7003787485

Здійснюється подвійне анонімне рецензування матеріалів

Редакторка і коректорка *Наталія Мінько*
Комп'ютерне верстання *Андрій Шмаркатюк*

Засновник і видавець:
Національний університет
«Києво-Могилянська академія»

Ідентифікатор
у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R40-04345

Адреса редакції:
вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04070
e-mails: antonyuk.m@ukma.edu.ua
vyshenska@ukma.edu.ua
redviddil@ukma.edu.ua

Входить до Переліку наукових фахових видань України,
в яких можуть публікуватися результати дисертаційних
робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук,
кандидата наук та ступеня доктора філософії,
категорія «Б» (наказ Міністерства освіти і науки України
від 28.12.2019 № 1643)

DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.3-15

УДК 57.05:[575.113.22:632.4]

Павлюк Д. В., Терновська Т. К., Антонюк М. З.

Національний університет «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО ЗБУДНИКІВ ЯК РЕЗУЛЬТАТ ВЗАЄМОДІЇ ГЕНІВ

Сучасна інформація щодо геноміки рослин та збудників їхніх захворювань і досягнення молекулярної біології дали змогу констатувати участь продуктів генів, білків, в організації складних молекулярних комплексів, які збираються для реалізації певної ознаки фенотипу. Ознака стійкості/чутливості рослини до певного біотичного чинника цікава ще й тим, що відбувається взаємодія не лише між генами одного організму, а й між генами організмів, які належать до різних царств живого.

Стійкість рослин до патогенів може бути пасивною (забезпечується переважно ознаками морфології рослини) і активною. Активна стійкість формується внаслідок проникнення до рослини збудника або його елісіторів та ефекторів. Активний захист рослини на молекулярному рівні виражається в запуску MAPK-каскаду, накопиченні активних форм кисню, збільшенні потоку йонів кальцію до клітини. Активний захист може реалізовуватися на двох рівнях. Перший рівень, РТІ (PAMP Triggered Immunity), розвивається у відповідь на контакт рослини з широким спектром неадаптованих патогенів. Стійкість (імунітет), що при цьому формується, називають неспецифічною, або горизонтальною, або кількісною. Молекулярним інструментом ініціації захисних реакцій є рецептори PRR (Pattern Recognition Receptors). Адаптовані патогени здатні долати РТІ, надсилаючи в рослинні клітини ефектори. Це білкові молекули, функцією яких є створення всередині клітини умов, більш пермісивних для збудника. Ефектор може розпізнаватися специфічним рецептором рослини NLR (Nod-Like Receptors), і між ними відбувається комплементация. Є інші специфічні рослинні молекули, nonNLR, з іншим типом взаємодії білкових продуктів для розпізнання. В обох випадках розвивається другий рівень захисту, ЕТІ (Effector Triggered Immunity). Перелік молекулярних процесів на другому рівні захисту не відрізняється від переліку першого рівня, проте процеси відбуваються більш інтенсивно і супроводжуються загибеллю вражених клітин. Це перешкоджає подальшому розповсюдженню збудника по рослині. Молекулярні події першого та другого рівнів захисту не є ізольованими. Взаємодію між ними із залученням продуктів рослинних генів і генів збудника описують моделі «zig-zag-zig», «invasion model», інтегрована модель айсберга. Взаємодію рослинних генів для розпізнання ефектора описують моделі «охоронець» і «вловлювач». Для ініціації захисної реакції рослинні рецептори, які можуть іноді диференціюватися на сенсори та хелпери, утворюють білкові комплекси, резистосоми.

Ключові слова: стійкість рослин, рослинні гени стійкості, ефектори патогену, R-Avr взаємодія, резистосома.

Вступ

Взаємодія генів – одне з класичних питань генетики. Теорія взаємодії, формулювання понять, термінологія про взаємодію генів розвивались з часів формальної генетики. Це питання висвітлено в концептуальній літературі 1970–1980-х років.

Якщо порівнювати тексти різних джерел, присвячених взаємодії генів, в очі впадають дві речі: по-перше, для одних і тих самих типів міжгенної взаємодії (а типи взаємодії оцінювались виключно на фенотипному рівні) наводили одні й ті самі приклади, і інших у літературі знайти неможливо;

по-друге, автори текстів оперують одиницями алель гена. Пишуть: алель А (першого гена) впливає на алель В (другого гена) таким чином, що алель А не проявляється. Це – домінантний епістаз. На зміну ері формальної генетики прийшла ера генетики молекулярної, правильніше сказати – ера молекулярної біології. Стало можливим перевести взаємодію між генами в площину фізико-хімічної взаємодії між продуктами їхньої експресії – білками. Це сталося завдяки появі адекватних методів молекулярної біології, які щороку поповнюються. Припущення, що стійкість рослин до збудника, принаймні облігатного біотрофа, формується як результат комплементарної взаємодії генів різних геномів, з'явилося наприкінці 1940-х років, але загальноприйнятим поглядом на формування стійкості у рослин стало набагато пізніше. Ближче до кінця ХХ століття модель взаємодії генів ускладнилась, тому що для розвитку резистентності рослини до збудника взаємодіють гени не лише рослини і патогену, а й власне рослинні гени. І доволі швидко відбувається ускладнення цієї моделі із залученням не лише рослинних генів, що взаємодіють, а й генів патогену. Генетика формування стійкості рослин до патогену виявилась надзвичайно цікавим і багатим на експериментальні приклади полем у генетиці. У нашому огляді ми обмежимося розглядом стійкості рослин лише до облігатних біотрофів. Вважаємо, що накопичення фактичного матеріалу і стійкість одного виду до іншого слід розглядати окремо для різних патогенів і шкідників рослин. Це дасть змогу згодом виявити вузлові моменти на шляху взаємодії генів (їхніх продуктів), якими характеризується формування рослинного імунітету до рослинних патогенів загалом.

Типи стійкості рослин до мікробного збудника

У природних середовищах існування рослини постійно тісно контактують з біогенними стресорами, зокрема з такими мікроорганізмами, як гриби та бактерії. За спільної еволюції рослин і мікроорганізмів сформувалися системи молекулярно-генетичних взаємодій між представниками різних царств, завдяки яким рослина може розвивати фенотип стійкості до збудника/збудників, а патоген – здатність вражати рослину, щоб використати її внутрішньоклітинні ресурси для власної репродукції [1-4].

Серед систем захисту, що їх розвивають рослини, розрізняють системи пасивного та активного захисту. Елементи пасивного захисту – це фізико-хімічні бар'єри, тобто воскова осуга,

клітинна стінка, вторинні метаболіти з різною протимікробною активністю [1,2]. Пасивні механізми стійкості загалом є універсальними для рослин, варіюючи лише залежно від таксономічного статусу виду. Пасивними ці елементи стійкості називають тому, що риси стійкості формуються незалежно від того, чи атакує рослину патоген [3,5].

Активну стійкість, що розвивається як відповідь рослини на контакт із патогеном, поділяють на нехазяйську (non-host resistance), або стійкість широкого спектра, неспецифічну чи горизонтальну стійкість [4,6-8], та хазяйську (host resistance), або расоспецифічну чи вертикальну стійкість [4,9]. Активна стійкість рослин до патогенів розвивається, якщо мікроорганізм(и) розпізнає(ю)ться певними цитоплазматичними або внутрішньоклітинними рецепторами, які в результаті цього активують імунні відповіді рослини [1].

Молекулярне підґрунтя активної стійкості

Патогенний мікроорганізм, потрапляючи до рослини, продукує і виділяє в рослинне середовище (апопласт, клітини) пептиди, різні полісахариди, пептидоглікани, ліпіди, фрагменти нуклеїнових кислот. За походженням вони є зовнішніми для рослини, сприймаються рослиною як чужинні молекули і разом створюють консервативні патоген-асоційовані молекулярні патерни (Pathogen Associated Molecular Patterns, PAMPs), або MAMPs (Microbe Associated Molecular Patterns). Одночасно рослина виділяє в позаклітинне середовище (апопласт) молекули та їхні частини, які утворюються в результаті пошкодження рослинних клітин і для рослини є сигналами небезпеки. Ці молекули формують Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) [10]. Згадані молекулярні патерни розпізнаються рослинними рецепторами PRRs (Pattern Recognition Receptors) [11], і запускається формування PAMP-спрямованого імунітету (PAMP Triggered Immunity, PTI або MTI) [11-13]. PRRs представлені рецептороподібними кіназами (Receptor-Like Kinases, RLKs) та рецептороподібними білками (Receptor-Like Proteins, RLPs). Рослинні RLKs складаються з позаклітинного ектодомену, трансмембранного домену та цитоплазматичного кіназного домену. RLPs на відміну від RLKs кіназного домену не мають [5].

Розпізнавши PAMP, PRRs запускають сигнальний каскад, який активує реакції для забезпечення захисту рослини від патогену, отже, формується PTI (Pathogen Triggered Immunity): MAPK-каскад, викид активних форм кисню (АФК), викид Ca^{2+} . Всі ці молекулярні події є елементами захисної реакції рослини [12,14].

Оксидативний вибух є однією з перших імунних реакцій рослин, він пов'язаний з надчутливою відповіддю [15,16]. АФК є, серед іншого, сигнальною молекулою з антимікробними властивостями [15,17]. Вторинний месенджер кальцій відіграє величезну роль у розвитку реакції рослини на стрес. Широко відоме його значення для апоптозу, він регулює передачу деяких сигналів. Усі перелічені молекулярні події є складовими частинами розвитку системної набутої резистентності (Systemic Acquired Resistance, SAR) [15].

Отже, рослина реагує формуванням РТІ на будь-який патоген. Патогени, які викликають РТІ, називають неадаптованими. На неадаптовані патогени рослина реагує неспецифічною або горизонтальною стійкістю. Патоген має можливість здолати таку стійкість, тоді він отримує статус адаптованого патогену [1]. Для того щоб обійти системи захисту рослин РТІ, адаптовані патогени секретують велику кількість молекул-ефекторів, які спрямовуються до рослини [18]. Ефектори можуть бути позаклітинними, тоді вони просто уникають контакту з PRRs, не розпізнаються і не викликають РТІ з боку рослини на адаптований збудник [19]. Ті ефектори, які потрапляють до клітини, можуть впливати на компоненти імунної системи рослини, долати імунітет і сприяти вразливій реакції. Якщо рослина має гени стійкості до такого збудника і продукти таких генів розпізнають ефектор, розвивається ефектор-асоційований імунітет (Effector Triggered Immunity, ETI) [20].

Для організації захисту від адаптованих патогенів рослини мають внутрішньоклітинні NOD-подібні рецептори (Nod-like receptors, NLR) з нуклеотид-зв'язувальними сайтами та багатьма на лейцинові повтори доменами. Саме ці рецептори, якщо розпізнають ефекторну молекулу, активують ефектор-асоційований імунітет (ETI), який є другим рівнем активного захисту рослин після РТІ. Результатом активації ETI, як і у разі неспецифічної стійкості, є запуск MAPK-каскаду, викид АФК, підвищення рівня Ca^{2+} та зміни гормонального фону [21,22]. Однак ініціація запуску ETI має високоспецифічний характер, розвивається як реакція на адаптованого збудника і часто супроводжується надчутливою відповіддю та програмованою смертю клітин у місцях ураження. Це перешкоджає поширенню інфекції по рослині, тобто відбувається обмеження осередку ураження [23].

Гени рослин, які здатні забезпечувати специфічний захист від одного чи більше штамів патогену, називають генами резистентності

(*R*-генами), або генами вертикальної стійкості. Хоча не всі NLR кодуються *R*-генами, усі вони відіграють роль у стійкості рослин до принаймні одного патогенного організму [12].

Терміни «нехазяйська стійкість» та «хазяйська стійкість», які часто трапляються в літературі, самостійного значення не мають, їх замінюють на терміни «стійкість до неадаптованих збудників – нехазяйська», «стійкість до адаптованих – хазяйська». Нехазяйська стійкість формується рослиною в результаті контакту з представниками всього розмаїття мікробних збудників, які вражають рослину (неспецифічна стійкість), і забезпечується всім спектром молекулярних подій, які вже згадано для неспецифічної стійкості. До того ж додається пасивна стійкість.

Хазяйська стійкість – це стійкість до адаптованих патогенів, забезпечується ETI і легко долається збудником, щойно рецептор рослини перестає розпізнавати ефектор збудника. Тобто стійкість до адаптованих збудників розвивається в результаті взаємодії продуктів генів, один з яких є частиною геному рослини, а інший – частиною геному збудника. Як ефектор, так і рецептор можуть змінитися завдяки відомим генетичним процесам, що розширюють мінливість організму. Крім того, зміна може торкнутися епігенетичного рівня реалізації генетичної інформації, тобто регуляції її експресії. В обох випадках втрачається можливість реакції розпізнання ефектора з боку продукту гена стійкості і рослина стає вразливою.

Нехазяйська стійкість, як і хазяйська, може виражатися як реакція гіперчутливості з формуванням осередку апоптозу. Проте вважають, що надчутлива відповідь у результаті реакції на адаптовані грибні патогени триває довше, ніж на неадаптовані [4]. Саме хазяйська стійкість контролюється здебільшого взаємодією «ген на ген» між *R*-генами та генами авірulentності патогенів (*Avr*-генами), які продукують ефектори [1,24,25].

Будова молекул, що беруть участь в організації стійкості

Молекули з боку рослини. На сьогодні описано принаймні чотири типи молекул, які беруть участь в організації стійкості рослин через активацію механізмів РТІ/ETI. Молекули типу 1 викликають расоспецифічну стійкість, ETI. Вони представлені внутрішньоклітинними імунними рецепторами. По-перше, це NOD-подібні рецептори NLRs з центральним нуклеотид-зв'язувальним доменом (central nucleotide-binding and oligomerization domain, NOD) [5]. Залежно

від структури N-кінця розрізняють рецептори CNLs (зі спіральним доменом coiled-coil, CC), TNLs (з Toll-подібним інтерлейкін-1 N-кінцевим доменом) та з доменом RPW8 – доменом стійкості до борошнистої роси 8 (Resistance to Powdery Mildew 8). Другий спільний для всіх таких рецепторів домен – LRR (Leucine Rich Repeat) на C-кінці. Багатий на лейцинові залишки, мінливий, відповідає за розпізнання ефектора. Нуклеотид-зв'язувальні домени (Nucleotide Binding, NB) разом з доменами APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activation Factor 1), R-доменими та CED-4 доменами (Cell Death Protein 4) формують центральний NB-ARC домен з АТФ-зв'язувальною активністю [26]. Після розпізнання ефектора з боку LRR конформація фосфат-зв'язувальної петлі домену NB-ARC змінюється, АДФ фосфорилується до АТФ та відбувається активація NLR [27]. По-друге, це молекули non-NLR, які містять тандем доменів кінсаза-псевдокінсаза (Tandem Kinase Proteins, ТКР) [25,28]. Такі білки кодуються генами стійкості до борошнистої роси *Pm24* та *WTK4*, геном стійкості до стеблової іржі ячменю *Rpg1* та геном стійкості пшениці до жовтої іржі *Yr15* [29,30].

Типи імунних молекул 2–4 викликають РТІ. Вони розпізнають молекулярні наслідки метаболічної активності патогену в рослині через рецептори PRRs [21]. До молекул типу 2 належать рецептороподібні кінсази (RLKs) та рецептороподібні білки (RLPs). RLKs містять ектодомен (ECD), трансмембранний домен і цитоплазматичний кінсаний домен, а RLPs останнього домену не мають. Ектодомен містить низку доменів (LRR, lysine motifs (LysMs), лектиновий, malectin-like, epidermal growth factor (EGF)-like), які виконують функцію розпізнання РAMP-молекул, зокрема стероїдів, пептидів, полісахаридів, ліпополісахаридів [31].

Імунні молекули типу 3 – це транспортні білки, локалізовані на мембрані. Гени стійкості до борошнистої роси *Pm38* та *Pm46* кодують саме такі молекули [86,87]. Ген *Pm38* кодує транспортер абсцизової кислоти, і її перерозподіл у рослинних клітинах завдяки такому транспортеру сприяє стійкості рослин до різних патогенів [32,33]. Стійкість, що формується завдяки функціонуванню таких транспортерів, як будь-яка стійкість, що розвивається як РТІ, є частковою або кількісною на противагу расоспецифічній стійкості, що супроводжує шлях ЕТІ внаслідок наявності імунних молекул типу 1. Головна перевага такої часткової стійкості полягає в тому, що вона формується до широкого спектра

збудників і тому є вкрай бажаною як генетичний аспект стійкості [5,32].

Імунними молекулами типу 4 визнано продукти генів *Mlo* та *Edr1*. Часткова нерасоспецифічна стійкість, зокрема до борошнистої роси, забезпечується рецесивними алелями вказаних генів із втратою функції [5,34,35]. MLO є мембранним протеїном [36]. Його C-термінальний домен відповідає за зв'язок із кальмодуліном, залежним від катіонів Ca^{2+} . Тобто білок задіяний у певному загальноклітинному сигнальному шляху, реалізація якого виконує роль негативного регулятора стійкості до борошнистої роси [37]. До того ж висунуто припущення, що MLO необхідний для правильного генезису везикул, необхідного для успішного патогенезу [38].

EDR1 (Enhanced Disease Resistance1), цитоплазматична кінсаза (MAPKKK), також є учасником загальноклітинних сигнальних шляхів [39]. В арабідопсису цей білок негативно регулює РТІ через модуляцію з боку імунного комплексу, асоційованого з RLP53 [38]. Крім того, EDR1 прямо зв'язується з PAD4 та EDS1, компонентами ЕТІ, інтерферуючи в такий спосіб їхню участь в ЕТІ і знижуючи резистентність [40].

Молекули з боку збудника. Роль ефекторів виконують ті молекули патогену, які продукуються ним, надсилаються до рослинної клітини і впливають на будову та функції клітини-господаря таким чином, щоб умови існування патогену в цій клітині стали більш пермисивними для патогену [21]. Ефектори поділяють на фактори вірулентності й авірулентності. Фактори вірулентності тільки сприяють розвитку інфекції, а фактори авірулентності (кодуються генами *Avr*) здатні запускати імунну відповідь господаря типу ЕТІ [41].

Головними патогенами рослин є одноклітинні гриби, оомицети та бактерії. Перший ген *Avr* було секвеновано в бактеріальному збуднику *Pseudomonas syringae* у 1980-х роках [42]. Для злаків, що культивуються, основними хворобами є іржа й борошниста роса. Обидві викликаються облігатними біотрофними грибами *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* та *Blumeria (Erysiphe) graminis* f. sp. *tritici* та f. sp. *hordei*, відповідно [23,43]. Хоча інтерес до природи ефекторів цих патогенів був високий, досліджувати ефектори облігатних біотрофів надзвичайно складно. Лише завдяки розробленню нових методів геноміки і генетики вдалося досягти відчутних успіхів у цьому напрямі. Було ідентифіковано ефектори вказаних грибів, секвеновано відповідні гени [44-47]. Ефектори грибних патогенів мають такі характеристики: малий розмір

(63–314 амінокислотних залишків), наявність сигналу секреції, високий рівень гомології до білків гаусторій та високий вміст цистеїну. У межах гена наявні повтори, давно визнані гарячими точками рекомбіногенезу [48].

Найкраще на сьогодні вивчено ефектори збудника борошністої роси, який має один із найбільших серед грибних патогенів геном (150–180 мільйонів пар, транспозони становлять близько 90 % геному) [49]. 844 гени із загальної кількості 8470 генів у геномі *B.g. tritici*, тобто 10 %, кодують ефектори. Між ефектор-кодувальними генами міжгенні ділянки більші, ніж між генами, білкові продукти яких мають інше функціональне призначення. До того ж ці гени часто розташовані в кластерах, багатих на гарячі точки рекомбінації, які мають, як відомо, високий рекомбіногенний (мутагенний) потенціал [47], джерело генетичного поліморфізму. Наразі секвеновано ефектор-кодувальні гени борошністої роси: *AvrPm1a* [50], *AvrPm2* [49], *AvrPm3^{a2/f2}*, *AvrPm3^{b2/c2}*, *AvrPm3^{d3}* [14] та *SvrPm3^{a1/f1}* [51]. *AvrPm1a* має високий рівень гомології з *AvrPm2*, *AvrPm3^{a2/f2}*, *AvrPm3^{b2/c2}* та *AvrPm3^{d3}* [46,47]. Для всіх продуктів цих генів характерна сигнальна послідовність, Y/FxC-мотив на N-кінці та один консервативний цистеїновий залишок біля C-кінця. На N-кінці вони мають також одну α -спіраль та три або чотири β -листи. *AvrPm1a* є більшим за розміром та має другу α -спіраль. *AvrPm3^{a2/f2}* складається зі 130 амінокислотних залишків, зокрема YxC-мотиву та другого цистеїнового залишку на C-кінці. *SvrPm3^{a1/f1}* пригнічує розпізнавання продуктів генів *AvrPm3* відповідними рецепторами господаря. Продукт цього гена має рибонуклеазну активність [24,50,52].

Продукти генів авірулентності *Avr* вважають головними детермінантами взаємодії між рослиною-господарем і грибом, що викликає борошністу росу. Їх об'єднують у групу Candidate Secreted Effector Proteins (CSEPs) [53]. Ефектори секретуються крізь ендоплазматичний ретикулум гриба. Деякі з них залишаються в рослинному апопласті, інші входять до рослинної клітини і спрямовуються до клітинних органел, зокрема до ядра [54]. Білки з високою концентрацією в ізольованих гаусторіях утворюють групу *Blumeria Effector Candidate* (BEC) [55]. За даними [56], набори CSEPs та BECs майже повністю перекриваються.

Серед генів, що кодують CSEPs, на сьогодні виокремлюють дві групи. До першої належать гени, які кодують РНКазоподібні ефектори (RNase-like Effectors) [57], які зв'язуються з імунними рецепторами NLR [14,49,58].

У геномі *Bgt* вже ідентифіковано понад сто таких генів [46,49,50,57,59]. Як приклад можна навести ген *AvrPm2* [49]. Його продукт має дисульфідний місток між консервативними цистеїнами, консервативний Y(x)xC-мотив та мотив з аргініну, неконсервативного залишку, фенілаланіну або тирозину та проліну [49]. Гени другої групи кодують білки, які містять ліпід-розпізнавальний домен зі структурною гомологією до MD2-related lipid-recognition (ML) domain, це ML-like CSEPs [60]. Протеїни з таким доменом зазвичай беруть участь у регуляції метаболізму ліпідів і, як стало відомо, діють як кофактори в процесі розпізнавання патоген-асоційованих ліпідів та перенесення їх крізь клітинну мембрану [61].

У збудника борошністої роси ячменю, *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (*Bgh*), ефектори *Avr^{a10}* та *Avr^{k1}* мають нехарактерну для авірулентних білків будову через відсутність сигнальних послідовностей. Гени цих ефекторів походять від LINE-ретротранспозонів (Long Interspersed Nuclear Elements). З двох притаманних геному LINE-транспозонів відкритих рамок зчитування для генів *Avr^{a10}* та *Avr^{k1}* використано лише першу, що кодує транспозазу. Те, що послідовність двох генів *Avr* різна, свідчить, що вони походять від LINEs різних родин [51]. Цим виразно підкреслюється значення ретротранспозонів для збільшення генетичного поліморфізму геному господаря.

Деякі бактеріальні ефектори функціонують як транскрипційні фактори. Вони належать до TAL (Transcription Activator-Like) родини та мають консервативний центральний ДНК-зв'язувальний домен із тандемних повторів у 34 амінокислоти [62].

Точний механізм доставки ефекторів до апопласту чи рослинних клітин досі не відомий, хоча давно встановлено, що для цього патоген використовує гаусторії або апресори. Можливо, промотором перенесення ефекторів крізь клітинну мембрану є консервативна послідовність HRxxH, яка входить до складу білків [51].

Сиквенс геномів збудників борошністої роси пшениці та ячменю виявив одне й те саме: редукцію генного вмісту геномів порівняно з необлігатними біотрофами серед аскоміцетів та експансію наборів генів, які кодують можливі ефектори [53,63]. Серед усіх досі сиквенованих ефекторів спільним для всіх є лише сигнал для секреції [14,49-52]. Крім нього, білки-ефектори мають мало рис подібності, поки що знайдено лише один спільний мотив, YxC [64]. Це підтверджує припущення, що білки-ефектори мають серед рослинних білків різні цілі взаємодії та як ефектори реалізують різні функції [63,64].

Значний поліморфізм генних послідовностей спостерігається навіть на популяційному рівні, що прямо вказує на незалежну еволюцію різних алелів ефекторних генів із застосуванням різних молекулярних механізмів [14,50,52,59,65,66].

Взаємодія генів для організації стійкості

Взаємодія генів рослини і патогену. Розвиток будь-якої стійкості до патогену завжди відбувається як результат взаємодії кількох генів на рівні їхніх продуктів. Передовсім ідеться про міжорганізмову взаємодію генів, коли один ген із пари перебуває в геномі рослини, а другий – у геномі збудника.

У класичній, запропонованій Гарольдом Флором ще в 1940-ві роки, моделі «ген на ген», яка описує взаємодію рослини та патогену, реакція стійкості є наслідком розпізнання ефектора патогену рецептором господаря [67]. І хоча алелі *R* (рецептор розпізнає ефектор) та *Avr* (ефектор розпізнається рецептором) є домінантними, взаємодія рослина–патоген за умови гетерозиготності організмів за цими генами дає один випадок стійкості на три випадки чутливості, тому що стійкість розвивається тільки у разі поєднання продуктів алелів *R* та *Avr*. А три інші поєднання алелів (*R-avr*; *r-Avr*; *r-avr*) викликають реакцію чутливості.

Гіпотеза Флора «ген на ген» описувала безпосередню взаємодію між продуктами рослинного та мікробного генів: ліганд, який є продуктом гена *Avr*, приєднується до рецептора, продукту гена *R*, у результаті чого розвивається реакція стійкості. Таку стійкість було успішно описано для десятків пар господар–патоген, особливо коли збудником є гриби, переважно біотрофні [68]. На межі XX–XXI століть з'явилися більш складні моделі взаємодії генів рослини і збудника: модель «охоронця» (*guard*) і модель «уловлювача» (*decoy*). Модель «охоронця» описує механізм непрямого розпізнавання ефекторів продуктами *R*-генів. Тобто розпізнається не сам ефектор, а продукт його функціонування. У ролі «охоронця» постає продукт гена *R* [68]. Ефективність цієї моделі порівняно з попередньою виявляється у двох аспектах. По-перше, продукт гена *R* може розпізнавати різні цілі (молекули), за умови, що вони є продуктами функціонування ефектора. По-друге, зміна ефектор-кодувальної послідовності внаслідок мутації, яка не призводить до втрати функціональної активності ефектора, не є ефективною щодо втрати комплементарності до ефектора продукту гена *R*, тому що розпізнається не продукт гена *Avr* (ефектора), а продукти його функціонування. Наприклад,

ефектор *Pseudomonas syringae AvrPphB* є білком із протеазною активністю. Він розщеплює протеїназу *PBSI Arabidopsis thaliana*, господаря для цього патогену. Продукт гена стійкості *RPS5*, для якого *AvrPphB* є ефектором, розпізнає розщеплення протеїнази, а не саму молекулу ефектора. Тобто ефектор може змінитися внаслідок якоїсь мутації, однак, якщо протеаза залишиться функціонально спроможною, продукти її діяльності будуть розпізнані продуктом гена стійкості і системи захисту активуються [69].

Модель «уловлювача» полягає в тому, що продукт гена *Avr* стає ефектором лише в тому разі, якщо рослина-господар має ген *R* і транскрибує продукт *R* для розпізнання ефектора [70]. Ефектор зв'язується з непрямою ціллю, тобто не з продуктом гена *R*. Якщо гена *R* в геномі немає, таке зв'язування не ініціює імунну реакцію. Якщо ген *R* є, зв'язування ефектора з уловлювачем активує продукт гена стійкості і розвивається імунна реакція [71]. Пізніше було запропоновано інтегровану модель «уловлювача», яка детально пояснювала роль кожного її компонента без введення в неї нових гравців [72,73].

Встановлення молекулярної картини розвитку реакції стійкості і розділення її на нехазяйську та хазяйську спочатку виділило два етапи утворення імунітету: спочатку РТІ за рахунок РАРМ (або МАРМ, або ДАРМ), потім ЕТІ, якщо залучається ефектор [74]. Ці етапи тільки спочатку розглядали як більш-менш самостійні й послідовні. З'ясування молекулярних процесів, які забезпечують формування двох етапів імунітету, одразу виявило взаємопроникність цих процесів для реалізації РТІ та ЕТІ. Подальший крок у розумінні молекулярної картини розвитку імунітету – констатація того, що розділення імунітету на РТІ та ЕТІ не є строгим, етапи перетинаються [75,76]. Ця взаємодія стала основою для створення широко відомої моделі «zig-zag-zig», яка описувала розвиток стійкості в чотири фази [21]: 1 – рослина реалізує РТІ через PRRs; 2 – якщо патоген може кодувати специфічний ефектор, патоген долає РТІ; 3 – якщо ефектор розпізнається рослинними білками NLR, активується ЕТІ, яка на клітинно-молекулярному рівні розглядається як ампліфікована версія РТІ, яка призводить до реакції гіперчутливості з боку уражених клітин; 4 – серед розмаїття рас патогену добираються такі, які не кодують специфічний рецептор, і стійкість рослини знову може забезпечуватися лише на рівні РТІ. Добір стосується також алелів *NLR*-генів для збереження в популяції таких, які розпізнають новий ефектор.

PTI (MTI) та ETI містять багато спільних компонентів [74]. Тому на заміну zig-zag-zig-моделі було сформовано більш інтегровану модель, invasion model. У цій моделі перейменовуються гравці, і вже через це межі між PTI та ETI стираються. Імуногенні молекули, ефектори та еліситори MAMPs, які створюють картину інвазії (invasion patterns), називають IPs. Молекули, які розпізнають IPs, названо IP-рецепторами (IPRs). Взаємодія IPs та IPRs призводить до формування IPTR (IP-triggered response, IPTR) [75].

Коли в руки дослідників потрапили результати секвенування численних геномів рослин, було сформовано найсучаснішу модель – модель айсберга (iceberg model). Хоча, на нашу думку, цю модель сформовано трошки в іншій площині і вона не заміняє попередню модель. За моделлю айсберга молекулярні умови, за якими розвивається стійкість або чутливість рослини, моніторяться з боку NLRs і встановлюється певна рівновага між молекулярними гравцями щодо можливості забезпечити захист рослини від патогену або залишити її чутливою. Цих молекул – учасників процесу захисту – багато, вони становлять більшу, невидиму частину айсберга. Частина є невидимою, тому що ми не бачимо результату – стійкість/чутливість. Результат визначає менша частина айсберга, яка складається з молекул, між якими рівновага не встановлюється. Залежно від конкретного складу може розвинути реакція або захисту, або чутливості. Важливо те, що результат «стійкість» може визначатися продуктами однієї-єдиної пари ефектор-рецептор (вертикальна стійкість, якісна). Такі пари називають інтерактивними одиницями, або одиницями взаємодії (interaction units) [77]. Звісно, для організації стійкості широкого спектра асортимент критичних молекул розширюється, одиниць взаємодії стає більше, проте специфічність взаємодії втрачається і результат кількісно виражений слабше (горизонтальна стійкість, кількісна).

Сучасне ускладнення моделі «ген-на-ген» відбувається не лише через те, що у взаємодії з боку рослини беруть участь кілька генів замість одного. З'ясовано, що з боку патогену кількість генів, залучених до реалізації вірулентності, також не обмежується одним для конкретного випадку господар-патоген. В облігатному біотрофові *Blumeria graminis* ідентифіковано гени-супресори авірулентності, *SvrPm*. Продукти таких генів супресують розпізнання специфічного ефектора з боку відповідного гена стійкості рослини. Стійкість до патогену розвивається

лише за наявності рецесивного алеля супресорного гена [51].

Взаємодія рослинних генів. Тривалий період часу обговорення питання про взаємодію генів у разі розгортання імунної відповіді рослини на прониклий до неї патоген стосувалося лише взаємодії між генами рослини і генами патогену. Ретельне вивчення всього розмаїття рослинних імунних рецепторів, яке спостерігається останні 20 років, вивело на перший план взаємодію саме рослинних генів між собою для організації імунної відповіді.

Спочатку було встановлено, що NLR-кодуювальні гени є найбільш численними і різноманітними в геномі рослин [79,80]. Далі було з'ясовано, що серед продуктів PRRs є рецептороподібні кінази RLK та рецептороподібні протеїни RLP. Останні на відміну від перших можуть тільки розпізнати PAMP, а для передачі сигналу далі для активації необхідного сигнального шляху їм потрібен білок-посередник. Тобто структура молекули RLP робить її функціонально залежною від іншого білка і змушує працювати у взаємодії з ним [81]. Цитоплазматичні імунні рецептори NLR як мультидоменні білки походять, як припускають, від однодоменних рецепторів поверхні клітин із розпізнавальним доменом та внутрішньоклітинних рецепторів із сайт-зв'язувальним доменом NB та специфічним N-кінцем, який спеціалізується на передачі сигналу [82]. Таким чином мультидоменні рецептори NLR стали функціонально спроможними для реалізації захисту у відповідь на проникнення патогену або його ефекторів всередину клітини.

Нарешті було виявлено, що тільки частина рецепторів NLR працюють як індивідуальні генетичні та функціональні одиниці. Гени, які кодують такі рецептори, називають «singleton» [83]. Добре вивченим прикладом такого рецептора є CC-NLRs ZAR1 в арабідопсису [84] та Sr35 [85] у пшениці. ZAR1 розпізнає відповідні ефектори за моделлю «охоронець» або «влловлювач» із використанням як рецептора RLCKs (Receptor-like cytoplasmic kinases) [86]. Більша ж частина імунних рецепторів утворює функціональну пару сенсор (sensor NLR, відчуває наявність патогену) – виконавець (helper NLR, реалізує сигналювання для ініціювання імунної реакції). Наприклад, для грибного захворювання рису (збудник *Magnaporthe oryzae*) Pik-1 є сенсором, Pik-2 – хелпером [87].

Крім двокомпонентних (один сенсор – один хелпер) асоціацій, існують багатокомпонентні асоціації (networks) різних типів: багато-один, один-багато, де на першому місці стоїть сенсор, на другому – хелпер [88-90].

Приклад множини сенсорів для одного хелпера описано для Solanaceae: NLR-хелпер активується, якщо отримує сигнал від асоціації кількох сенсорних NLRs та ще одного поверхневого рецептора. Розвивається імунна реакція широкого спектра на гриби, ооміцети, віруси та бактерії, нематод і комах [88,91]. Протилежна ситуація: NLR-сенсор передає сигнал лише за умови об'єднання кількох хелперів. Це показано для арабідопсису та *Nicotiana benthamiana* [92-94]. Встановлено, що NLRs в активному і неактивному стані перебувають у різній внутрішньоклітинній локалізації [95,96], тому що від цього залежить їхня можливість контактувати як з ефектором збудника, так і з допоміжними молекулами («охоронець», «уловлювач») господаря [97-99]. Ба більше, зміна локалізації з цитоплазматичної на мембрано-асоційовану характерна також і для поодиноких (singleton) NLRs, тому таку зміну внутрішньоклітинної локалізації NLRs розглядають тепер як їхню суттєву особливість [100].

Активовані ефекторами (пряма активація) або продуктами їхнього функціонування (непряма активація) NLRs олігомеризуються і беруть участь у створенні великих протеїнових комплексів, які у рослин називають резистосомами [84,101-103]. Олігомеризація опосередковується NOD-доменами після активації рецепторів. Наразі задокументовано формування пентамерних резистосом за участю CNL [85] та тетрамерних резистосом за участю TNL [104]. Якщо NLRs діють парю сенсор-хелпер, в утворенні резистосом беруть участь і сенсор, і хелпер [102]. Формується тунелоподібна структура, яка переміщується на плазматичну мембрану, інтегрує в неї та функціонує як Ca^{2+} -прониклий канал, через який йони кальцію надходять до клітини. Тоді починається розвиток гіперчутливої реакції і смерть клітини. У разі рецепторів TNL тетрамеризація приводить до формування двох активних сайтів у TIR-доменах TNL-резистосом [104,105], які діють як голоферменти NADази і каталізують продукування вторинних месенджерів, pRib-AMP/ADP та di-ADPR/ADPr-ATP. Через деякі проміжні молекули дія тетрамерної резистосоми все одно завершується активуванням кальцієвих каналів [102]. Резистосоми

формуються не лише на шляху ЕТІ, а й на шляху РТІ [106]. Різниця між цими рівнями формування імунітету виявляється на рівні дії резистосом.

Висновки

1. Стійкість рослин до патогенів буває пасивною та активною. Нехазяйська активна стійкість формується до широкого спектра збудників, які є неадаптованими патогенами. Хазяйська активна стійкість розвивається до адаптованих патогенів, її називають расоспецифічною. Порівняно з нехазяйською стійкістю дає більш виразний захисний ефект, але легко долається патогеном завдяки добору вірулентних рас патогену.

2. Рослинний імунітет реалізується у два етапи (рівні). Перший рівень, РТЕ, передбачає розпізнавання PAMPs, що створюється неадаптованими патогенами, з боку рослинних рецепторів PRRs. Це ініціює молекулярні процеси, які забезпечують стійкість рослини: MAPK-каскад, викид Ca^{2+} та АФК.

3. Адаптовані патогени надсилають у рослинні клітини ефектори, які здатні пригнічувати імунну відповідь рослин РТІ. Ефектори можуть розпізнаватися рослинними рецепторами NLRs, запускаючи тим самим другий рівень захисту – ЕТІ, результатом чого є ті самі молекулярні процеси, які відбуваються на першому рівні захисту. Вони відбуваються набагато ефективніше і призводять до реакції гіперчутливості і смерті клітин, у які проникли ефектори збудника.

4. Рівні захисту РТІ та ЕТІ не є ізольованими. Взаємодія між ними відбувається із залученням продуктів рослинних генів і генів геному збудника, її описують моделі «zig-zag-zig», «invasion model», а також інтегрована модель айсберга.

5. Взаємодію рослинних генів для організації реакції розпізнавання ефектора описують моделі «охоронець» і «уловлювач». Наступний рівень взаємодії відбувається, якщо функція розпізнавання ефектора та функція промоції захисних реакцій належать різним рецепторам, сенсору та хелперу. Для запуску каскаду молекулярних процесів, які ведуть до формування стійкості рослини до збудника, рослинні рецептори утворюють складні молекулярні комплекси, резистосоми.

References

- Oh S, Choi D. Receptor-mediated nonhost resistance in plants. *Essays in Biochemistry*. 2022 Apr 7. doi:10.1042/ebc20210080
- He DC, He MH, Amalin DM, Liu W, Alvindia DG, et al. Biological Control of Plant Diseases: An Evolutionary and Eco-Economic Consideration. *Pathogens*. 2021 Oct 12;10(10):1311. doi:10.3390/pathogens10101311
- Pélissier R, Violle C, Morel JB. Plant immunity: Good fences make good neighbors? *Curr Opin Plant Biol*. 2021 Aug;62:102045. doi:10.1016/j.pbi.2021.102045
- Gill US, Lee S, Mysore KS. Host Versus Nonhost Resistance: Distinct Wars with Similar Armies. *Phytopathology*. 2015 May;105(5):580-7. doi:10.1094/phyto-11-14-0298-rv
- Sánchez-Martín J, Keller B. NLR immune receptors and diverse types of non-NLR proteins control race-specific resistance in Triticeae. *Current Opinion in Plant Biology*. 2021 Aug 1;62:102053-3. doi:10.1016/j.pbi.2021.102053
- Wu Y, Sexton W, Yang B, Xiao S. Genetic approaches to dissect plant nonhost resistance mechanisms. *Molecular plant pathology*. 2023 Jan 8;24(3):272-83. doi:10.1111/mpp.13290
- Heath MC. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. *Curr Opin Plant Biol*. 2000 Aug;3(4):315-9. doi:10.1016/s1369-5266(00)00087-x
- Nürnberg T, Lipka V. Non-host resistance in plants: new insights into an old phenomenon. *Mol Plant Pathol*. 2005 May 1;6(3):335-45. doi:10.1111/j.1364-3703.2005.00279.x
- Mysore KS, Ryu CM. Nonhost resistance: how much do we know? *Trends Plant Sci*. 2004 Feb;9(2):97-104. doi:10.1016/j.tplants.2003.12.005
- Choi HW, Klessig DF. DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity. *BMC Plant Biol*. 2016 Oct 26;16(1):232. doi:10.1186/s12870-016-0921-2
- Lu Y, Tsuda K. Intimate Association of PRR- and NLR-Mediated Signaling in Plant Immunity. *Mol Plant Microbe Interact*. 2021 Jan;34(1):3-14. doi:10.1094/MPMI-08-20-0239-IA. Epub 2020 Dec 2.
- Thordal-Christensen H. A holistic view on plant effector-triggered immunity presented as an iceberg model. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020 Apr 10;77(20):3963-76. doi:10.1007/s00018-020-03515-w
- Bigeard J, Colcombet J, Hirt H. Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol Plant*. 2015 Apr;8(4):521-39. doi:10.1016/j.molp.2014.12.022
- Bourras S, McNally KE, Ben-David R, Parlange F, Roffler S, et al. Multiple Avirulence Loci and Allele-Specific Effector Recognition Control the Pm3 Race-Specific Resistance of Wheat to Powdery Mildew. *The Plant Cell*. 2015 Oct 9;27:1500-1511. doi:10.1105/tpc.15.00171
- Guo J, Cheng Y. Advances in Fungal Elicitor-Triggered Plant Immunity. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 9;23(19):12003. doi:10.3390/ijms231912003
- de Wit, PJGM. How plants recognize pathogens and defend themselves. *Cell. Mol. Life. Sci*. 2007, 64, 2726-32. doi:10.1007/s00018-007-7284-7
- Fang Y, Gu Y. Regulation of Plant Immunity by Nuclear Membrane-Associated Mechanisms. *Front Immunol*. 2021 Dec 6;12:771065. doi:10.3389/fimmu.2021.771065
- Dodds PN, Rathjen JP. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat Rev Genet*. 2010 Aug;11(8):539-48. doi:10.1038/nrg2812
- Irieda H, Inoue Y, Mori M, Yamada K, Oshikawa Y, et al. Conserved fungal effector suppresses PAMP-triggered immunity by targeting plant immune kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Jan 8;116(2):496-505. doi:10.1073/pnas.1807297116
- Cui H, Tsuda K, Parker JE. Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. *Annu Rev Plant Biol*. 2015;66:487-511. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-040012
- Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*. 2006 Nov 16;444(7117):323-9. doi:10.1038/nature05286
- Couto D, Zipfel C. Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. *Nat Rev Immunol*. 2016 Sep;16(9):537-52. doi:10.1038/nri.2016.77
- Figueroa M, Ortiz D, Henningsen EC. Tactics of host manipulation by intracellular effectors from plant pathogenic fungi. *Curr Opin Plant Biol*. 2021 Aug;62:102054. doi:10.1016/j.pbi.2021.102054
- Mapuranga J, Chang J, Yang W. Combating powdery mildew: Advances in molecular interactions between *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and wheat. *Frontiers in Plant Science*. 2022 Dec 16;13. doi:10.3389/fpls.2022.1102908
- Dolatbadian A, Fernando WGD. Genomic Variations and Mutational Events Associated with Plant-Pathogen Interactions. *Biology (Basel)*. 2022 Mar 10;11(3):421. doi:10.3390/biology11030421
- Ngou BPM, Ding P, Jones JDG. Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system. *Plant Cell*. 2022 Apr 26;34(5):1447-78. doi:10.1093/plcell/koac041
- Zou S, Xu Y, Li Q, Wei Y, Zhang Y, et al. Wheat powdery mildew resistance: from gene identification to immunity deployment. *Front Plant Sci*. 2023 Sep 18;14:1269498. doi:10.3389/fpls.2023.1269498
- Lu P, Guo L, Wang Z, Li B, Li J, et al. A rare gain of function mutation in a wheat tandem kinase confers resistance to powdery mildew. *Nat Commun*. 2020 Feb 3;11(1):680. doi:10.1038/s41467-020-14294-0
- Brueggeman R, Rostoks N, Kudrna D, Kilian A, Han F, et al. The barley stem rust-resistance gene Rpg1 is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Jul 9;99(14):9328-33. doi:10.1073/pnas.142284999
- Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, et al. Cloning of the wheat Yr15 resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family. *Nat Commun*. 2018 Oct 3;9(1):3735. doi:10.1038/s41467-018-06138-9
- Tang D, Wang G, Zhou JM. Receptor Kinases in Plant-Pathogen Interactions: More Than Pattern Recognition. *Plant Cell*. 2017 Apr;29(4):618-37. doi:10.1105/tpc.16.00891
- Krattinger SG, Lagudah ES, Spielmeier W, Singh RP, Huerta-Espino J, et al. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science*. 2009 Mar 6;323(5919):1360-3. doi:10.1126/science.1166453
- Moore JW, Herrera-Foessel S, Lan C, Schnippenkoetter W, Ayliffe M, et al. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. *Nat Genet*. 2015 Dec;47(12):1494-8. doi:10.1038/ng.3439
- Wang Y, Cheng X, Shan Q, Zhang Y, Liu J, et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotechnol*. 2014 Sep;32(9):947-51. doi:10.1038/nbt.2969
- Zhang Y, Bai Y, Wu G, Zou S, Chen Y, et al. Simultaneous modification of three homoeologs of TaEDR1 by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. *Plant J*. 2017 Aug;91(4):714-24. doi:10.1111/tpj.13599
- Büschges R, Hollricher K, Panstruga R, Simons G, Wolter M, et al. The barley Mlo gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*. 1997 Mar 7;88(5):695-705. doi:10.1016/s0092-8674(00)81912-1
- Kusch S, Panstruga R. *mlo*-Based Resistance: An Apparently Universal "Weapon" to Defeat Powdery Mildew Disease. *Mol Plant Microbe Interact*. 2017 Mar;30(3):179-89. doi:10.1094/MPMI-12-16-0255-CR
- Chen R, Sun P, Zhong G, Wang W, Tang D. The RECEPTOR-LIKE PROTEIN53 immune complex associates with LLG1 to positively regulate plant immunity. *J Integr Plant Biol*. 2022 Sep;64(9):1833-46. doi:10.1111/jipb.13327

39. Frye CA, Tang D, Innes RW. Negative regulation of defense responses in plants by a conserved MAPKK kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Jan 2;98(1):373-8. doi:10.1073/pnas.98.1.373
40. Neubauer M, Serrano I, Rodibaugh N, Bhandari DD, Bautor J, et al. *Arabidopsis* EDR1 Protein Kinase Regulates the Association of EDS1 and PAD4 to Inhibit Cell Death. *Mol Plant Microbe Interact*. 2020 Apr;33(4):693-703. doi:10.1094/MPMI-12-19-0339-R
41. Schmidt SM, Panstruga R. Pathogenomics of fungal plant parasites: what have we learnt about pathogenesis? *Curr Opin Plant Biol*. 2011 Aug;14(4):392-9. doi:10.1016/j.pbi.2011.03.006
42. Staskawicz BJ, Dahlbeck D, Keen NT. Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* (L.) Merr. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984 Oct;81(19):6024-8. doi:10.1073/pnas.81.19.6024
43. Takamatsu S. Origin and evolution of the powdery mildews (Ascomycota, Erysiphales). *Mycoscience* 2013;54(1):75-86. doi:10.1016/j.myc.2012.08.004
44. Chen J, Upadhyaya NM, Ortiz D, Sperschneider J, Li F, et al. Loss of *AvrSr50* by somatic exchange in stem rust leads to virulence for *Sr50* resistance in wheat. *Science*. 2017 Dec 22; 358(6370):1607-10. doi:10.1126/science.aao4810
45. Upadhyaya NM, Mago R, Panwar V, Hewitt T, Luo M, et al. Genomics accelerated isolation of a new stem rust avirulence gene-wheat resistance gene pair. *Nat Plants*. 2021 Sep;7(9):1220-28. doi:10.1038/s41477-021-00971-5
46. Saur IM, Bauer S, Kracher B, Lu X, Franzeskakis L, et al. Multiple pairs of allelic MLA immune receptor-powdery mildew AVR_A effectors argue for a direct recognition mechanism. *Elife*. 2019 Feb 19;8:e44471. doi:10.7554/eLife.44471
47. Müller MC, Praz CR, Sotiropoulos AG, Menardo F, Kunz L, et al. A chromosome-scale genome assembly reveals a highly dynamic effector repertoire of wheat powdery mildew. *New Phytol*. 2019 Mar;221(4):2176-89. doi:10.1111/nph.15529
48. Selin C, de Kievit TR, Belmonte MF, Fernando WGD. Elucidating the Role of Effectors in Plant-Fungal Interactions: Progress and Challenges. *Frontiers in Microbiology*. 2016 Apr 27;7. doi:10.3389/fmicb.2016.00600
49. Praz CR, Bourras S, Zeng F, Sánchez-Martín J, Menardo F, et al. *AvrPm2* encodes an RNase-like avirulence effector which is conserved in the two different specialized forms of wheat and rye powdery mildew fungus. *New Phytologist*. 2016 Dec 9; 213(3):1301-14. doi:10.1111/nph.14372
50. Hewitt T, Müller MC, Molnár I, Mascher M, Holušová K, et al. A highly differentiated region of wheat chromosome 7AL encodes a *Pmla* immune receptor that recognizes its corresponding *AvrPmla* effector from *Blumeria graminis*. *New Phytol*. 2021 Mar;229(5):2812-26. doi:10.1111/nph.17075
51. Bourras S, McNally KE, Müller MC, Wicker T, Keller B. Avirulence Genes in Cereal Powdery Mildews: The Gene-for-Gene Hypothesis 2.0. *Frontiers in Plant Science*. 2016 Mar 1;7. doi:10.3389/fpls.2016.00241
52. Bourras S, Kunz L, Xue M, Praz CR, Müller MC, et al. The AvrPm3-Pm3 effector-NLR interactions control both race-specific resistance and host-specificity of cereal mildews on wheat. *Nature Communications*. 2019 May 23;10(1):2292. doi:10.1038/s41467-019-10274-1
53. Spanu PD, Abbott JC, Amselem J, Burgis TA, Soanes DM, et al. Genome expansion and gene loss in powdery mildew fungi reveal tradeoffs in extreme parasitism. *Science*. 2010 Dec 10; 330(6010):1543-6. doi:10.1126/science.1194573
54. Koeck M, Hardham AR, Dodds PN. The role of effectors of biotrophic and hemibiotrophic fungi in infection. *Cell Microbiol*. 2011 Dec;13(12):1849-57. doi:10.1111/j.1462-5822.2011.01665.x
55. Bindschedler LV, McGuffin LJ, Burgis TA, Spanu PD, Cramer R. Proteogenomics and *in silico* structural and functional annotation of the barley powdery mildew *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *Methods*. 2011 Aug;54(4):432-41. doi:10.1016/j.ymeth.2011.03.006
56. Bindschedler LV, Panstruga R, Spanu PD. Mildew-Omics: How Global Analyses Aid the Understanding of Life and Evolution of Powdery Mildews. *Front Plant Sci*. 2016 Feb 15;7:123. doi:10.3389/fpls.2016.00123
57. Spanu PD. Cereal immunity against powdery mildews targets RNase-Like Proteins associated with Haustoria (RALPH) effectors evolved from a common ancestral gene. *New Phytol*. 2017 Feb;213(3):969-71. doi:10.1111/nph.14386
58. Parlange F, Roffler S, Menardo F, Ben-David R, Bourras S, et al. Genetic and molecular characterization of a locus involved in avirulence of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* on wheat *Pm3* resistance alleles. *Fungal Genet Biol*. 2015 Sep;82:181-92. doi:10.1016/j.fgb.2015.06.009
59. Müller MC, Kunz L, Schudel S, Lawson AW, Kammerecker S, et al. Ancient variation of the *AvrPm17* gene in powdery mildew limits the effectiveness of the introgressed rye *Pm17* resistance gene in wheat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022 Jul 26; 119(30):e2108808119. doi:10.1073/pnas.2108808119
60. Inohara N, Nuñez G. ML – a conserved domain involved in innate immunity and lipid metabolism. *Trends Biochem Sci*. 2002 May;27(5):219-21. doi:10.1016/s0968-0004(02)02084-4
61. Menardo F, Praz CR, Wicker T, Keller B. Rapid turnover of effectors in grass powdery mildew (*Blumeria graminis*). *BMC Evol Biol*. 2017 Oct 31;17(1):223. doi:10.1186/s12862-017-1064-2
62. Scholze H, Boch J. TAL effector-DNA specificity. *Virulence*. 2010 Sep;1(5):428-32. doi:10.4161/viru.1.5.12863
63. Wicker T, Oberhaensli S, Parlange F, Buchmann JP, Shatalina M, et al. The wheat powdery mildew genome shows the unique evolution of an obligate biotroph. *Nat Genet*. 2013 Sep; 45(9):1092-6. doi:10.1038/ng.2704
64. Pedersen C, Ver Loren van Themaat E, McGuffin LJ, Abbott JC, Burgis TA, et al. Structure and evolution of barley powdery mildew effector candidates. *BMC Genomics*. 2012 Dec 11; 13:694. doi:10.1186/1471-2164-13-694
65. Miller ME, Nazareno ES, Rottschaefer SM, Riddle J, Dos Santos Pereira D, et al. Increased virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* populations through allele frequency changes at multiple putative Avr loci. *PLoS Genet*. 2020 Dec 28;16(12):e1009291. doi:10.1371/journal.pgen.1009291
66. Pliego C, Nowara D, Bonciani G, Gheorghie DM, Xu R, et al. Host-induced gene silencing in barley powdery mildew reveals a class of ribonuclease-like effectors. *Mol Plant Microbe Interact*. 2013 Jun;26(6):633-42. doi:10.1094/MPMI-01-13-0005-R
67. Flor, H. H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu. Rev. Phytopathol*. 9:275-96.
68. Dangl JL, Jones JD. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*. 2001 Jun 14;411(6839):826-33. doi:10.1038/35081161
69. Schornack S, Meyer A, Römer P, Jordan T, Lahaye T. Gene-for-gene-mediated recognition of nuclear-targeted AvrBs3-like bacterial effector proteins. *Journal of Plant Physiology*. 2006 Feb 10;163(3):256-72. doi:10.1016/j.jplph.2005.12.001
70. Bent AF, Mackey D. Elicitors, Effectors, and RGenes: The New Paradigm and a Lifetime Supply of Questions. *Annual Review of Phytopathology*. 2007 Sep 8;45(1):399-436. doi:10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427
71. van der Hoorn RA, Kamoun S. From Guard to Decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell*. 2008 Aug;20(8):2009-17. doi:10.1105/tpc.108.060194
72. Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, Kroj T, Dodds PN. A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: the “integrated decoy” hypothesis. *Front Plant Sci*. 2014 Nov 25; 5:606. doi:10.3389/fpls.2014.00606
73. Kroj T, Chanclud E, Michel-Romiti C, Grand X, Morel JB. Integration of decoy domains derived from protein targets of pathogen effectors into plant immune receptors is widespread. *New Phytol*. 2016 Apr;210(2):618-26. doi:10.1111/nph.13869

74. Todd JNA, Carreón-Anguiano KG, Islas-Flores I, Canto-Canché B. Fungal Effectoromics: A World in Constant Evolution. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 3;23(21):13433. doi:10.3390/ijms232113433
75. Cook DE, Mesarich CH, Thomma BP. Understanding plant immunity as a surveillance system to detect invasion. *Annu Rev Phytopathol*. 2015;53:541-63. doi:10.1146/annurev-phyto-080614-120114
76. Yuan M, Jiang Z, Bi G, Nomura K, Liu M, et al. Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nature*. 2021 Apr;592(7852):105-109. doi:10.1038/s41586-021-03316-6
77. Thordal-Christensen H. A holistic view on plant effector-triggered immunity presented as an iceberg model. *Cell Mol Life Sci*. 2020 Oct;77(20):3963-76. doi:10.1007/s00018-020-03515-w
78. Geng S, Kong X, Song G, Jia M, Guan J, et al. DNA methylation dynamics during the interaction of wheat progenitor *Aegilops tauschii* with the obligate biotrophic fungus *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. *New Phytologist*. 2018 Sep 6;221(2):1023-35. doi:10.1111/nph.15432
79. Baggs E, Dagdas G, Krasileva KV. NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. *Curr Opin Plant Biol*. 2017 Aug;38:59-67. doi:10.1016/j.pbi.2017.04.012
80. Barragan AC, Weigel D. Plant NLR diversity: the known unknowns of pan-NLRomes. *Plant Cell*. 2021 May 31;33(4):814-31. doi:10.1093/plcell/koaa002
81. Jamieson PA, Shan L, He P. Plant cell surface molecular cypher: Receptor-like proteins and their roles in immunity and development. *Plant Sci*. 2018 Sep;274:242-51. doi:10.1016/j.plantsci.2018.05.030
82. Andolfo G, Di Donato A, Chiaiese P, De Natale A, Pollio A, et al. Alien Domains Shaped the Modular Structure of Plant NLR Proteins. *Genome Biol Evol*. 2019 Dec 1;11(12):3466-77. doi:10.1093/gbe/evz248
83. Contreras MP, Lüdke D, Pai H, Toghani A, Kamoun S. NLR receptors in plant immunity: making sense of the alphabet soup. *EMBO Rep*. 2023 Oct 9;24(10):e57495. doi:10.15252/embr.202357495
84. Wang J, Hu M, Wang J, Qi J, Han Z, et al. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science*. 2019 Apr 5;364(6435):eaav5870. doi:10.1126/science.aav5870
85. Zhao YB, Liu MX, Chen TT, Ma X, Li ZK, et al. Pathogen effector AvrSr35 triggers Sr35 resistosome assembly via a direct recognition mechanism. *Sci Adv*. 2022 Sep 9;8(36):eabq5108. doi:10.1126/sciadv.abq5108
86. Hailemariam S, Liao CJ, Mengiste T. Receptor-like cytoplasmic kinases: orchestrating plant cellular communication. *Trends Plant Sci*. 2024 May 29;S1360-1385(24)00111-0. doi:10.1016/j.tplants.2024.04.006
87. Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, Stevenson CE, Uemura A, et al. Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *Elife*. 2015 Aug 25;4:e08709. doi:10.7554/eLife.08709
88. Wu CH, Abd-El-Halim A, Bozkurt TO, Belhaj K, Terauchi R, et al. NLR network mediates immunity to diverse plant pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Jul 25;114(30):8113-18. doi:10.1073/pnas.1702041114
89. Adachi H, Derevnina L, Kamoun S. NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants. *Curr Opin Plant Biol*. 2019 Aug;50:121-31. doi:10.1016/j.pbi.2019.04.007
90. Feehan JM, Castel B, Bentham AR, Jones JD. Plant NLRs get by with a little help from their friends. *Curr Opin Plant Biol*. 2020 Aug;56:99-108. doi:10.1016/j.pbi.2020.04.006
91. Kourelis J, Contreras MP, Harant A, Pai H, Lüdke D, et al. The helper NLR immune protein NRC3 mediates the hypersensitive cell death caused by the cell-surface receptor Cf-4. *PLoS Genet*. 2022 Sep 22;18(9):e1010414. doi:10.1371/journal.pgen.1010414
92. Bonardi V, Tang S, Stallmann A, Roberts M, Cherkis K, et al. Expanded functions for a family of plant intracellular immune receptors beyond specific recognition of pathogen effectors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Sep 27;108(39):16463-8. doi:10.1073/pnas.1113726108
93. Qi T, Seong K, Thomazella DPT, Kim JR, Pham J, et al. NRG1 functions downstream of EDS1 to regulate TIR-NLR-mediated plant immunity in *Nicotiana benthamiana*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Nov 13;115(46):E10979-E10987. doi:10.1073/pnas.1814856115
94. Castel B, Ngou PM, Cevik V, Redkar A, Kim DS, et al. Diverse NLR immune receptors activate defence via the RPW8-NLR NRG1. *New Phytol*. 2019 Apr;222(2):966-80. doi:10.1111/nph.15659
95. Lüdke D, Yan Q, Rohmann PFW, Wiermer M. NLR we there yet? Nucleocytoplasmic coordination of NLR-mediated immunity. *New Phytol*. 2022 Oct;236(1):24-42. doi:10.1111/nph.18359
96. Shepherd S, Yuen ELH, Carella P, Bozkurt TO. The wheels of destruction: Plant NLR immune receptors are mobile and structurally dynamic disease resistance proteins. *Curr Opin Plant Biol*. 2023 Aug;74:102372. doi:10.1016/j.pbi.2023.102372
97. Duggan C, Moratto E, Savage Z, Hamilton E, Adachi H, et al. Dynamic localization of a helper NLR at the plant-pathogen interface underpins pathogen recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Aug 24;118(34):e2104997118. doi:10.1073/pnas.2104997118
98. Wang S, McLellan H, Bukharova T, He Q, Murphy F, et al. Phytophthora infestans RXLR effectors act in concert at diverse subcellular locations to enhance host colonization. *J Exp Bot*. 2019 Jan 1;70(1):343-56. doi:10.1093/jxb/ery360
99. El Kasmi F, Chung EH, Anderson RG, Li J, Wan L, et al. Signaling from the plasma-membrane localized plant immune receptor RPM1 requires self-association of the full-length protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Aug 29;114(35):E7385-E7394. doi:10.1073/pnas.1708288114
100. Bi G, Su M, Li N, Liang Y, Dang S, et al. The ZAR1 resistosome is a calcium-permeable channel triggering plant immune signaling. *Cell*. 2021 Jun 24;184(13):3528-3541.e12. doi:10.1016/j.cell.2021.05.003
101. Hohmann U, Lau K, Hothorn LA. The Structural Basis of Ligand Perception and Signal Activation by Receptor Kinases. *Annual Review of Plant Biology*. 2017 Apr 28;68(1):109-37. doi:10.1146/annurev-arplant-042916-040957
102. Huang S, Jia A, Ma S, Sun Y, Chang X, Han Z, Chai J. NLR signaling in plants: from resistosomes to second messengers. *Trends Biochem Sci*. 2023 Sep;48(9):776-87. doi:10.1016/j.tibs.2023.06.002
103. Hu Z, Chai J. Assembly and Architecture of NLR Resistosomes and Inflammasomes. *Annu Rev Biophys*. 2023 May 9;52:207-228. doi:10.1146/annurev-biophys-092922-073050
104. Martin R, Qi T, Zhang H, Liu F, King M, et al. Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science*. 2020 Dec 4;370(6521):eabd9993. doi:10.1126/science.abd9993
105. Ma S, Lapin D, Liu L, Sun Y, Song W, et al. Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science*. 2020 Dec 4;370(6521):eabe3069. doi:10.1126/science.abe3069
106. Feehan JM, Wang J, Sun X, Choi J, Ahn HK, et al. Oligomerization of a plant helper NLR requires cell-surface and intracellular immune receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023 Mar 14;120(11):e2210406120. doi:10.1073/pnas.2210406120

D. Pavlyuk, T. Ternovska, M. Antonyuk

National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

PLANT RESISTANCE TO PATHOGENS AS A RESULT OF GENE INTERACTION

Abstract

Modern information on the genomics of plants and plants' pathogens as well the achievements of molecular biology have made it possible to state the participation of gene products, proteins, in the organization of molecular complexes that are assembled to implement a certain character of the phenotype. The character of plant "resistance/sensitivity" to a certain biotic factor is also interesting because there is an interaction not only between the genes of one organism, but between the genes of organisms that lie in different kingdoms of life.

Plant resistance to pathogens can be passive (provided mainly by characters of plant morphology) and active. Active resistance is formed as a result of the penetration of the pathogen or its elicitors and effectors into the plant. Active protection of the plant at the molecular level is expressed in the launch of the MAPK cascade, the accumulation of reactive oxygen species, and an increase in the flow of calcium ions to the cell. Active protection can be implemented on two levels. The first level, RTI (PAMP Triggered Immunity), develops in response to plant contact with a wide range of non-adapted pathogens. The resistance (immunity) that is formed in this case is called non-specific, or horizontal, or quantitative. The molecular instrument for initiating the defensive reaction is the PRR (Pattern Recognition Receptors). Adapted pathogens are able to overcome RTI by sending effectors to plant cells. These are protein molecules whose function is to create conditions within the cell that are more permissive to the pathogen. The effector can be recognized by the plant's specific NLR (Nod-Like Receptors), and complementation occurs between the two. There are other specific plant molecules, nonNLR, with a different type of protein product interaction for recognition. In both cases, the second level of protection, ETI (Effector Triggered Immunity), develops. The set of molecular processes that occur at the second level of protection does not differ from the set of the first level, but the processes occur more intensively and are accompanied by the death of the affected cells. This prevents the further spread of the pathogen throughout the plant. The molecular events of the first and second levels of protection are not isolated. The interaction between them involving the products of plant genes and pathogen genes is described by the "zig-zag-zig"-model, invasion model, and the integrated iceberg model. The interaction of plant genes for effector recognition is described by the "guard" and "decoy" models. To initiate a defensive reaction, plant receptors, which can sometimes differentiate into sensors and helpers, form protein complexes, resistosomes.

Keywords: plant resistance, plant resistance genes, pathogen effectors, *R-Avr* interaction, resistosome.

Матеріал надійшов 19.06.2024

Відомості про авторів Notes about authors

Павлюк Дарина Володимирівна – студентка бакалаврської програми «Біологія та біотехнологія» кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Pavlyuk Daryna – student of the Bachelor’s Program “Biology and Biotechnology” of the Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
e-mail: daryna.pavliuk@ukma.edu.ua

Терновська Тамара Костянтинівна – доктор біологічних наук, професор кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Ternovska Tamara – Doctor of Science in Biology, Professor of Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-9712-1516>
e-mail: ternovska@ukma.edu.ua

Антонюк Максим Зиновійович – доктор біологічних наук, завідувач кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Antonyuk Maksym – Doctor of Science in Biology, Head of Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-5877-969X>
e-mail: antonyuk.m@ukma.edu.ua



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.16-26

UDC 579.6:582.23/28+541.49:546.791.6

O. Nechypurenko^{1,2}, I. Furtat¹, P. Vakuliuk¹,
V. Lemeshko³, M. Vortman³, V. Shevchenko³

¹National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

²Laboratorios Hipra, S.A., Kyiv, Ukraine

³Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

THE EFFECTIVENESS OF SURFACTANTS AS COMPOUNDS FOR CREATING DISINFECTANTS WITH A WIDE SPECTRUM OF ACTION

Abstract

*Along with the use of antibiotics, the use of disinfectants is crucial in the fighting against multi-resistant strains of bacteria that are dangerous not only for animals but also for humans. A new complex disinfectant could be used as a prevention method. Therefore, the aim of the work was to evaluate the effectiveness surfactants (anionic, cationic and non-ionic) as compounds for the creating of disinfectants with a wide spectrum of action. Compositions with guanidine-containing oligomer (GCO) inhibited *S. aureus* and *C. albicans* most effectively. At concentrations of 1000 and 100 ppm, 100 % of cells were inactivated. The biocidal effect against representatives of Gram-negative bacteria was weaker, which should be considered during creation of antimicrobial agents active against pathogenic strains of *E. coli*. With a rational combination of effective components and their synergism, it is possible to significantly reduce the concentration of the working solution compared to already used commercial disinfectants. For example, the concentration of glutaraldehyde in composition containing 3 % GCO, 1 % Triton X-100, 1 % Trilon B and 1 % glutaraldehyde was in 9 times lower than of Lysoformin 3000. Also, most surfactants used were not characterized by mutagenic activity, which is one of the main criteria for disinfectants usage since this reduces the risks of developing bacterial resistance to antibiotics and other biocides. Thus, the development and implementation of new disinfectants, which could help to fight against multi-resistant strains of bacteria, is an indispensable part of comprehensive programs in controlling and prevention of common diseases in animal husbandry and medicine, particularly, colibacillosis.*

Keywords: anionic, cationic and non-ionic surfactants, bactericidal and fungicidal activity, disinfectants, pathogenic *E. coli*.

Introduction

Microorganisms with multiple drug resistance (MDR) are currently considered as a significant threat to the health care system, agriculture, veterinary medicine, and economy in general. According to WHO forecasts, infections caused by multiresistant strains of bacteria may lead to an increase in the number of unpreventable deaths in future [1,2]. It is assumed that over the next 30 years, the world economy may suffer in lack of more than

100 trillion dollars due to the spread of MDR strains of microorganisms. This primarily concerns low- and middle-income countries [1-3].

Despite the variety of vaccination programs, antibiotics are still being the most used strategy for prevention and treatment in the agricultural industry. For example, due to the growing selective pressure and irrational antibiotic use against pathogenic *E. coli*, the emergence of the antibiotic multiresistant phenomenon has limited

treatment options and increased public health concern. The potential transfer of MDR genetic determinants directly by contact and indirectly into the food chain, water, and manure, among others became possible [2,7]. Also, regarding the fact that MDR strains of microorganisms are becoming more and more common, it is very important to investigate the cause and origin of such cultures, as well as their possible habitats, to assess the potential threat originating from MDR microorganisms. In this context, disinfectants and antiseptics are important factors in the development of such microorganisms, since they are widely used not only in medical practice, industrial sector, but also in private households [4]. Moreover, the SARS-CoV-2 pandemic led to a significant increase in the use of disinfectants and antibiotics because it was one of the main widely distributed ways to fight against the disease [5,6].

In turn, this may pose a potential risk to human health, as it is shown that the exposure of disinfectants could be linked with antibiotic's resistance. For example, in some Gram-negative bacteria, resistance to benzalkonium chloride and chlorhexidine is linked with resistance to ampicillin, cefotaxime, sulfamethoxazole and ceftazidime, sulfamethoxazole, imipenem, cefotaxime, tetracycline, respectively [3,7].

One of the possible solutions to this problem is the creation of multi-component disinfectant, the individual substances of which, on the one hand, allow expanding the number of targets of the disinfectant, and on the other hand, are characterized by a synergistic effect. In addition, it is desirable that these agents prevent the initial attachment of bacteria to various abiotic surfaces and the subsequent formation of biofilm as a result totally killed the bacteria [8,9]. Also, such multi-component disinfectants should be included into the complex program of control and prophylaxis of widely spread veterinary diseases such as colibacillosis, salmonellosis, etc. Therefore, the aim of the work was to evaluate the effectiveness surfactants as compounds for the creation of disinfectants with a wide spectrum of action.

Material and methods

Various classes of surfactants were used to create compositions with wide spectrum activity. Explored surfactants were synthesized at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (guanidine-containing oligomer (GCO), surfactant 2 and surfactant 3) [10]. Also, we chose characterized compounds such as Trilon B (Netherlands); Triton X-100 (Merk, Germany); glutaraldehyde, (Sigma-Aldrich, USA), OP-10). Three versions of the compositions were tested, which differed in the composition of the components and their ratio. They were designated as: composition 1 (1 % GCO and 1 % surfactant 2), composition 2 (1 % GCO, 1 % surfactant 2 and 1 % Trilon B) and composition 3 (3 % GCO, 1 % Triton X-100, 1 % Trilon B and 1 % glutaraldehyde). As a comparison control, we used Lysoformin 3000 (9.5 % glutaraldehyde, 9.6 % didecyltrimethylammonium chloride and 7.5 % of glyoxal) for disinfection of all types of surfaces and medical equipment.

Disinfectant activity was measured against Gram-positive, Gram-negative bacteria and yeasts such as *Staphylococcus aureus* CCM 209, *Escherichia coli* BE and *Candida albicans* UCM Y-690, respectively. The optical density of microbes' suspension was 1.5 Mc Farland units [10]. The biocidal activity of individual components and compositions were determined by the Gould suspension method [11,12]. After counting the CFU on the agar medium, we calculated the arithmetic mean values of the number of cells/ml and established the number of viable cells by the formula:

$$C = \lg \frac{N_t}{N_{tk}}$$

where N_t — the number of bacteria that survived after contact with experimental surfactants; N_{tk} — the number of bacteria that grew in the control over the same time period.

Based on the obtained data, it was determined the decimal logarithm and effectiveness of the experimental surfactants due to the scale in Table 1. It was taken into account that compound was considered as effective only when the number of viable cells decreased more than by -4.0 lg CFU/ml [12].

Table 1

The scale for evaluating the bactericidal activity of the test substances

Value of C	Number of cells that died, %
From -2.0 to -2.9	99.000
From -3.0 to -3.9	99.900
From -4.0 to -4.9	99.990
From -5.0 to -5.9	99.999
From -6.0 and more	> 99.999

The effectiveness of surfactants and research compositions against test cultures was determined at concentrations range of 10000–0.1 ppm (where, 1 part/million (ppm) = 0.9988590004 mg/L [13], 1 ppm = 0.0001 %) directly at the moment of contact with the cells of microorganisms (0 min) and after exposure for 15 and 30 minutes, respectively. After the exposure time, the samples were sown to Nutrient agar medium (NA, Himedia, India) using the Gould technique [11]. As a control, we used standardized suspensions of test-culture cells, which were not exposed to the test compounds or compositions.

All variants of experiments were carried out in three or more independent repetitions (n). The obtained results were used to calculate arithmetic mean values and root mean square errors. The data were checked for normality of distribution, after which appropriate criteria were applied for statistical processing [14].

The mutagenic activity of experimental surfactants was determined in the Ames test [15–17]. It was used *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains, which had been characterized by different mutations in the histidine operon: *hisD3052* reading frame shift and *hisG46* base pair replacement, respectively. These strains were grown on Nutrient broth (NB, Himedia, India) at 37 °C for making standardized suspension with optical density 0.7–0.8 units at wavelengths $\lambda = 540$ nm. Then suspension was mixed in semi-liquid agar with experimental surfactants in the concentration range of 0.1; 1.0; 10.0; 100.0 and 1000.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$. The obtained mixture was applied to the surface of the lower layer of agar medium at Petri dishes. Distilled water served as negative control. The solution of $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ was used as a model mutagen and positive control, because the number of His⁺-revertant colonies of *S. typhimurium* TA98 increased in 22.6 times, and *S. typhimurium* TA100 in 8.7 times. This indicated the sensitivity of the test strains to the action of mutagenic compounds.

After cultivation at 37 °C for 48 hours, the number of His⁺ revertant colonies was determined. The mutagenicity ratio (MR) was calculated as the number of His⁺-revertants in the treated sample to the number of spontaneous revertants. If the value of MR is higher than 2.0, then the sample was considered as mutagenic; MR below 1.7 — no mutagenic activity, MR — 1.7–2.0 characterized a compound as a potential mutagen [18]. The presence of a mutagenic effect was recognized by two conditions. First condition was the presence of a statistically significant difference between the number of colonies of His⁺-revertants and the negative control according to the Mann-Whitney

test ($p < 0.05$) [14]. Also, the number of CFU His⁺-revertants in the experiment had to exceed the spontaneous mutation background of *S. typhimurium* TA98 and *S. typhimurium* TA100 at least in 2.0 and 1.8 times, respectively.

Results and discussion

In our previous research [10] and the data of other authors [19], it was found that the guanidine-containing oligomer has antimicrobial activity against various representatives of pro- and eukaryotic microorganisms. Taking into account such feature of GCO as spectrum of action, stability during storage, lack of odor and relative simplicity of synthesis, we assume that this oligomer could be promising for the creation of broad-spectrum antimicrobial agents possibly active against even multiresistant pathogenic *E. coli*. In addition, we proposed to combine it with anionic (Trilon B, surfactant 2, surfactant 3) and non-ionic (Triton X-100 and OP-10) surfactant, as well as glutaraldehyde in order to strengthen the general antimicrobial activity and improve the cleaning properties [20–22].

We determined the disinfectant activity of individual compounds against *S. aureus* CCM 209, *E. coli* BE and *C. albicans* UCM Y-690 before creating the compositions. The guanidine-containing oligomer proved to be effective against staphylococcal cells (Fig. 1). At a concentration of 1000 ppm, regardless of the duration of contact (0–30 min), a complete suppression of the viability of *S. aureus* CCM 209 cells were observed. When the concentration decreased to 100 ppm at the time of adding the culture to the surfactant solution (0 min), the viability of the cells decreased to $-4.4 \lg \text{CFU}/\text{ml}$, and after exposure for 15–30 minutes, cells of staphylococci under the influence of GCO totally lost their viability, which confirmed the effectiveness of the compound. When the concentration of GCO was reduced to 10 ppm and the exposure time was 30 min, the number of dead cells was 99.99 %, and with contact from 0 to 15 min, the number of dead cells did not exceed 99.0 %. Therefore, the last concentration was ineffective.

It was also found that the *E. coli* BE strain was more resistant to the influence of GCO. The number of viable cells at the highest concentration and longest exposure even did not reach $-3.0 \lg \text{CFU}/\text{ml}$ (Fig. 2), and thus, the biocidal effect was insufficient. This fact indicated a crucial role of *E. coli* as a marker of disinfectant activity. Therefore, regarding high prevalence and negative impact of pathogenic *E. coli* in poultry and swine farming it is necessary to provide more careful disinfection of facilities.

Instead, the guanidine-containing oligomer showed significant inhibitory activity against cells of the *C. albicans* UCM Y-690. The growth of these yeast at 1–1000 ppm was not observed at all after 0–30 min exposure. However, at the concentration

of 0.1 ppm, fungicidal activity was insufficient for effective disinfection (Fig. 3).

After the comparison of guanidine-containing oligomer and Lysoformin 3000 effect to *S. aureus* CCM 209 cells, it was found that they had similar

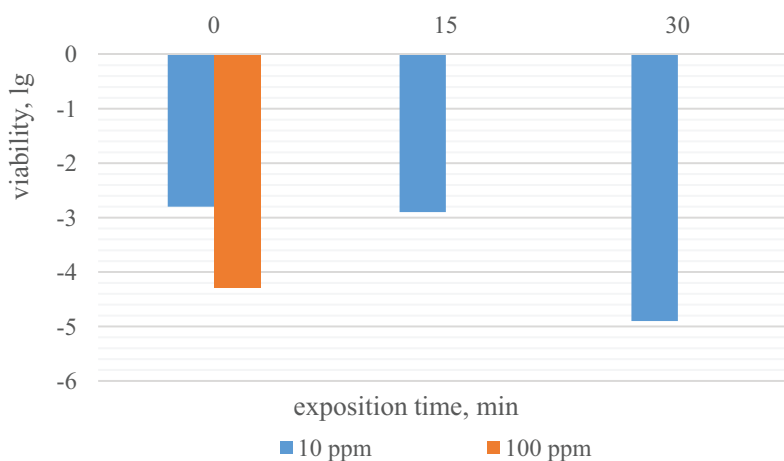


Fig. 1. The influence guanidine-containing oligomer to viability of *S. aureus* CCM 209 cells

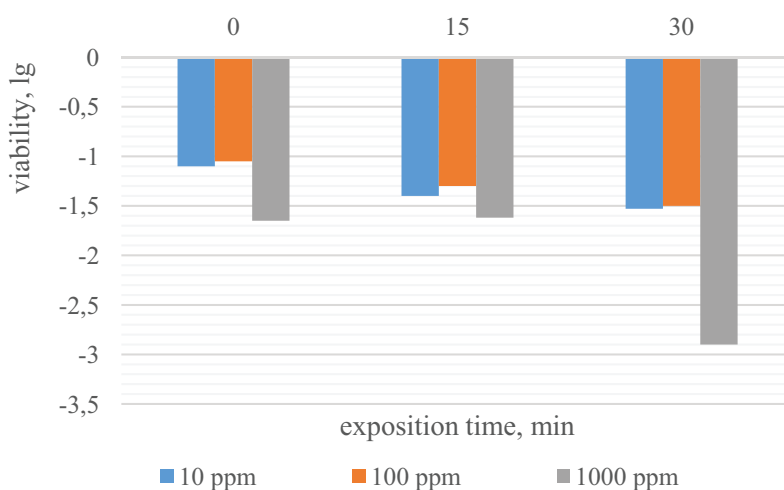


Fig. 2. The influence guanidine-containing oligomer to viability of *E. coli* BE cells

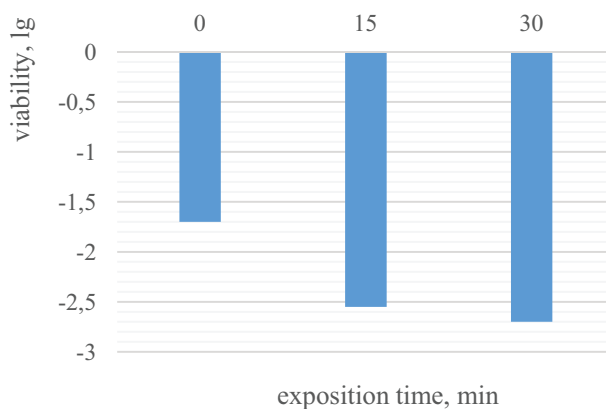


Fig. 3. The influence guanidine-containing oligomer to viability of *C. albicans* UCM Y-690

activity, as both inhibited the viability of staphylococcal cells to 100 % at a concentration of 100 ppm and exposure for 30 minutes. In the case of Gram-negative bacteria, the number of dead cells of the *E. coli* BE at a concentration of GCO of 1000 ppm and an exposure of 30 min was 99.0 %, while Lysoformin 3000 inhibited the bacterial growth to 100 %. The effect of the guanidine-containing oligomer to *C. albicans* cells was the most effective and inhibited their growth to 100 % in 10 ppm solution. However, Lysoformin 3000 at the mentioned concentration was not effective at all.

Therefore, it was necessary to improve the disinfecting activity of the guanidine-containing oligomer against Gram-negative bacteria by combining it with other surfactants, which also have antimicrobial activity. For that reason it was created composition 1, which additionally to GCO contained surfactant 2.

It was shown that after 0 min exposure of composition 1 at a concentration 1000 ppm, the number of viable cells of staphylococci decreased to $-4.0 \lg$ CFU/ml. These data prove the effectiveness

of the created composition (GCO and surfactant 2) against *S. aureus* CCM 209 cells. The growth of *C. albicans* UCM Y-690 was also absent under the action of this composition, but at the concentration 100 ppm. However, we were unable to achieve a significant effect on the viability of *E. coli* BE with this combination of studied surfactants. At the concentration of 1000 ppm, the number of *E. coli* cells that died because of exposure to composition 1 were near $1.0 \lg$ CFU/ml (Fig. 4).

Also, to enhance the disinfecting activity against Gram-negative bacteria, we created composition 2, to which, in addition to GCO and surfactant 2, was added Trilon B. It was established that under the action of composition 2, with a final concentration of 1000 ppm the growth of *S. aureus* CCM 209 was completely inhibited. Thus, in the case of Gram-positive bacteria, we again observed an increase of the disinfecting activity compared to GCO. Composition 2 and 1 also characterized by similar effectivity against *C. albicans* UCM Y-690 strain. Moreover, the growth of yeast was totally inhibited at the concentration of 100 ppm.

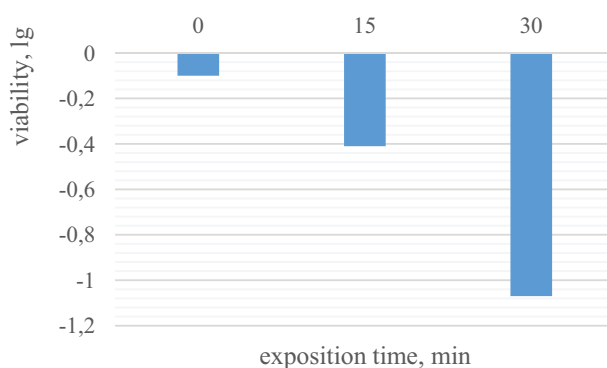


Fig. 4. The influence composition 1 to viability of *E. coli* BE cells

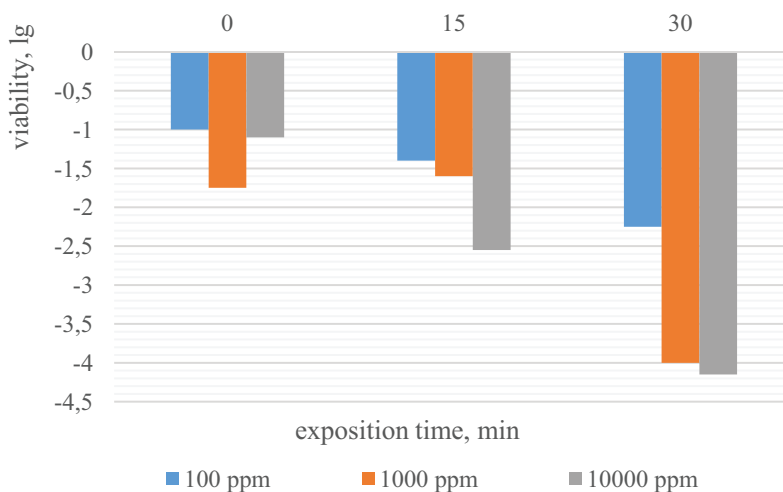


Fig. 5. The influence of composition 2 to viability of *E. coli* BE cells

Considering the disinfectant activity of composition 2 against *E. coli* BE, it was established that the required level of cell destruction efficiency (-4.0 lg CFU/ml) was achieved only under 30 min exposure and concentrations not less than 1000 ppm (Fig. 5). Lower concentrations and shorter time intervals usage were ineffective. It should be noted that additional washing abilities of disinfecting composition could improve its effectiveness against colibacillosis in veterinary because of enhancing cleaning possibility.

The combination of three components in composition 2 improved its disinfecting activity, compared to composition 1, which at 1000 ppm and similar exposure conditions inhibited less than 99 % of *E. coli* BE cells. So, it was determined that Trilon B is able to increase the effect of GCO and surfactant 2 against Gram-negative bacteria. However, the activity of both compositions was significantly lower than Lysoformin 3000, that inhibited the growth of all tested strains after 30 minutes exposure at 100 ppm.

On the basis of obtained results and literature data, which prove the feasibility of combining different classes of surfactants, as well as regarding the wide spectrum of glutaraldehyde activity [3,6,20-25], we tested multicomponent composition based on GCO, Trilon B, Triton X-100 and glutaraldehyde. It was shown that at 1000 ppm it totally inhibited the growth staphylococci and yeast-like fungi cells. However, at 100 ppm, the disinfection efficiency against *S. aureus* CCM 209 slightly decreased, but the fungicidal activity was preserved, because the growth of *C. albicans* UCM Y-690 was inhibited to 100 %. When the concentration was reduced to 10 ppm,

composition 3 lost its ability to inhibit the growth of yeast-like fungi.

The Gram-negative bacteria were more resistant to composition 3 comparing yeasts and Gram-positive microbes. Nevertheless, it was observed that it is quite possible to achieve significant disinfection efficiency of this composition by selecting the duration of exposure to bacterial cells and optimal concentrations. The usage of composition 3 at 1000 ppm concentration reduced the number of viable *E. coli* BE cells to -4.0 lg and -5.2 lg CFU/ml after 15 and 30 minutes of exposure, respectively. When the concentration of composition 3 was increased to 10000 ppm the number of viable *E. coli* cells were decreased to -4.4 lg CFU/ml. Also, it was detected 100 % activity after 30 minutes of exposure (Fig. 6).

The obtained disinfection efficiency against *E. coli* BE fully responds to requirements of disinfectants, since the number of viable cells decreased by -4.0 lg CFU/ml or more. The 10000 ppm concentration of composition 3 and time of exposure near 15–30 minutes considered to be effective. Thus, during cleaning, preparation process of facilities and biosecurity measure in poultry and swine farming disinfectants based on surfactants and aldehydes ought to be a part of complex prophylaxis program against antibiotic resistance pathogenic *E. coli* strains and colibacillosis.

Based on obtained data it was determined that composition 3 characterized by highest rate of disinfection activity against Gram-positive, Gram-negative bacteria and yeasts among all tested compounds. For example, after 30 min exposure with concentration of 1000 ppm its disinfection rate was in 3.5 times higher than activity of GCO. It was

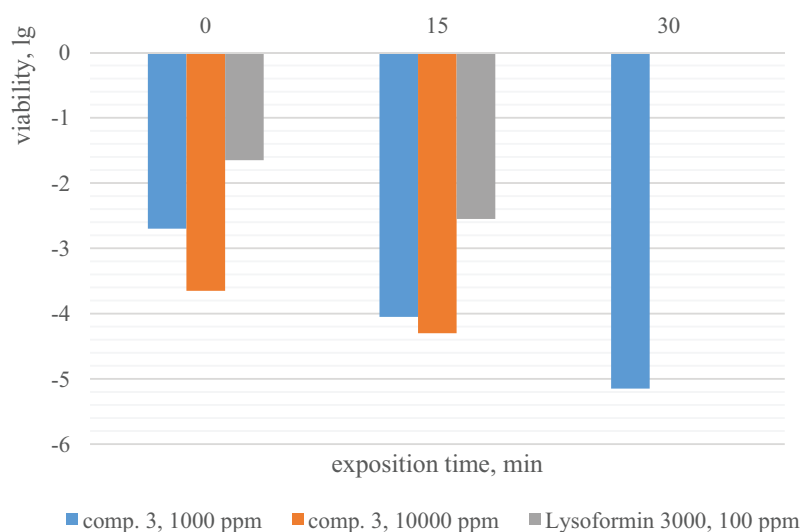


Fig. 6. The influence of composition 3 and Lysoformin 3000 to viability of *E. coli* BE cells

also determined that, under similar conditions, this composition completely inhibited the growth of Gram-positive *S. aureus* CCM 209 cells, and at a concentration of 100 ppm, it neutralized *C. albicans* cells by 100 %.

One of important features that should be considered during creation of new antimicrobial agents is their mutagenicity rate, which indicates the possibility of using this or that surfactant in general [18]. After determining the disinfectant activity of the compositions, we have been investigating the mutagenic potential of individual components by the Ames test. Compounds with high mutagenicity are not desirable to use for disinfection since mutations are the main source of variability and acquired resistance of microorganisms to biocides [26,27].

It was found that GCO in the concentration range of 0.1–100 µg did not have a mutagenic effect relatively to both investigated strains of *S. typhimurium* TA98 and TA100. The number of His⁺-revertant colonies ranged from 34±8 to 48±2 for *S. typhimurium* TA98 and 99±18 to 143±25 for *S. typhimurium* TA100. The ratio of the number of revertant colonies in the experiment to the control did not exceed 1.2 and 1.4, respectively (Table 2). This is also confirmed by the absence of a statistically significant difference compared to the spontaneous mutation rate.

After studying the mutagenic effect of glutaraldehyde and surfactant 2, it was shown that the last mentioned compound had a slight mutagenic potential regarding *S. typhimurium* TA98 test strain. The number of CFU His⁺-revertant for this strain varied depending on the concentration and statically differed compared to the spontaneous mutation background. Confirmation of surfactant 2 mutagenic effect was the ratio of the number of His⁺-revertant colonies to the spontaneous mutations rate (Table 2). However, this compound did not show mutagenic activity against *S. typhimurium* TA100 strain, because of the ratio of the number of CFU in the experiment to the spontaneous mutations ranged from 0.9 to 1.7. Thus surfactant 2 could have a low mutagenic potential to *S. typhimurium* TA98 and did not influence to *S. typhimurium* TA100 at all.

Determination of the mutagenic activity of glutaraldehyde was carried out in the range of concentrations (10–0.1 µg), which did not inhibit the growth of the test strains of salmonella (Table 2). The number of His⁺-revertants to *S. typhimurium* TA98 under the influence of glutaraldehyde ranged from 23±6 to 32±5 CFU, and *S. typhimurium* TA100 – 142±15 to 251±4. The absence of mutagenic effect of glutaraldehyde

to *S. typhimurium* TA98 and TA100 also was proven by the ratio of CFU in the experiment to the spontaneous mutation rate, which ranged from 0.7 to 1.0 and 0.9 to 1.6, respectively (Table 2). Under the influence of K₂Cr₂O₇ (positive control), the number of CFU His⁺-revertant colonies of *S. typhimurium* TA98 and TA100 was in 58.7 and 12.5 times higher, respectively.

Therefore, we found that the guanidine-containing oligomer and glutaraldehyde did not cause frameshift or base-pair substitution mutations of *S. typhimurium* TA98 and TA100.

It should be noted that surfactant 2 was also possible to use in antimicrobial compositions, since it had been characterized by high antimicrobial activity and at the same time low mutagenicity. If it is necessary to replace or introduce additional components, nonionic surfactant OP-10 could be chosen, as it possesses a high biocidal activity [10]. Also, OP-10 at concentrations from 0.1 to 1000.0 µg did not show mutagenic potential against *S. typhimurium* TA98 and TA100 strains. Instead, surfactant 3 was characterized by high mutagenic activity against both mentioned strains, which made its further use impossible. The study of the mutagenic potential of Trilon B and Triton X-100 was not provided because according to literature data that feature had not been detected [28,29].

Conclusion

Compositions with guanidine-containing oligomer was characterized by high biocidal activity against Gram-positive bacteria and representatives of the genus *Candida*. At the same time, there is a need to increase its efficiency against Gram-negative microbes such as pathogenic *E. coli*, because colibacillosis is the most widespread disease among poultry and swine farming, and the appearance of multiresistant strains harmful for humans is sporadically recorded.

It was determined that the spectrum of action and the disinfectant ability could be significantly improved by introducing cationic, anionic, nonionic surfactants and glutaraldehyde in various combinations. With a rational combination of effective components and their synergism, it is possible to significantly reduce the concentration of the working solution compared to already used commercial disinfectants. For example, the concentration of glutaraldehyde in composition 3 (3 % GCO, 1 % Triton X-100, 1 % Trilon B and 1 % glutaraldehyde) was in 9 times lower than of Lysoformin 3000.

Table 2

Mutagenic activity of composition components

Test-cultures	Compound	Dosage (µg/plate)	Number of His ⁺ -revertants	CFU surfactants to SM ratio
<i>S. typhimurium</i> TA98	GCO	100.0	46–50	1.2
		10.0	38–44	1.1
		1.0	36–50	1.1
		0.1	26–42	0.9
	Surfactant 2	100	505–623	18.2
		10	188–198	6.2
		1	34–36	1.1
		0.1	37–27	1.0
	Glutaric aldehyde	1000	gi	–
		100	gi	–
		10	37–27	1
		1	29–17	0.7
	control	200	1793–1849	58.7
	SM	–	40–22	–
<i>S. typhimurium</i> TA100	GCO	100.0	95–147	1.2
		10.0	99–119	1.1
		1.0	81–117	1.0
		0.1	118–168	1.4
	Surfactant 2	100	169–151	1.0
		10	276–254	1.7
		1	251–231	1.5
		0.1	167–129	0.9
	Glutaric aldehyde	1000	gi	–
		100	157–166	1.0
		10	127–157	0.9
		1	243–207	1.4
		0.1	247–255	1.6
	control	200	1923–2013	12.5
SM	–	125–189	–	

Remark. SM – spontaneous mutation; positive control – K₂Cr₂O₇; gi – growth inhibition.

Also, guanidine-containing oligomer, surfactant 2 and glutaraldehyde were not characterized by mutagenic activity, which is one of the main criteria for disinfectants usage since this reduces the risks of developing bacterial resistance to antibiotics and other biocides.

Implementing various combinations of surfactants that are introduced into newly created disinfectant, it is possible to enhance not only the disinfecting activity (composition 3), but also prevent the formation of cross-resistance in different groups of microorganisms. That is why Triton X-100 can be replaced by a non-ionic

surfactant of industrial production – OP-10, that is characterized by high biocidal activity and does not show mutagenic effects. This would help to improve washing features and increase overall antimicrobial activity, which is especially important for livestock farming with a low level of management and biosecurity.

Thus, the development and implementation of new disinfectants, which could help to fight against multiresistant strains of bacteria, is an indispensable part of comprehensive programs in controlling and prevention of common diseases in animal husbandry and medicine, particularly, colibacillosis.

References

- Collignon P. Fact sheets on sustainable development goals: health targets: Antimicrobial resistance. *Emerging Infect. Dis.* 2017;6:434-36. doi:10.3201/eid0604.000428
- Morrison L, Zembower TR. Antimicrobial resistance – global report on surveillance. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 2020;30:619-35. doi:10.1016/j.giec.2020.06.004
- Basiry D, Entezari Heravi N, Uluseker C, Kaster KM, Kommedal R, Pala-Ozkok I. The effect of disinfectants and antiseptics on co- and cross-selection of resistance to antibiotics in aquatic environments and wastewater treatment plants. *Front Microbiol.* 2022;13:13:1050558. doi:10.3389/fmicb.2022.1050558
- Russell AD. Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *J. Hosp. Infect.* 2004;57:97-104. doi:10.1016/j.jhin.2004.01.004
- Usman M, Farooq M, Hanna K. Environmental side effects of the injudicious use of antimicrobials in the era of COVID-19. *Sci. Total Environ.* 2020;745:141053. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141053
- Ghafoor D, Khan Z, Khan A, Ualiyeva D, Zaman N. Excessive use of disinfectants against COVID-19 posing a potential threat to living beings. *Current Research in Toxicology.* 2021;2:159-68. doi:10.1016/j.crtcx.2021.02.008
- Kampf G. Biocidal agents used for disinfection can enhance antibiotic resistance in Gram-negative species. *Antibiotics.* 2018;7(4):110. doi:10.3390/antibiotics7040110
- Wei T, Yu Q, Chen H. Responsive and Synergistic Antibacterial Coatings: Fighting against Bacteria in a Smart and Effective Way. *Adv. Healthcare Materials* 2019;8(3):e1801381. doi:10.1002/adhm.201801381
- Pemmada R, Shrivastava A, Dash M, Cui K, Kumar P, Ramakrishna S, Zhou Y, Thomas V, Nanda HS. Science-based strategies of antibacterial coatings with bactericidal properties for biomedical and healthcare settings. *Current Opinion in Biomedical Engineering.* 2023;25:100442. doi:10.1016/j.cobme.2022.100442
- Furtat I, Nechypurenko O, Vakuliuk P, Vortman M, Shevchenko V. Antimicrobial activity of traditional and newly synthesized surface-active agents as a basis for the creation of new disinfectants. *NaUKMA Research Papers. Biology and Ecology.* 2022;5:25-32. doi:10.18523/2617-4529.2022.5.25-32
- Gold J. Quantity and quality in the diagnosis of urinary tract infections. *British Journal of Urology.* 1965;37(1):7-12. doi:10.1111/j.1464-410X.1965.tb09567.x
- Furtat I, Lupatsii M, Murlanova T, Vakuliuk P, Gaidai A, Biliayeva O, Sobczuk H, Golub A. Nanocomposites with oridazole-antibacterial and antiadhesive agents against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Applied Nanoscience.* 2020;10:3193-3203. doi:10.1007/s13204-020-01260-x
- Convert Part/million (ppm) to Milligram/liter. [Internet]. Available from: <https://www.unitconverters.net/concentration-solution>
- Glantz SA. *Primer of Biostatistics.* 7th ed. The McGraw-Hill Companies; 2012. 327 p.
- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research.* 1983;113(3-4):173-215. doi:10.1016/0165-1161(83)90010-9
- Sundar R, Jain MR, Valani D. Chapter Ten – Mutagenicity Testing: Regulatory Guidelines and Current Needs. In: Kumar A, et al., ed. *Mutagenicity: Assays and Applications.* Academic Press; 2018. p. 191-228. doi:10.1016/B978-0-12-809252-1.00010-9
- Vijay U, Gupta S, Mathur P, Suravajhala P, Bhatnagar P. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. *Bio Protoc.* 2018;8(6):e2763. doi:10.21769/BioProtoc.2763
- Oblak E, Piecuch A, Guz-Regner K, Dworniczek E. Antibacterial activity of gemini quaternary ammonium salts. *FEMS Microbiology Letters.* 2014;350(2):190-8. doi:10.1111/1574-6968.12331
- Vortman MYa, Pysmenna YuB, Rudenko AV, Tretyak VV, Lemeshko VN, Shevchenko VV. Fungicidal and bactericidal activity of alkyl-substituting polyetherguanidines. *Biologichni Studii.* 2020;14(3):65-78. doi:10.30970/sbi.1403.630
- Russell AD. Glutaraldehyde: current status and uses. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1994;15(11):724-33. doi:10.1086/646845
- Sehmi SK, Allan E, MacRobert AJ, Parkin I. The bactericidal activity of glutaraldehyde-impregnated polyurethane. *Microbiology open.* 2016;5(5):891-97. doi:10.1002/mbo3.378
- Lin W, Guan X, Cao J, Niu B, Chen Q. Bactericidal mechanism of glutaraldehyde-didecyltrimethylammonium bromide as a disinfectant against *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology.* 2017;122(3):676-85. doi:10.1111/jam.13384
- Zhou C, Wang Y. Structure–activity relationship of cationic surfactants as antimicrobial agent. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.* 2020;45:28-43. doi:10.1016/j.cocis.2019.11.009
- Rutala WA, Weber DJ. Disinfectants used for environmental disinfection and new room decontamination technology. *Am. J. Infect. Control.* 2013;41(5):S36-S41. doi:10.1016/j.ajic.2012.11.006
- Sayed SRM, Ezzat AO, Yassin MT, Abdelbacki AMM. Synthesis, Characterization and Application of Novel Cationic Surfactants as Antibacterial Agents. *Separations.* 2023;10(2):97. doi:10.3390/separations10020097
- Monarca S, Richardso SD, Feretti D, Grottole M, Thruston JrAD, Zani C, Navazio G, Ragazzo P, Zerbini I, Alberti A. Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2002;21(2):309-318. doi:10.1002/etc.562021 0212
- Thomas DN, Wills JW, Tracey H, Baldwin SJ, Burman M, Williams AN, Harte DSG, Buckley RA, Lynch AM. Ames test study designs for nitrosamine mutagenicity testing: qualitative and quantitative analysis of key assay parameters. *Mutagenesis.* 2024;39(2):78-95. doi:10.1093/mutage/gead033
- Narasimhamurthy MK. Assessment of *in vivo* mutagenic potency of ethylenediaminetetraacetic acid in albino mice. *Food and Chemical Toxicology.* 1991;29(12):845-49. doi:10.1016/0278-6915(91)90112-K
- Ballal NV, Rao BN, Mala K, Bhat KS, Rao BSS. Assessment of genotoxic effect of maleic acid and EDTA: a comparative *in vitro* experimental study. *Clin Oral Invest.* 2013;17:1319-27. doi:10.1007/s00784-012-0818-x

**Нечипуренко О. О.^{1,2}, Фуртат І. М.¹, Вакулюк П. В.¹,
Лемешко В. М.³, Вортман М. Я.³, Шевченко В. В.³**

¹ Національний університет «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

² Laboratorios Hipra, S.A., Київ, Україна

³ Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЯК КОМПОНЕНТІВ ДЛЯ СТВОРЕННЯ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАСОБІВ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДІЇ

Мета. Поряд із використанням антибіотиків застосування дезінфектантів має вирішальне значення в боротьбі з мультирезистентними штамами бактерій, небезпечними не лише для тварин, а й для людини. З огляду на це метою роботи було оцінити ефективність ПАР як сполук для створення дезінфекційних засобів широкого спектра дії. **Методи.** Дезінфікувальну дію досліджених катіонних, аніонних та нейоногенних ПАР щодо представників грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також грибів вивчали щодо штамів *Staphylococcus aureus* ССМ 209, *Escherichia coli* ВЕ та *Candida albicans* УКМ У-690. Біоцидну активність визначали суспензійним методом Gould шляхом підрахунку клітин, що вижили після обробки дослідженими ПАР та композиціями, створеними на їхній основі, за концентрацій у діапазоні 10000–0,1 ppm. Мутагенну активність сполук вивчали в тесті Еймса щодо тест-штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100. **Результати.** Композиції з гуанідиновмісним олігомером найефективніше пригнічували *S. aureus* та *C. albicans*. За концентрації 1000 і 100 ppm спостерігалася 100 % загибель клітин цих штамів. Біоцидний ефект щодо представників грамнегативних бактерій був дещо слабшим, що потрібно враховувати під час створення антимікробних засобів, зокрема активних щодо патогенних штамів *E. coli*. Спектр дії та дезінфікувальна здатність досліджених у роботі композицій залежали від складу компонентів, які використовували для їхнього створення. Також показано, що більшості ПАР, вивчених у роботі, які використовували для створення антимікробних композицій, не була притаманна мутагенна активність. **Висновки.** На прикладі досліджених композицій різного хімічного складу, створених на основі гуанідиновмісного олігомеру, показано перспективність його застосування як основного компонента дезінфікувальних засобів. Отже, розроблення та впровадження нових дезінфектантів, які могли б допомогти в боротьбі з мультирезистентними штамами бактерій, є невідокремною частиною комплексних програм контролю та профілактики поширених захворювань у тваринництві та медицині, зокрема колибактеріозу.

Ключові слова: аніонні, катіонні та нейоногенні поверхнево-активні речовини, бактерицидна та фунгіцидна дія, дезінфікувальні засоби, патогенні *E. coli*.

Матеріал надійшов 17.06.2024

Відомості про авторів Notes about authors

Нечипуренко Олексій Олександрович – кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри біології факультету природничих наук Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), спеціаліст з технічної підтримки Laboratorios Hipra, S.A., Київ, Україна

Nechypurenko Oleksii – PhD in Biology, Senior Lecturer at the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Technical Support Specialist at Laboratorios Hipra, S.A., Kyiv, Ukraine

Фуртат Ірина Михайлівна – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології факультету природничих наук Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Furtat Iryna – PhD in Biology, Associate Professor at the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-0681-2889>

e-mail: furtat@ukma.edu.ua

Вакулюк Поліна Василівна – доктор технічних наук, професор кафедри хімії факультету природничих наук Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Vakuliuk Polina – DSc in Technical Sciences, Professor at the Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-7828-1349>

e-mail: vakuliuk@ukma.edu.ua

Лемешко Валентина Миколаївна – молодший науковий співробітник Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна

Lemeshko Valentyna – Junior Researcher at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-1916-2301>

Вортман Марина Яківна – кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна

Vortman Maryna – PhD in Chemistry, Senior Researcher at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-0092-6009>

Шевченко Валерій Васильович – професор, доктор хімічних наук, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу хімії олігомерів і сітчастих полімерів Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна

Shevchenko Valery – DSc in Chemistry, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Head of the Department of Oligomer and Network Polymer Chemistry at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-2100-4468>



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.27-35

УДК 633.11:575:591.151

Созінова О. І.^{1,2}, Блюм Я. Б.²

¹ Інститут захисту рослин НААН, Україна

² Державна установа «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Україна

АНАЛІЗ ОДНОНУКЛЕОТИДНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ У ПОСЛІДОВНОСТЯХ ГЕНІВ *Pina* ТА *Pinb* ДИПЛОЇДНИХ ПШЕНИЦЬ *Triticum monococcum* І *T. urartu*

Пуруіндоліни (пуруіндолін а і пуруіндолін б) – низькомолекулярні білки, що визначають текстуру ендосперму зерна видів триб *Triticeae* та *Avena*. Метою цієї роботи був аналіз однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) кодуєчих послідовностей генів *Pina* та *Pinb* диплоїдних пшениць *Triticum monococcum* (*A^mA^m*) і *T. urartu* (*AA*) з бази даних NCBI порівняно з референсними послідовностями сорту пшениці м'якої *Chinese Spring* (*CS*).

З бази даних NCBI було відібрано 62 послідовності гена пуруіндоліну а *T. monococcum* (*Pina-A^m1*), 22 послідовності *Pina* *T. urartu* (*Pina-A1*), 32 послідовності гена пуруіндоліну б *T. monococcum* (*Pinb-A^m1*) і 13 послідовностей *Pinb* *T. urartu* (*Pinb-A1*). Як референсні послідовності використовували послідовності гена пуруіндоліну а (алель *Pina-D1a*) *DQ363911.1* сорту *CS* та гена пуруіндоліну б (алель *Pinb-D1a*) *DQ363913.1* *CS* з бази даних NCBI. Послідовності вирівнювали з використанням програми MEGA 11. Всього в загальній вибірці 84 послідовностей *Pina* диплоїдних пшениць ідентифіковано 34 SNP (13 синонімічних відмінностей, 21 несинонімічних, з яких 15 призводять до радикальних амінокислотних замін, 6 – до консервативних), частина з яких спостерігалась у всіх послідовностях, а частина були поодинокими. Серед 45 послідовностей *Pinb* трапляється 36 SNP, але, на відміну від гена *Pina*, тут переважали синонімічні заміни (22); 7 замін призводили до радикальних амінокислотних замін та ще 7 – до консервативних. Заміни в послідовностях пуруіндолінових генів відносно генів *CS* можна розподілити на фіксовані в обох видів диплоїдних пшениць, ті, що фіксовані в *T. urartu* і за якими є поліморфізм у *T. monococcum*, та специфічні для кожного виду. Виявлено істотні відмінності в частотах трапляння альтернативних нуклеотидів у певних позиціях (81, 318, 322 і 384 *Pina* та 135 і 359 *Pinb*) у дикорослої пшениці *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* і культивованої однозернянки *T. monococcum* ssp. *monococcum*.

Ключові слова: пуруіндолін, *Triticum monococcum* ssp. *aegilopoides*, *T. monococcum* ssp. *monococcum*, *T. urartu*, SNP, радикальні амінокислотні заміни, консервативні амінокислотні заміни.

Вступ

Однією з головних ознак якості зерна пшениці м'якої *Triticum aestivum* L. (геномна формула AABBDD) є текстура ендосперму, за якою сорти поділяють на твердозерні та м'яззерні [1-3]. Рівень твердозерності [4] визначається локусом *Ha* на хромосомі 5D, а саме алелями генів пуруіндоліну а (*Pina-D1*) і пуруіндоліну б (*Pinb-D1*) [1,5]. Пуруіндоліни – основні білки з молекулярною масою 13 кДа, які мають 10 цистеїнових залишків та триптофан-багатий домен [6], пов'язаний

з антимікробними властивостями цих білків [7]. Довжина кодуєчої послідовності пуруіндолінових генів – 450 п.н. (447 + стоп-кодон). Подібно до проламінових генів вони також не містять інтронів [6]. Пуруіндоліни синтезуються з N-термінальним сигнальним пептидом, який відщеплюється при їх переході в ендоплазматичний ретикулум, також ще додатково відщеплюються фрагменти з N- і C-кінців [6]. У локусі *Ha* також міститься ген, що кодує білок GSP-1 (grain softness protein), пов'язаний з м'язозерністю, хоча для

нього впливу на текстуру зерна не показано [8,9]. У *T. aestivum* і *T. turgidum* (AABB) гени пуруіндолінів відсутні на хромосомах 5A і 5B [10] через великі геномні делеції [11], тоді як ген *Gsp-1* там присутній [9]. Гени *Pina-1* та *Pinb-1* є на хромосомі 5A^m пшениці-одnozернянки *T. monococcum* (A^mA^m) [10,12], 5A *T. urartu* (AA), 5A *T. timopheevii* (AAA^mA^mGG), проте відсутні в G геномі цього виду [13]. У *T. zhukovskiyi* (AAA^mA^mGG) гени *Pina-1* та *Pinb-1* присутні лише на хромосомі 5A^m [13].

Загалом, за винятком *T. turgidum*, пуруіндолінові гени *Pina* та *Pinb* або відповідні індолінові гени (гордоіндолінів у ячменю, секалоіндолінів у жита, авеноіндолінів та вроміндолінів у вівса) [14] присутні у видів злаків з триб Triticeae та Avenae (Poae), для яких характерна м'яка текстура ендосперму: егілопсів, ячменю, жита, вівса, видів роду *Elymus*, *Agropyron* та ін. [10,13,15,16]. Вважається, що предковий пуруіндоліновий ген виник як новий проламіновий ген у спільного предка підродин Pooideae та Oryzoideae (syn. Ehrhartoideae) після їх відділення від Panicoideae та був втрачений у Oryzoideae [15]. Тому пуруіндоліни зараховують до надродини проламінів, яка містить власне проламіни (гліадини і глютеніни), білки-переносники ліпідів, інгібітори екзогенних α -амілаз і трипсину та α -глобуліни [14].

До диплоїдних пшениць належать два види – *T. monococcum* та *T. urartu* [17]. *T. monococcum* має два підвиди: *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* – дикоросла пшениця, яка є предковою формою domestикованого (культивованого) підвиду *T. monococcum* ssp. *monococcum*. *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* поширений у північно-східному Середземномор'ї та в західній Азії. Інший вид, *T. urartu*, який є донором геному A *T. turgidum* і, відповідно, *T. aestivum* – дикорослий вид, ареал якого збігається з ареалом *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* (Вірменія, південно-східна Туреччина, північ Іраку, північно-західна частина Ірану) [17]. Пшениця-одnozернянка характеризується як екстрим'якозерна [18,19]. Синтетичні гексаплоїди від міжвидового схрещення між *T. durum* і *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* є м'якозерними [20]. Секвенування пуруіндолінових генів диплоїдних пшениць було проведено в багатьох дослідженнях [12,13,21-23], а послідовності цих генів можна знайти в базі даних NCBI (National Center for Biotechnology Information). Метою нашої роботи був аналіз однострункових поліморфізмів (SNP) кодуючих послідовностей генів *Pina* та *Pinb* *T. monococcum* і *T. urartu* з бази даних NCBI порівняно з референсними послідовностями дикого типу сорту пшениці м'якої Chinese Spring.

Матеріали і методи

З бази даних NCBI було відібрано такі послідовності генів *Pina* і *Pinb* диплоїдних пшениць. Послідовності гена *Pina* *T. monococcum*: EU329377.1, EU329376.1, EU329375.1, EU329374.1, EU329371.1, EU329369.1, EU329367.1, EU307592.1, EU307591.1, EU329372.1, EU329368.1, EU329373.1, EU329370.1, EU329366.1, EU329365.1, AY622786.1, EU329362.1, EU329360.1, EU329359.1, EU329350.1, EU329348.1, EU329344.1, EU329347.1, AJ302092.1, EU329364.1, EU329363.1, EU329361.1, EU329358.1, EU329357.1, EU329356.1, EU329355.1, EU329354.1, EU329352.1, EU329353.1, EU329351.1, EU329349.1, EU329346.1, EU329345.1, EU329343.1, EU329342.1, EU329341.1, EU329340.1, EU329339.1, EU329338.1, EU329337.1, EU329336.1, FJ898231.1, AJ302093.1, HQ696585.1, HQ696587.1, HQ696586.1, EU268473.1, EU307585.1, AJ242715.2, AJ249933.1, DQ269824.1, DQ269823.1, DQ269822.1, DQ269821.1, DQ269820.1, DQ269819.1, DQ269825.1. Послідовності гена *Pinb* *T. monococcum*: AY622798.1, AY622797.1, AY622799.1, EU268487.1, EF382940.1, EF382939.1, EF382936.1, EF382935.1, EF382934.1, EF382933.1, EF382932.1, EF382931.1, EF382930.1, EF382929.1, EF382928.1, HQ696594.1, HQ696593.1, HQ696592.1, HQ696591.1, HQ696590.1, FJ898262.1, EU307611.1, EU307610.1, EU307608.1, AJ302102.1, AJ302101.1, DQ269857.1, DQ269856.1, DQ269855.1, DQ269854.1, DQ269853.1, DQ269852.1. Послідовності гена *Pina* *T. urartu*: EU268495.1, EU329391.1, EU329390.1, EU329389.1, EU329387.1, EU329386.1, EU329385.1, EU329384.1, EU329383.1, EU329382.1, EU329381.1, EU329380.1, EU329379.1, EU329378.1, HQ696584.1, EU307590.1, EU307589.1, AJ302094.1, AJ302095.1, DQ269828.1, DQ269827.1, DQ269826.1. Послідовності гена *Pinb* *T. urartu*: EU268479.1, EF382938.1, EF382937.1, HQ696589.1, HQ696588.1, EU307613.1, EU307612.1, AJ302104.1, AJ302103.1, DQ269861.1, DQ269860.1, DQ269859.1, DQ269858.1.

Як референсну послідовність використовували послідовність гена пуруіндоліну a (алель *Pina-D1a*) DQ363911.1 сорту Chinese Spring (CS) та гена пуруіндоліну b (алель *Pinb-D1a*) DQ363913.1 CS з бази даних NCBI. Послідовності вирівнювали з використанням програми MEGA 11 [24]. Аналізували SNP (відмінності від референсної послідовності, які для зручності ще називали «заміни») лише в кодуючих послідовностях. Для характеристики нуклеотидних і амінокислотних замін використовували класифікацію, наведену в [25]. Для аналізу відмінностей частот використовували критерій χ^2 .

Результати і обговорення

З бази даних NCBI було відібрано 62 послідовності гена пуруіндоліну a *T. monococcum*

(*Pina-A^m1*) і 22 послідовності *T. urartu* (*Pina-A1*). Вирівнювання послідовностей дало змогу охарактеризувати відмінності в певних позиціях нуклеотидів (SNP) порівняно з референсною послідовністю гена сорту CS (алель *Pina-D1a*, який називають алелем «дикого типу») (табл. 1). Всього в загальній вибірці 84 послідовностей було ідентифіковано 34 SNP (13 синонімічних відмінностей, 21 несинонімічних, з яких 15 призводять до радикальних амінокислотних замін, 6 – до консервативних), частина з яких спостерігалась у всіх послідовностях, а частина були поодинокими. Всі послідовності *Pina T. monococcum* і *T. urartu* мали відмінності у 5 позиціях: 24 (A→C), 70 (G→A), 121 (G→C), 230 (A→T), 257 (G→A). Заміна в позиції 24 є синонімічною, несинонімічні заміни в позиціях 70 і 121 є консервативними (Val→Ile та Val→Leu, відповідно), тоді як заміни в позиціях 230 та 257 призводять до радикальної заміни амінокислот (Gln→Leu та Arg→Gln, відповідно). За позиціями 318 і 322 заміни T→C і G→A, з яких друга призводить до радикальної заміни Gly→Ser, присутні у всіх послідовностях *T. urartu* та в близько половини послідовностей *T. monococcum*. Ще три синонімічні заміни в позиціях 81, 249 і 384 трапляються тільки в майже половини зразків *T. monococcum*. Вказані тут позиції збігаються з SNP, ідентифікованими в дослідженнях Guzman et al. [23] під час аналізу 21 зразка *T. monococcum* та 7 зразків *T. urartu*.

Порівняння частот трапляння альтернативних нуклеотидів у позиціях 81, 318, 322 і 384 показало істотні відмінності в дикій і культивованій однозернянок (табл. 2). Заміна в позиції 81 частіше трапляється в підвиді *aegilopoides*, тоді як заміни в позиціях 318, 322 і 384 більш характерні для культивованого підвиду. Однак лише одна з цих замін (322) призводить до амінокислотної заміни.

Крім замін, що є фіксованими або трапляються з високою частотою, серед послідовностей гена *Pina* є низка рідкісних замін, які містяться в певних позиціях лише в одній послідовності гена *Pina* (табл. 1). Переважну більшість таких SNP ідентифіковано Chen et al. [22]. У *T. monococcum* виявлено 15 рідкісних замін, із них 5 синонімічних і 10 несинонімічних, що призводять до 8 радикальних і 2 консервативних амінокислотних замін. У *T. urartu* трапляються 8 поодиноких замін, серед яких 3 синонімічні, 4 призводять до радикальних амінокислотних замін, 1 – до консервативної. Співвідношення різних видів рідкісних замін є подібним у двох видів диплоїдних пшениць ($\chi^2 = 0,1$). Таке саме співвідношення зберігається і в результаті аналізу загальної кількості нуклеотидних замін у послідовностях (10 синонімічних, 11 радикальних, 5 консервативних у *T. monococcum*, 5, 8 і 3,

відповідно, у *T. urartu*). Низька частота таких замін вказує на відносно недавнє виникнення таких мутацій. Зразки з радикальними амінокислотними замінами є потенційним джерелом пуринолінів з новими властивостями.

Для аналізу замін у гені *Pinb* проведено вирівнювання 32 послідовностей *T. monococcum* (*Pinb-A^m1*) і 13 послідовностей *T. urartu* (*Pinb-A1*). Серед них позицій із замінами було 36, але, на відміну від гена *Pina*, тут переважали синонімічні заміни (22); замін, які приводили до радикальних і консервативних амінокислотних замін, було по 7 кожного типу (табл. 3). У всіх проаналізованих послідовностях *Pinb* диплоїдних пшениць обох видів було зафіксовано заміни у 22 позиціях: 96, 98, 120, 125, 171, 201, 228, 237, 259, 285, 294, 306, 307, 310, 323, 339, 342, 357, 370, 411, 423, 426. Синонімічна заміна в позиції 24 (T→C) присутня у всіх послідовностях *T. urartu* та в половини послідовностей *T. monococcum*. В однозернянок спостерігається поліморфізм у позиціях 135, 243, 359, де достатньо висока частота послідовностей із заміною, якої немає у *T. urartu*. У свою чергу, лише в *T. urartu* поліморфними є позиції 210, 290 та зафіксована заміна в позиції 75, і вони є синонімічними. Заміни в позиціях 135 і 359 частіше трапляються в дикого підвиду, ніж у культивованого (табл. 2). Якщо перша заміна є синонімічною, то друга є консервативною (Val→Ala). Переважну кількість замін у *Pinb* описано Guzman et al. [23] у процесі аналізу послідовностей 28 зразків диплоїдних пшениць. Додатково серед наявних у базі NCBI послідовностей є рідкісні заміни в позиціях 10 (T→A), 196 і 410 (G→A). Загалом, за співвідношенням різних типів замін у гені *Pinb* обидва види диплоїдних пшениць практично не відрізняються.

Отже, заміни в послідовностях пуринолінових генів можна розподілити на фіксовані в обох видів, фіксовані в *T. urartu* і ті, за якими є поліморфізм у *T. monococcum*, та специфічні для кожного виду. Крім того, для обох видів співвідношення трьох типів замін відрізняється для генів *Pina* та *Pinb* ($\chi^2 = 13,6$, $P < 0,01$). За розрахунками Guzman et al. [23], нуклеотидна різноманітність *Pina* є значно нижчою, ніж очікуване значення за тестом на нейтральність, на відміну від *Pinb*, що, на думку цих авторів, свідчить про різні селективні обмеження в еволюції цих генів. Massa and Moris [21] серед сайтів гена *Pina*, що підлягали позитивному добору, виділили сайти 121 (V→L) і 230 (Q→L) і також не виявили дії позитивного добору на ген *Pinb*. Такі відмінності автори пояснюють можливою більш високою антимікробною активністю пуриноліну а, чий триптофановий домен містить більше залишків

Таблиця 1

Відмінності в послідовності гена пуруіндоліну а *Pina T. monococcum (T.mon)* і *T. urartu (Tur)* від референсної послідовності сорту Chinese Spring (CS) та відмінності в амінокислотній послідовності

N	Позиція в гені <i>Pina</i>	CS	<i>T.mon/ Tur</i>	Позиція в кодоні	Кількість зразків <i>T.mon</i> із заміною	Частота у <i>T.mon</i>
1	11	t	c	2	1	0,016
2	24	a	c	3	62	1,000
3	56	c	a	2	1	0,016
4	70	g	a	1	62	1,000
5	81	t	c	3	28	0,452
6	121	g	c	1	62	1,000
7	158	t	g	2		
8	161	a	g	2		
9	164	g	a	2	1	0,016
10	182	a	g	2	1	0,016
11	213	g	c	3	1	0,016
12	222	a	c	3	1	0,016
13	230	a	t	2	62	1,000
14	249	t	c	3	25	0,403
15	253	a	g	1	1	0,016
16	257	g	a	2	62	1,000
17	273	a	g	3	1	0,016
18	283	c	t	1	1	0,016
19	318	t	c	3	33	0,532
20	322	g	a	1	37	0,597
21	348	t	c	3		
22	358	a	g	1		
23	362	t	c	2		
24	372	a	g	3	1	0,016
25	380	a	c	2		
26	384	g	a	3	32	0,516
27	392	g	a	2	3	0,048
28	409	c	t	1	1	0,016
29	410	c	t	2	1	0,016
30	415	a	g	1		
31	416	a	t	2	1	0,016
32	418	a	g	1	1	0,016
33	421	c	t	1	1	0,016
34	441	c	a	3		

триптофану. Водночас результати досліджень Kim et al. [26] свідчать про кооперативну дію пуруіндоліну а і b для запобігання розпаду полярних ліпідів у процесі дозрівання зерна. Також було показано взаємодію пуруіндолінів із власне проламінами [27,28], зокрема вплив пуруіндоліну а на агрегацію проламінів у процесі розвитку зерна [29], що, у свою чергу, може визначати різне адаптивне значення певних замін, і як результат – пуруіндолінових алелів.

Висновки

У результаті аналізу послідовностей пуруіндолінових генів *T. monococcum* і *T. urartu* з бази даних NCBI загалом ідентифіковано 34 SNP

у гені *Pina* і 36 у гені *Pinb*, частина з яких були рідкісними, та охарактеризовано частоту їх трапляння в обох видів. Встановлено відмінності в частотах трапляння альтернативних нуклеотидів у певних позиціях (81, 318, 322 і 384 *Pina* та 135 і 359 *Pinb*) у дикої і культивованої однозернянок. Гени *Pina* та *Pinb* відрізняються за співвідношенням синонімічних, консервативних і радикальних замін. Отже, виявлені зразки диплоїдних пшениць із несинонімічними замінами в пуруіндолінових генах можуть слугувати джерелом білків із новими властивостями для розширення генофонду пшениці м'якої щодо ознак м'якозерності та антимікробних властивостей пуруіндолінів.

Продовження табл. 1

N	Кількість зразків <i>Tur</i> із заміною	Частота у <i>Tur</i>	Позиція в амінокислотній послідовності	CS	<i>T.mon/Tur</i>	Характер заміни*
1			4	L	P	рад
2	22	1,000	8	G	G	
3			19	A	E	рад
4	22	1,000	24	V	I	конс
5			27	S	S	
6	22	1,000	41	V	L	конс
7	1	0,045	53	L	R	рад
8	1	0,045	54	D	G	рад
9			55	R	Q	рад
10			61	D	G	рад
11			71	W	C	рад
12			74	G	G	
13	22	1,000	77	Q	L	рад
14			83	C	C	
15			85	S	G	рад
16	22	1,000	86	R	Q	рад
17			91	P	P	
18			95	R	K	конс
19	22	1,000	106	D	D	
20	22	1,000	108	G	S	рад
21	1	0,045	116	D	D	
22	1	0,045	120	K	E	рад
23	1	0,045	121	V	A	конс
24			124	E	E	
25	1	0,045	127	N	T	рад
26			128	L	L	
27			131	R	K	конс
28			137	P	F	рад
29			137	P	P	
30	1	0,045	139	N	I	рад
31			139	N	I	рад
32			140	I	V	конс
33			141	P	P	
34	1	0,045	147	Y	Y	

* рад – радикальна; конс – консервативна.

Таблиця 2

Відмінності в частоті трапляння нуклеотидів у певних позиціях гена *Pina* і *Pinb* у дикої і культурної однозернянок

Ген	SNP	subsp. <i>aegilopoides</i>	subsp. <i>monococcum</i>	χ^2	P
<i>Pina</i>	81T	6	25	7,7	0,006
	81C	13	11		
	318T	13	11	7,7	0,006
	318C	6	26		
	322G	13	9	10,2	0,001
	322A	6	28		
	384G	15	11	12,23	0,0005
384A	4	26			
<i>Pinb</i>	135G	4	12	10,4	0,001
	135A	9	1		
	359T	2	9	7,7	0,006
	359C	11	4		

Таблиця 3

Відмінності в послідовності гена пуроіндоліну в *Pinb* *T. monocossum* (*T.mon*) і *T. urartu* (*T.ur*) від референсної послідовності сорту Chinese Spring (CS) та відмінності в амінокислотній послідовності

N	Позиція в гені <i>Pinb</i>	CS	<i>T.mon</i> / <i>T.ur</i>	Позиція в кодоні	Кількість зразків <i>T.mon</i> із заміною	Частота у <i>T.mon</i>
1	10	T	A	1	1	0,031
2	24	T	C	3	16	0,500
3	75	C	T	3		
4	85	A	G	1	3	0,094
5	96	C	T	3	32	1,000
6	98	G	C	2	32	1,000
7	120	T	C	3	32	1,000
8	125	A	T	2	32	1,000
9	135	G	A	3	12	0,375
10	159	C	T	3	3	0,094
11	171	A	G	3	32	1,000
12	196	G	A	1	1	0,031
13	201	C	T	3	32	1,000
14	210	A	G	3		
15	228	C	T	3	32	1,000
16	237	T	C	3	32	1,000
17	243	T	C	3	25	0,781
18	259	A	C	1	32	1,000
19	285	A	G	3	32	1,000
20	290	G	T	2		
21	294	T	C	3	32	1,000
22	306	G	A	3	32	1,000
23	307	C	G	1	32	1,000
24	310	G	A	1	32	1,000
25	323	G	A	2	32	1,000
26	339	G	C	3	32	1,000
27	342	C	A	3	32	1,000
28	357	G	T	3	32	1,000
29	359	T	C	2	18	0,563
30	370	C	A	1	32	1,000
31	410	G	A	2	1	0,031
32	411	C	A	3	32	1,000
33	414	C	T	3	1	0,031
34	423	G	A	3	32	1,000
35	424	T	C	1	3	0,094
36	426	C	A	3	32	1,000

Продовження табл. 3

N	Кількість зразків <i>T.ur</i> із заміною	Частота у <i>T.ur</i>	Позиція в амінокислотній послідовності	CS	<i>T.mon/T.ur</i>	Характер заміни*
1			4	L	I	конс
2	13	1,000	8	A	A	
3	13	1,000	25	G	G	
4			29	N	D	конс
5	13	1,000	32	G	G	
6	13	1,000	33	G	A	конс
7	13	1,000	40	C	C	
8	13	1,000	42	Q	L	рад
9			45	P	P	
10			53	Y	Y	
11	13	1,000	57	R	R	
12			66	V	V	
13	13	1,000	67	T	T	
14	5	0,385	70	T	T	
15	13	1,000	76	G	G	
16	13	1,000	79	H	H	
17			81	V	V	
18	13	1,000	87	K	Q	рад
19	13	1,000	95	Q	Q	
20	4	0,308	97	R	R	
21	13	1,000	98	C	C	
22	13	1,000	102	R	R	
23	13	1,000	103	R	G	рад
24	13	1,000	104	V	M	рад
25	13	1,000	108	R	K	конс
26	13	1,000	113	L	F	рад
27	13	1,000	114	G	G	
28	13	1,000	119	E	D	конс
29			120	V	A	конс
30	13	1,000	124	L	I	конс
31			137	G	E	рад
32	13	1,000	137	G	G	
33			138	A	A	
34	13	1,000	141	K	K	
35			142	F	L	рад
36	13	1,000	142	F	F	

* рад – радикальна; конс – консервативна.

References

1. Pauly A, Pareyt B, Fierens E, Delcour JA. Wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. turgidum* L. ssp. *durum*) kernel hardness: I. Current view on the role of puroindolines and polar lipids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2013;12(4):413-26. doi:10.1111/1541-4337.12019
2. Shewry P. Wheat grain proteins: Past, present, and future. *Cereal Chemistry*. 2023;100(1):9-22. doi:10.1002/cche.10585
3. Rai A, Han SS. Recent developments on the contribution of glutenin and puroindoline proteins to improve wheat grain quality. *Cereal Chemistry*. 2023;100(1). doi:10.1002/cche.10607
4. Morris CF. Puroindolines: The molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Molecular Biology*. 2002;48(5-6):633-47. doi:10.1023/a:1014837431178
5. Turnbull KM, Turner M, Mukai Y, Yamamoto M, Morell MK, Rahman S, et al. The organization of genes tightly linked to the *Ha* locus in *Aegilops tauschii*, the D-genome donor to wheat. *Genome*. 2003;46(2):330-338. doi:10.1139/g02-124
6. Gautier MF, Aleman ME, Guirao A, Marion D, Joudrier P. *Triticum aestivum* puroindolines, two basic cysteine-rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. *Plant Mol Biol*. 1994;25(1):43-57. doi:10.1007/BF00024197
7. Morris CF. The antimicrobial properties of the puroindolines, a review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019;35(6):86. doi:10.1007/s11274-019-2655-4
8. Elmorjani K, Geneix N, Dalgalarondo M, Branlard G, Marion D. Wheat grain softness protein (Gsp1) is a puroindoline-like protein that displays a specific post-translational maturation and does not interact with lipids. *Journal of Cereal Science*. 2013;58(1):117-22. doi:10.1016/j.jcs.2013.03.012
9. Morris CF, Geng H, Beecher BS, Ma D. A review of the occurrence of *Grain softness protein-1* genes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Molecular Biology*. 2013;83(6):507-521. doi:10.1007/s11103-013-0110-8
10. Gautier MF, Cosson P, Guirao A, Alary R, Joudrier P. Puroindoline genes are highly conserved in diploid ancestor wheats and related species but absent in tetraploid *Triticum* species. *Plant Science*. 2000;153(1):81-91. doi:10.1016/S0168-9452(99)00258-7
11. Chantret N, Salse J, Sabot F, Rahman S, Bellec A, Laubin B, et al. Molecular basis of evolutionary events that shaped the hardness locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *Aegilops*). *Plant Cell*. 2005;17(4):1033-45. doi:10.1105/tpc.104.029181
12. Tranquilli G, Lijavetzky D, Muzzi G, Dubcovsky J. Genetic and physical characterization of grain texture-related loci in diploid wheat. *Molecular and General Genetics*. 1999;262(4-5):846-50. doi:10.1007/s004380051149
13. Li W, Huang L, Gill BS. Recurrent deletions of puroindoline genes at the grain hardness locus in four independent lineages of polyploid wheat. *Plant Physiol*. 2008 Jan;146(1):200-12. doi:10.1104/pp.107.108852
14. Morris CF, Luna J, Caffè-Treml M. The Vromindolines of cv. Hayden oat (*Avena sativa* L.) – A review of the Poeae and Triticeae indolines and a suggested system for harmonization of nomenclature. *Journal of Cereal Science*. 2021;97:103135. doi:10.1016/j.jcs.2020.103135
15. Charles M, Tang H, Belcram H, Paterson A, Gornicki P, Chalhou B. Sixty million years in evolution of soft grain trait in grasses: Emergence of the softness locus in the common ancestor of poeidae and Ehrhartoideae, after their divergence from Panicoideae. *Molecular Biology and Evolution*. 2009;26(7):1651-61. doi:10.1093/molbev/msp076
16. Wilkinson MD, King R, Grimaldi R. Sequence diversity and identification of novel puroindoline and grain softness protein alleles in *Elymus*, *Agropyron* and related species. *Diversity*. 2018;10(4):114. doi:10.3390/d10040114
17. Feldman M, Levy AA. *Triticum* L. In: *Wheat Evolution and Domestication*. Springer, Cham; 2023. doi:10.1007/978-3-031-30175-9_10
18. Taddei F, Gazza L, Conti S, Muccilli V, Foti S, Pogna NE. Starch-bound 2S proteins and kernel texture in einkorn, *Triticum monococcum* ssp. *monococcum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2009;119(7):1205-12. doi:10.1007/s00122-009-1121-3
19. Kulathunga J, Reuhs BL, Zwinger S, Simsek S. Comparative study on kernel quality and chemical composition of ancient and modern wheat species: Einkorn, emmer, spelt and hard red spring wheat. *Foods*. 2021;10(4):761. doi:10.3390/foods10040761
20. Michikawa A, Okada M, Ikeda TM, Nagaki K, Yoshida K, Takumi S. Phenotypic effects of A^m genomes in nascent synthetic hexaploids derived from interspecific crosses between durum and wild einkorn wheat. *PLoS ONE*. 2023;18(4):e0284408. doi:10.1371/journal.pone.0284408
21. Massa AN, Morris CF. Molecular evolution of the puroindoline-a, puroindoline-b, and grain softness protein-1 genes in the tribe Triticeae. *J Mol Evol*. 2006;63(4):526-536. doi:10.1007/s00239-005-0292-z
22. Chen Q, Qi PF, Wei YM, Wang JR, Zheng YL. Molecular characterization of the pina gene in einkorn wheat. *Biochem Genet*. 2009;47(5-6):384-96. doi:10.1007/s10528-009-9239-1
23. Guzmán C, Caballero L, Martín MA, Alvarez JB. Molecular characterization and diversity of the *Pina* and *Pinb* genes in cultivated and wild diploid wheat. *Mol Breeding*. 2012;30:69-78. doi:10.1007/s11032-011-9599-1
24. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 2021;38:3022-27. doi:10.1093/molbev/msab120
25. Zhang J. Rates of conservative and radical nonsynonymous nucleotide substitutions in mammalian nuclear genes. *Journal of Molecular Evolution*. 2000;50(1):56-68. doi:10.1007/s002399910007
26. Kim KH, Feiz L, Martin JM, Giroux MJ. Puroindolines are associated with decreased polar lipid breakdown during wheat seed development. *Journal of Cereal Science*. 2012;56(2):142-46. doi:10.1016/j.jcs.2012.02.011
27. Lesage VS, Bouchet B, Rhazi L, Elmorjani K, Branlard G, Marion D. New insight into puroindoline function inferred from their subcellular localization in developing hard and soft near-isogenic endosperm and their relationship with polymer size of storage proteins. *Journal of Cereal Science*. 2011;53:231-38. doi:10.1016/j.jcs.2011.01.002
28. Quayson ET, Marti A, Morris CF, Marengo M, Bonomi F, Seetharaman K, et al. Structural consequences of the interaction of puroindolines with gluten proteins. *Food Chemistry*. 2018;253:255-61. doi:10.1016/j.foodchem.2018.01.146
29. Geneix N, Dalgalarondo M, Tassy C, Nadaud I, Barret P, Bakan B, et al. Relationships between puroindoline A-prolamins interactions and wheat grain hardness. *PLoS ONE*. 2020;15(9):e0225293. doi:10.1371/journal.pone.0225293

O. Sozinova^{1,2}, Ya. Blume²¹ Institute of Plant Protection NAAS, Ukraine² Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine**ANALYSIS OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS
IN SEQUENCES OF *Pina* AND *Pinb* GENES OF
THE DIPLOID WHEATS *Triticum monococcum* AND *T. urartu*****Abstract**

Puroindolines (puroindoline a and puroindoline b) are low molecular weight proteins that determine the endosperm texture of grain in the tribes Triticeae and Avenae. The aim of our study was to analyse single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the coding sequences of the *Pina* and *Pinb* genes of the diploid wheats *Triticum monococcum* ($A^m A^m$) and *T. urartu* (AA) from the NCBI database in comparison with the reference sequences of the common wheat variety Chinese Spring (CS).

For this, 62 sequences of the *T. monococcum* puroindoline a gene (*Pina-A^m1*), 22 sequences of *T. urartu Pina* (*Pina-A1*), 32 sequences of the *T. monococcum* puroindoline b gene (*Pinb-A^m1*) and 13 sequences of *T. urartu Pinb* (*Pinb-A1*) were retrieved from the NCBI database. The sequences of the puroindoline a gene DQ363911.1 of the variety CS (the *Pina-D1a* allele) and the puroindoline b gene DQ363913.1 of CS (the *Pinb-D1a* allele) from the NCBI database were used as the reference sequences. The sequences were aligned using MEGA 11. In total, 34 SNPs (13 synonymous and 21 nonsynonymous differences, of which 15 result in radical amino acid substitutions and 6 in conservative ones) were identified in the total sample of 84 diploid wheat *Pina* sequences, some of which were observed in all sequences and some were rare. Among the 45 *Pinb* sequences, there were 36 SNPs, but, unlike the *Pina* gene, synonymous substitutions prevailed (22); 7 substitutions led to radical amino acid substitutions and 7 to conservative ones. Substitutions in the sequences of the puroindoline genes relative to the CS genes can be divided into those fixed in both diploid wheat species, those fixed in *T. urartu* and polymorphic in *T. monococcum*, and species-specific ones. Significant differences in the frequencies of alternative nucleotides at certain positions (81, 318, 322 and 384 of *Pina* and 135 and 359 of *Pinb*) were found between the wild einkorn wheat *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* and the cultivated wheat *T. monococcum* ssp. *monococcum*.

Keywords: puroindoline, *Triticum monococcum* ssp. *aegilopoides*, *T. monococcum* ssp. *monococcum*, *T. urartu*, SNPs, radical amino acid substitutions, conservative amino acid substitutions.

Матеріал надійшов 03.06.2024

**Відомості про авторів
Notes about authors**

Созінова Оксана Ігорівна – Інститут захисту рослин НААН, Державна установа «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Україна

Sozinova Oksana – Institute of Plant Protection NAAS, Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-0981-3433>

e-mail: sozinovaoksana1@gmail.com

Блюм Ярослав Борисович – академік НАН України, професор, доктор біологічних наук, Державна установа «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Україна

Blume Yaroslav – Academician of the National Academy of Sciences of Ukraine, Professor, Doctor of Biological Sciences, Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-7078-7548>

e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net



DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.36-41

УДК 612.119+57.086.833.4+616.411

Пахаренко М. В., Руссу І. З., Білько Д. І., Лагоднюк І. Ю., Білько Н. М.
Національний університет «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ РЕКОМБІНАНТНИХ ЦИТОКІНІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ГЕМОПОЕТИЧНИХ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ ПРИ МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНОМУ СИНДРОМІ *IN VITRO*

Популяції гемопоетичних клітин-попередників є найближчими нащадками стовбурових клітин. Саме на рівні цих клітин (гемопоетичних клітин-попередників) відбувається реалізація процесів проліферації та диференціювання. На відміну від стовбурових клітин, вони чутливі до дії цитокінів, які викликаються у разі нестачі клітин крові на периферії. Проте довгий час роль гемопоетичних клітин-попередників у реалізації патологічного процесу при порушеннях гемопоезу було недооцінено, вона виявилася вагомішою, ніж вважали раніше. Особливо це стосується мієлодиспластичного синдрому, який, незважаючи на назву, є клональним захворюванням, яке передують гострій лейкемії. Метою дослідження було визначення особливостей функціонування гемопоетичних клітин-попередників у нормі і порушеннях гемопоезу на ініціальних етапах злоякісного процесу МДС (МДС-ІВ) в умовах дії різних концентрацій цитокінів для оцінювання гемопоетичного потенціалу цих клітин. Вивчали їхню колонієутворювальну активність (КУО) пацієнтів двох груп – контрольної (10 осіб) і дослідної (20 осіб) у культурі *in vitro*. Виявилось, що КУО збільшується з підвищенням концентрації цитокінів і потребує вдвічі більшого стимулу у разі культивування гемопоетичних клітин від пацієнтів з МДС-ІВ. Оптимальною концентрацією в контролі для G-CSF, GM-CSF, IL-3 виявилася 20 нг/мл, а для клітин від пацієнтів з МДС-ІВ – 40 нг/мл. Доведено, що у разі використання комплексу цитокінів (GM-CSF, G-CSF, IL-3) колонієутворювальна здатність клітин-попередників від пацієнтів з МДС-ІВ значно зростає в порівнянні з такими показниками для цитокінів, що діяли окремо (28,7±3,2 до 18,3±1,8, 12,1±1,5 та 24,5±2,1 відповідно). У роботі розкрито прихований потенціал до проліферації клітин від пацієнтів з МДС-ІВ, що може бути використаним як в експериментальних дослідженнях, так і для створення протоколів лікування хворих на МДС в ініціальній стадії захворювання.

Ключові слова: мієлодиспластичний синдром, гемопоетичні клітини-попередники, рекомбінантні цитокіни, колонієутворювальна активність, культура *in vitro*.

Вступ

Гемопоез ссавців – це складна ієрархічна система безперервного оновлення кровотворних клітин, що ґрунтується на збалансованості процесів їхнього утворення і руйнування. У дорослих організмах більшість стовбурових клітин перебувають у стані G0 фази клітинного циклу. Завдяки цьому вони є стійкішими до пошкоджень ДНК [1,2] та можуть довго зберігатися

в гемопоетичних нішах, активуючись лише у разі потреби проліферації [3]. Ця особливість «сплячих» стовбурових клітин дає можливість зберегти «золотий запас» для відновлення після різних стресів.

Окрім стовбурових клітин, в організмі існує й інша популяція – гемопоетичні клітини-попередники. Саме на їхньому рівні відбувається реалізація процесів проліферації та диференціювання,

адже вони чутливі до дії цитокінів, які викидаються у разі нестачі клітин крові в кровотоці [3]. Роль гемопоетичних клітин-попередників було недооцінено в реалізації патологічного процесу при порушеннях гемопоезу, вона виявилася вагомішою, ніж вважали раніше. На мієлодиспластичний синдром із надлишком бластів (МДС-ІВ) припадає 40 % випадків МДС [4]. Причину виникнення МДС остаточно не визначено, але можна з впевненістю сказати, що це клональне захворювання зі змінами, які сталися завдяки мутаціям, що призвели до цитогенетичних порушень і охоплюють відділ стовбурової клітини [5,6]. Проте єдиного погляду щодо ролі гемопоетичних клітин-попередників, найближчих нащадків стовбурової клітини, і прогностичної цінності клональних культуральних методів досліджень при мієлодиспластичному синдромі (МДС) немає [7]. Попри думку, що мієлодиспластичний синдром є «захворюванням стовбурових клітин», наразі немає вагомих доказів на підтримку цього твердження. Крім того, ступінь ураження клітин у стовбурово-клітинному компартменті при МДС залишається невідомим.

Метою дослідження було визначення особливостей функціонування гемопоетичних клітин-попередників у нормі і порушеннях гемопоезу на ініціальних етапах злоякісного процесу МДС (МДС-ІВ) в умовах дії різних концентрацій цитокінів для оцінювання гемопоетичного потенціалу цих клітин.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження, представлені в роботі, спрямовано на визначення особливостей функціонування гемопоетичних клітин-попередників у нормі і порушеннях гемопоезу на ініціальних етапах злоякісного процесу – мієлодиспластичного синдрому (МДС). У роботі було проведено аналіз функціональної активності клітин-попередників 20 пацієнтів з МДС-ІВ (11 чоловіків і 9 жінок) у момент маніфестації процесу до лікування (дослідна група) і 10 осіб, у яких при стернальній діагностичній пункції не виявлено онкогематологічної патології (контрольна група). Діагноз встановлено відповідно до сучасної класифікації ВООЗ пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин [8-10]. У дослідження було залучено тільки пацієнтів із вперше виявленим МДС.

Усі пацієнти дали інформовану згоду на використання свого матеріалу з дослідницькою метою відповідно до національних протоколів лікування та збору біологічного матеріалу під

час лікування. Діагностичну стернальну пункцію пацієнтам проводили медичні працівники Інституту гематології та трансфузіології НАМН України у період з 2018 по 2021 рік. Діагноз було встановлено на підставі обов'язкових лабораторних досліджень за міжнародною класифікацією хвороб (з уточненням від 2016 року).

Перед культивуванням проводили розрахунки кількості клітин для постановки експерименту у 24-лунковому планшеті. В одну лунку об'ємом 500 мкл вносили суспензію такого складу: живильне середовище DMEM, із 9 % FBS, 1 % L-глутаміну (2мМ) та з антибіотиками пеніциліном і стрептоміцином; ростові фактори згідно із завданнями експериментів і агар у концентрації 0,33 %; клітинна суспензія. Для достовірності отриманих результатів дослідження проводили у 3 повторах, тобто використовували 3 лунки. У пусті лунки по периметру вносили по 500 мкл розчину PBS для створення вологості. Культивування клітин кісткового мозку відбувалось у термостаті протягом 14 діб в умовах присутності 5 % вуглекислого газу, за абсолютної вологості і 37 °С.

Результати

Для визначення оптимальних концентрацій факторів росту гранулоцитарно-макрофагального (GM-CSF), гранулоцитарного (G-CSF) і інтерлейкіну-3 (IL-3) для культивування кісткового мозку спочатку дослідили кістковий мозок осіб контрольної групи. Культивування проводили з поступовим збільшенням концентрації цих трьох факторів. Мінімальною ефективною концентрацією вважали ту, за якої з'являлися перші агрегати гемопоетичних клітин. Ця концентрація становила 2,5 нг/мл на 1×10^5 експлантованих клітин. За цієї концентрації кількість колоній (агрегатів понад 40 клітин) на 14-й день культивування становила $6,0 \pm 1,2$, $5,3 \pm 0,8$ і $8,5 \pm 1,5$ для GM-CSF, G-CSF та IL-3, відповідно. Далі концентрацію факторів росту подвоювали до 5 нг/мл. Це призвело до значного зростання колонієутворення: $12,0 \pm 2,5$, $10,3 \pm 1,5$ і $14,1 \pm 2,3$ колоній для GM-CSF, G-CSF та IL-3, відповідно. За концентрації 10 нг/мл кількість КУО-ГМ (колонієутворювальних одиниць гранулоцитарно-макрофагальних) становила $22,1 \pm 2,8$, $20,6 \pm 2,5$ і $27,5 \pm 3,2$ для GM-CSF, G-CSF та IL-3, відповідно. Оптимальною концентрацією було визначено 20 нг/мл, за якої кількість колоній становила $38,3 \pm 3,5$, $34,0 \pm 4,3$ і $42,5 \pm 5,4$ для GM-CSF, G-CSF та IL-3, відповідно (рисунок).

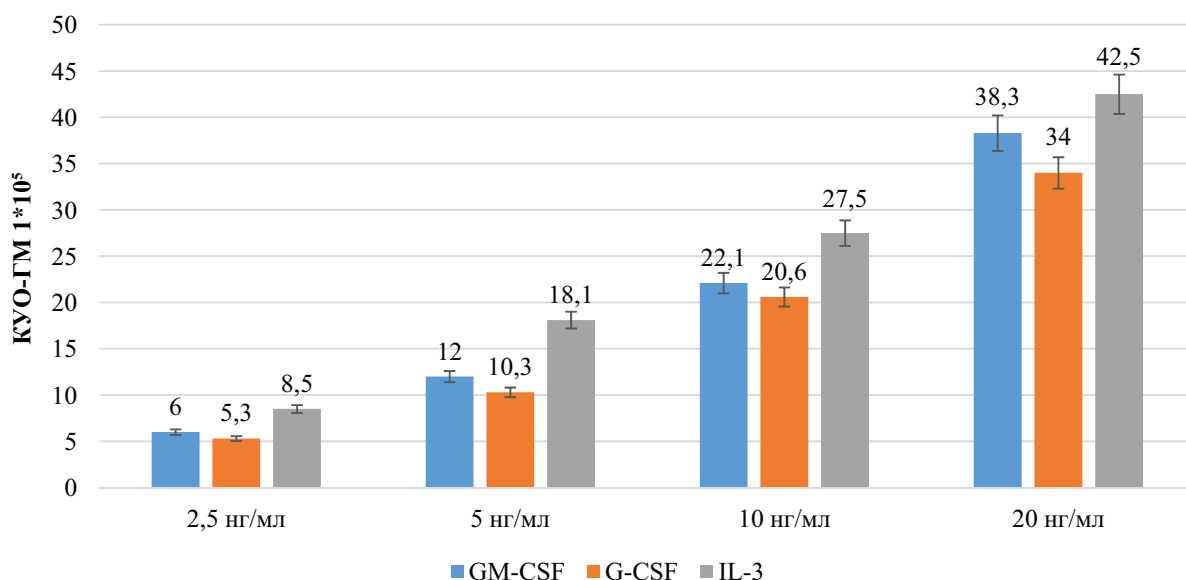


Рисунок. Ефективність колонієутворення ГПК *in vitro* зі зростанням доз цитокінів

Таблиця

Ефективність колонієутворення ГПК від МДС-ІВ за високих доз цитокінів та їхні комбінації в культурі *in vitro*

Назва цитокіну	Концентрація цитокіну, нг/мл	КУО-ГМ
GM-CSF	40	18,3±1,8*
G-CSF	40	12,1±1,5*
IL-3	40	24,5±2,1*
Комбінація GM-CSF + G-CSF + IL-3	кожний фактор	28,7±3,2*

* Різниця між показниками статистично достовірна.

Наступним кроком стало дослідження впливу різних факторів росту та їхніх комбінацій на КУО-ГМ у 20 хворих на МДС-ІВ *in vitro*. Культури кісткового мозку цих пацієнтів у разі використання кожного з трьох факторів росту в їхніх оптимальних концентраціях демонстрували значне пригнічення кровотворної функції. Кількість КУО-ГМ становила $4,0 \pm 0,5$, $7,0 \pm 0,8$ і $9,3 \pm 1,5$ на 1×10^5 експлантованих клітин для GM-CSF, G-CSF та IL-3, відповідно. Важливо зазначити, що перші два фактори виявилися менш ефективними, ніж IL-3. Ця різниця була статистично достовірною ($p \leq 0,05$).

Далі було проведено два типи експериментів: у першому концентрацію факторів росту подвоїли, а в другому їх використовували в комбінації. Виявилось, що у разі подвоєння концентрації факторів росту ефективність колонієутворення при МДС-ІВ значно зростала та становила $18,3 \pm 1,8$, $12,1 \pm 1,5$ і $24,5 \pm 2,1$ для GM-CSF, G-CSF та IL-3, відповідно. Використання комплексу цитокінів призвело до утворення $28,7 \pm 3,2$ КУО-ГМ, що статистично достовірно вище, ніж у разі

використання цитокінів окремо. Проте цей показник все ж не досяг значень контрольної групи (див. таблицю).

Обговорення

У кістковому мозку проліферація та диференціювання гемопоетичних клітин контролюються кровотворним мікрооточенням. Це складне середовище, що складається з мезенхімальних стромальних клітин, а також адипоцитів, остеобластів, ендотеліальних і ретикулярних клітин та макрофагів [11]. Клітини, які формують гемопоетичні ніші, секретують безліч сигнальних молекул, що діють локально (аутокринно) або на відстані (паракринно). Ці сигнали включають ростові фактори, хемокіни, цитокіни, морфогени та молекули адгезії [12].

Як відомо, система кровотворення, ядром якої у дорослого організму є кістковий мозок, безперервно оновлює пул своїх клітин. Цей процес можливий завдяки наявності мультипотентних стовбурових клітин та їхніх нащадків – клітин-попередників. На відміну від стовбурових клітин,

які мають необмежену здатність до самовідтворення, гемопоетичні клітини-попередники мають меншу гнучкість. Їхня спеціалізація більш виражена, а здатність до самовідтворення обмежена, тож регуляція кровотворення здійснюється за допомогою ростових факторів, які продукуються мікрооточенням кісткового мозку [13,14].

Отримані нами дані свідчать про те, що при МДС відбувається порушення сприйняття стимулів гемопоетичними клітинами: знижується їхня чутливість до цитокінів. Проте здатність реагувати на них зберігається, що було продемонстровано *in vitro*. Ці результати дають змогу припустити, що гемопоетичні клітини-попередники відіграють важливу роль у патогенезі МДС. Це підтверджується здатністю гемопоетичних стовбурових клітин та клітин-попередників кісткового мозку реагувати на вплив цитокінів *in vitro*. Важливо

вказати, що проведене дослідження охоплює лише ранню стадію МДС (МДС-ІВ) і не дає інформації про подальші етапи захворювання. Проте воно демонструє, що за цієї форми МДС можна досягти певного терапевтичного ефекту, збільшуючи концентрацію цитокінів.

Висновки

Зважаючи на те, що при мієлодиспластичному синдромі (МДС) гемопоетичні клітини-попередники мають дефектну пригнічену реакцію на цитокіни, але все ж таки здатні реагувати на підвищені дози препаратів, особливо в їхній комбінації, рекомендовано використовувати цей підхід під час дослідження МДС в експерименті. Крім того, дані, отримані в дослідженнях культури клітин *in vitro*, можна враховувати під час розроблення протоколів лікування.

Список літератури

- Zhao M, Li L. Regulation of hematopoietic stem cells in the niche. *Sci China Life Sci.* 2015;58(12):1209-15.
- Flores-Figueroa E, Gutierrez-Espindola G, Guerrero-Rivera S, Pizzuto-Chavez J, Mayani H. Hematopoietic progenitor cells from patients with myelodysplastic syndromes: *in vitro* colony growth and long-term proliferation. *Leukemia research.* 1999 Apr;23:385-94.
- Jahandideh B, Derakhshani M, Abbaszadeh H, Akbar Movassaghpour A, Mehdizadeh A, Talebi M, Yousefi M. The pro-inflammatory cytokines effects on mobilization, self-renewal and differentiation of hematopoietic stem cells. *Hum Immunol.* 2020;81(5):206-17.
- Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms. *Cancer.* 2009;115(17):3842-7.
- Garcia Manero G, Chien KS, Montalban Bravo G. Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol.* 2020;95(11):1399-420.
- Gerke MB, Christodoulou I, Karantanos T. Definitions, Biology, and Current Therapeutic Landscape of Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms. *Cancers.* 2023;15(15):3815.
- Gondek LP, DeZern AE. Assessing clonal haematopoiesis: clinical burdens and benefits of diagnosing myelodysplastic syndrome precursor states. *Lancet Haematol.* 2020;7(1):e73-e81.
- Ackermann M, Liebhaber S, Klusmann J, Lachmann N. Lost in translation: pluripotent stem cell derived hematopoiesis. *EMBO Mol Med.* 2015;7(11):1388-402. doi:10.15252/emmm.201505301
- Anthony BA, Link DC. Regulation of hematopoietic stem cells by bone marrow stromal cells. *Trends Immunol.* 2014;35(1):32-7.
- Білько ДІ, Пахаренко МВ. Особливості функціонування гемопоетичних клітин-попередників кісткового мозку хворих на мієлодиспластичний синдром у культурі *in vitro* і в гелевих дифузійних камерах *in vivo*. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія.* 2022;5:33-8. doi:10.18523/2617-4529.2022.5.33-38
- Hernandez-Barrientos D, Pelayo R, Mayani H. The Hematopoietic Microenvironment: A Network of Niches for the Development of All Blood Cell Lineages. *J Leukoc Biol.* 2023;114(5):404-420.
- Hurwitz SN, Jung SK, Kurre P. Hematopoietic stem and progenitor cell signaling in the niche. *Leukemia.* 2020;34(12):3136-48.
- Mosaad YM. Hematopoietic stem cells: An overview. *Transfus Apher Sci.* 2014;51(3):68-82.
- Woolthuis CM, Park CY. Hematopoietic stem/progenitor cell commitment to the megakaryocyte lineage. *Blood.* 2016;127(10):1242-8.

References

- Zhao M, Li L. Regulation of hematopoietic stem cells in the niche. *Sci China Life Sci.* 2015;58(12):1209-15.
- Flores-Figueroa E, Gutierrez-Espindola G, Guerrero-Rivera S, Pizzuto-Chavez J, Mayani H. Hematopoietic progenitor cells from patients with myelodysplastic syndromes: *in vitro* colony growth and long-term proliferation. *Leukemia research.* 1999 Apr;23:385-94.
- Jahandideh B, Derakhshani M, Abbaszadeh H, Akbar Movassaghpour A, Mehdizadeh A, Talebi M, Yousefi M. The pro-inflammatory cytokines effects on mobilization, self-renewal and differentiation of hematopoietic stem cells. *Hum Immunol.* 2020;81(5):206-17.
- Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms. *Cancer.* 2009;115(17):3842-7.
- Garcia Manero G, Chien KS, Montalban Bravo G. Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol.* 2020;95(11):1399-420.
- Gerke MB, Christodoulou I, Karantanos T. Definitions, Biology, and Current Therapeutic Landscape of Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms. *Cancers.* 2023;15(15):3815.
- Gondek LP, DeZern AE. Assessing clonal haematopoiesis: clinical burdens and benefits of diagnosing myelodysplastic syndrome precursor states. *Lancet Haematol.* 2020;7(1):e73-e81.
- Ackermann M, Liebhaber S, Klusmann J, Lachmann N. Lost in translation: pluripotent stem cell derived hematopoiesis. *EMBO Mol Med.* 2015;7(11):1388-402. doi:10.15252/emmm.201505301
- Anthony BA, Link DC. Regulation of hematopoietic stem cells by bone marrow stromal cells. *Trends Immunol.* 2014;35(1):32-7.
- Bilko D, Pakharenko M. Peculiarities of functioning of hematopoietic progenitor cells of bone marrow of patients with myelodysplastic syndrome in culture *in vitro* and in cell diffusion chambers *in vivo*. *NaUKMA Research Papers. Biology and Ecology.* 2022;5:33-8. doi:10.18523/2617-4529.2022.5.33-38. Ukrainian.

11. Hernandez-Barrientos D, Pelayo R, Mayani H. The Hematopoietic Microenvironment: A Network of Niches for the Development of All Blood Cell Lineages. *J Leukoc Biol.* 2023; 114(5):404-420.
12. Hurwitz SN, Jung SK, Kurre P. Hematopoietic stem and progenitor cell signaling in the niche. *Leukemia.* 2020;34(12): 3136-48.
13. Mosaad YM. Hematopoietic stem cells: An overview. *Transfus Apher Sci.* 2014;51(3):68-82.
14. Woolthuis CM, Park CY. Hematopoietic stem/progenitor cell commitment to the megakaryocyte lineage. *Blood.* 2016;127(10): 1242-8.

M. Pakharenko, I. Russu, D. Bilko, I. Lahodniuk, N. Bilko

National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

PECULIARITIES OF THE INFLUENCE OF RECOMBINANT CYTOKINES ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME *IN VITRO*

Abstract

Populations of hematopoietic progenitor cells are the closest descendants of stem cells. It is at their level that the processes of proliferation and differentiation occur, since they are sensitive, unlike stem cells, to the action of cytokines, which are released in the event of a shortage of blood cells in the periphery. However, for a long time the role of hematopoietic progenitor cells in the implementation of the pathological process in disorders of hematopoiesis was underestimated, while now it has turned out to be more significant than previously thought. This is especially true of myelodysplastic syndrome, which, despite its name, is a clonal disease that precedes acute leukemia. The purpose of the study was to determine the peculiarities of the functioning of hematopoietic progenitor cells in normal and impaired hematopoiesis at the initial stages of the malignant process of MDS (MDS-IB) under the conditions of exposure to different concentrations of cytokines to assess the hematopoietic potential of these cells. Their colony-forming activity (CFU) was studied in two groups of patients — control (10 people) and experimental (20 people) *in culture in vitro*. It was found that CFU increases with increasing concentration of cytokines and requires twice as much stimulus when culturing hematopoietic cells from patients with MDS-IB. The optimal concentration in the control for G-CSF, GM-CSF, IL-3 was 20 ng/ml, and for cells from patients with MDS-IB — 40 ng/ml. It has been proven that in the case of using a complex of cytokines (GM-CSF, G-CSF, IL-3), the colony-forming ability of progenitor cells from patients with MDS-IB increases significantly, compared to such indicators for cytokines acting alone (28.7 ± 3.2 to 18.3 ± 1.8 , 12.1 ± 1.5 and 24.5 ± 2.1 , respectively). The paper reveals the latent potential for cell proliferation from patients with MDS-IB, which can be used both in experimental studies and in the creation of protocols for the treatment of patients with MDS in the initial stage of the disease.

Keywords: myelodysplastic syndrome, hematopoietic progenitor cells, recombinant cytokines, colony-forming activity, *in vitro* culture.

Матеріал надійшов 23.05.2024

Відомості про авторів

Notes about authors

Пахаренко Маргарита Вікторівна – PhD, провідний спеціаліст, асистентка, ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Pakharenko Marharyta – PhD, Leading Specialist, Assistant, “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-2718-5116>

e-mail: m.pakharenko@ukma.edu.ua

Руссу Ірина Зіновіївна – кандидат біологічних наук, доцент, ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Russu Iryna – PhD, Assistant Professor, “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-9676-2859>

e-mail: iryna.russu@ukma.edu.ua

Білько Денис Іванович – кандидат біологічних наук, доцент, ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Bilko Denys – PhD, Assistant Professor, “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-6801-401X>

e-mail: denys.bilko@ukma.edu.ua

Лагоднюк Ігор Юрійович – аспірант ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Lahodniuk Ihor – graduate student of the “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-6865-8018>

e-mail: laigor777@gmail.com

Білько Надія Михайлівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри, гарант ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Bilko Nadiia – M.D., Professor, Head of the department, guarantor of the “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-3213-0032>

e-mail: nbilko@ukma.edu.ua



DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.42-52

УДК 504.57.04

Вишенська І. Г., Мельник Є. Є.

Національний університет «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

ОЦІНЮВАННЯ РЕГУЛЯТОРНИХ ЕКОСИСТЕМНИХ ПОСЛУГ ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕНЬ В УРБОЕКОСИСТЕМАХ

У статті наведено результати досліджень з оцінювання екосистемних послуг деревних зелених насаджень на території першого академічного містечка Національного університету «Києво-Могилянська академія» за допомогою інструменту MuTree. Встановлено, що найважливішими серед регуляторних послуг були поглинання вуглекислого газу, регулювання мікроклімату, енергозбереження, очищення повітря від озону та діоксиду сірки. За розрахунками інструменту MuTree, показано річну вартість послуг деревних насаджень на території кампусу та її прогнозоване накопичувальне зростання за 20 років. Наведено оцінювання вартості окремих складових регуляторних екосистемних послуг. Результати цього дослідження можуть бути використані в майбутньому для поліпшення заходів з планування та управління зеленими зонами кампусу університету із врахуванням значення їхніх екосистемних послуг. Загалом дослідження підтвердило важливість моніторингу та оцінювання екосистемних послуг зелених насаджень в урбоекосистемах для ухвалення сталих рішень щодо розвитку міських територій, підтримання добробуту і здоров'я населення.

Ключові слова: екосистемні послуги, урбоекосистеми, інструмент MuTree, сталий розвиток міст.

Вступ

Збереження природних біотопів у мегаполісах є важливим завданням для підтримання сталого розвитку міст. Це завдання узгоджується зі Стратегією ЄС з біорізноманіття до 2030 року (до неї також входять Рекомендації щодо планування озеленення міст), що ґрунтується на принципі збереження екосистемних послуг. Головна мета стратегії – подолання основних чинників, що призводять до зниження біорізноманіття, та сприяння відновленню і стійкості екосистем з підтриманням постійного забезпечення ними життєво важливих для добробуту та процвітання населення екосистемних послуг [1].

Підвищене антропогенне навантаження в містах призводить до екологічних викликів, як-от підвищений рівень забруднення повітря, води, ґрунту та деградація середовищ існування живих організмів. Урбоекосистеми особливо схильні до впливу глобальних змін клімату і стикаються з такими явищами, як міські теплові острови та міські зливові паводки. Водночас збільшення

щільності забудови часто відбувається за рахунок скорочення площі зелених насаджень. Зелені насадження забезпечують критично важливі екосистемні послуги для добробуту міських екосистем, підтримання біорізноманіття, пом'якшення впливу кліматичних змін та забруднювальних речовин на здоров'я людей, а також низку економічних, соціальних та культурних вигод для населення.

Виділено широкий спектр екосистемних послуг, які поділяють на ресурсні, регуляторні, підтримні та культурні [2]. Регуляторні екосистемні послуги – це вигоди від природних екосистем, що допомагають регулювати умови навколишнього середовища та забезпечують захист від його негативних впливів (зокрема спричинених антропогенною діяльністю) на добробут та здоров'я людей. У дослідженнях [3-7] виокремлено такі регуляторні послуги зелених зон у містах: очищення повітря, регулювання мікроклімату, заощадження енергії на опаленні/охолодженні, зниження рівня шуму, регулювання поверхневого стоку, запобігання ерозії ґрунтів.

Очищення повітря. Зелені простори ефективно пом'якшують шкідливий вплив хімічних і біологічних забруднювачів в атмосфері, стабілізуючи в такий спосіб міські екосистеми та зберігаючи їхнє біорізноманіття. Рослини затримують і поглинають з повітря такі речовини, як вуглекислий газ, оксид вуглецю, озон, діоксид азоту, діоксид сірки, тверді дрібнодисперсні частинки тощо. Багато досліджень підтверджують, що міське населення, яке проживає в районах з більшим коефіцієнтом зелених зон, менш схильне до таких поширених захворювань, спричинених забрудненим повітрям у містах, як діабет, респіраторні та серцево-судинні захворювання.

Регулювання мікроклімату. Регулювання парникових газів, температури, вологості та повітряних потоків на місцевому рівні. Зелені зони міст здатні пом'якшувати особливо відчутні для урбоекосистем наслідки змін клімату, зокрема завдяки таким біофізичним функціям:

- *секвестрація вуглецю* – поглинання вуглекислого газу, що є парниковим та затримує тепло в атмосфері, з повітря і його накопичення у вигляді деревини;
- *забезпечення тіні та охолодження* – зумовлює захист від ультрафіолетових променів, зниження температури та ефект «теплого острова».

Заощадження енергії на опаленні/охолодженні. Ця екосистемна послуга тісно пов'язана з регулюванням мікроклімату зеленими насадженнями, що також впливає на терморегуляцію будівель. Прикладом може слугувати листяне дерево, яке забезпечує тінь і прохолоду будівлі влітку, а взимку, коли листя опадає, пропускає сонячне світло, яке обігріває її.

Зниження рівня шуму. Зелені насадження, окрім очищення повітря та регуляції мікроклімату, також сприяють поглинанню та перехопленню шумового забруднення з навколишнього середовища (наприклад, від транспорту) або можуть виконувати безпосередню роль звукоізоляції будівель.

Регулювання поверхневого стоку. У розрізі управління водними ресурсами міські зелені насадження здатні перехоплювати дощові опади, затримувати або уповільнювати зливовий стік і сприяти кращій інфільтрації, зменшуючи в такий спосіб частоту міських паводків і знижуючи витрати на очищення зливових вод та пов'язані з цим збитки. Водночас зменшується кількість води, що відводиться через каналізацію, навантажуючи очисні споруди. Зокрема, такі елементи ландшафтного дизайну, як дощові сади та біоретенційні вали, окрім регулювання об'єму

зливових вод, також позитивно впливають на якість води завдяки її фільтрації та очищенню.

Запобігання ерозії ґрунтів. Наявність зеленої інфраструктури сприяє значному зменшенню ерозійної активності. Рослинний покрив може перехоплювати дощові опади і зменшувати пряму водну ерозію, спричинену падінням крапель дощу на поверхню ґрунту. Коріння дерев, чагарників, трави тощо здатне укріплювати та стабілізувати структуру ґрунту. Коріння зв'язує частинки ґрунту разом, підвищуючи його зв'язність і зменшуючи ймовірність ерозії, спричиненої вітром і водою. Це природне укріплення також здатне затримувати відкладення поживних речовин, що підтримує родючість ґрунту.

Розуміння цінності екосистемних послуг зелених насаджень в урбоекосистемах сприятиме ухваленню більш сталих рішень щодо міського планування та управління навколишнім середовищем, посилить науково обґрунтовану аргументацію щодо їх збереження, розширення та утримання зелених зон у містах, висвітлить ширші виклики для суспільства, пов'язані зі змінами в екосистемах, а також сприятиме збільшенню інвестицій в охорону природи, завдяки чому в довгостроковій перспективі відбудуться позитивні зміни як для людей, так і для екосистем.

Метою цього дослідження було проаналізувати важливість зелених насаджень у міському середовищі, дослідити види регуляторних екосистемних послуг на території університетського кампусу.

Дослідження екосистемних послуг є доволі новим напрямом в Україні, проте дискусії та наукові роботи у сфері оцінювання екосистемних послуг стають дедалі більш актуальними у вітчизняному науковому дискурсі. Крім того, досі існує проблема розриву між наукою та політикою, оскільки немає міждисциплінарної бази та методологічних інструментів, які б спрямовували політиків від визначення та вимірювання екосистемних послуг до оцінювання їх та перетворення такого оцінювання на ефективні інструменти політики та механізми управління у сфері землекористування та охорони довкілля, формування політики сталого розвитку, оцінювання екологічних компенсацій та стратегічного планування розвитку громад [8]. Порівняльна перевага економічного оцінювання полягає в тому, що воно показує важливість змін у забезпеченні екосистемних послуг безпосередньо з погляду добробуту людини і використовує грошові одиниці, що дає змогу легко передавати вартість і безпосередньо порівнювати її з вартістю інших товарів, послуг, інвестицій та впливів

в економіці [3,8,9]. Проте варто зазначити, що використання економічних підходів для оцінювання екосистемних послуг має певні обмеження. На відміну від витрат, оцінювання вигод із застосуванням ринкового підходу можливе лише для обмеженої частини екосистемних послуг, що ускладнює їх комплексне вираження в грошовому еквіваленті [2,5].

Об'єкти і методи дослідження

Для проведення оцінювання екосистемних послуг зелених насаджень у міській екосистемі було обрано територію кампусу Національного університету «Києво-Могилянська академія», розташованого в Подільському районі міста Києва (рис. 1).

Загальна площа дослідної ділянки становить 4,58 га, з яких високоінтенсивна забудова займає 2,16 га (асфальтове покриття), будівлі – 1,59 га, а зелені насадження – 0,83 га.

У травні 2024 року було проведено інвентаризацію 76 дерев, розташованих на території першого академічного містечка Національного університету «Києво-Могилянська академія». Відповідно до протоколу збору даних інструменту MuTree, було зібрано такі польові дані, як вид кожного дерева, виміряно окружність стовбурів (на висоті 1,43 м), зафіксовано особливості розташування (вплив сонячного опромінення, наближеність та напрямок до будівель, тип місця посадки), показники стану здоров'я

дерев (прозорість крони, відмирання гілок, знебарвлення і відмирання листя) та симптоми наявності шкідників (пошкодження деревини, ексудація, гниття, втрата та в'ялість листя, епікормічні пагони).

Для оцінювання екосистемних послуг деревних зелених насаджень було використано інструмент MuTree як частину набору інструментів i-Tree, розроблених Лісовою службою Міністерства сільського господарства США (USDA). Це комплексна програма, призначена для оцінювання екосистемних послуг окремих дерев або невеликих груп дерев [6]. Інструмент використовує надійні наукові моделі та місцеві екологічні дані для точного оцінювання ролі дерев в екосистемі. На основі визначених параметрів інструмент розраховує екологічні та економічні вигоди, які надають досліджені дерева за поточний рік, та розраховує їхні зміни за наступні 20 років. Зокрема, визначені переваги містять загальну вартість (\$) екосистемних послуг, поглинання CO₂ (\$), секвестрацію вуглецю (кг), еквівалент CO₂ (кг), регулювання дощового стоку (\$), затримку дощового стоку (л), очищення повітря (\$), а саме: затримку або поглинання CO, O₃, NO₂, SO₂, PM_{2.5} (кг), заощадження енергії за рік (\$), збереження електроенергії (кВт), економію палива для опалення (м³ природного газу), запобігання енергетичним викидам (\$), а саме: CO₂, CO, NO₂, SO₂, PM_{2.5} (кг).



Рис. 1. Визначені межі дослідної ділянки

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз видового різноманіття деревних видів рослин університетського кампусу та їхній внесок у забезпечення регуляторних екосистемних послуг наведено в табл. 1. Всього було проведено інвентаризацію 76 деревних насаджень. Детальні дані про них (вид, стан дерева, окружність стовбура (см)), а також вартість екосистемних послуг за рік та за наступні 20 років (\$) для кожного дерева систематизовано за видами в алфавітному порядку.

Найбільш поширеними деревами є *Aesculus hippocastanum* (гіркокаштан звичайний) – 20 знахідок, *Picea pungens* (ялина колюча) – 7, *Malus pumila* (яблуня райська) – 7, *Picea abies* (ялина європейська) – 6, *Paulownia tomentosa* (павловнія повстиста) – 6 та *Fraxinus excelsior* (ясен звичайний) – 5.

Наявність 19 деревних видів рослин на площі 4,58 га свідчить про високе видове багатство на території кампусу. Високе біорізноманіття має потенціал для стійкості до негативного впливу атмосферних забруднень, а також пом'якшення впливу кліматичних змін.

Більшість дерев на території першого академічного містечка університету належать до типу середніх та великих дерев, з найбільшою окружністю в представників *Populus nigra* (тополя чорна) – 422 см, *Fraxinus excelsior* (ясен звичайний) – 346 см та *Robinia pseudoacacia* (робінія звичайна) – 307 см. Крім того, є посадка молодих дерев, серед яких у видовому складі переважає *Malus pumila* (яблуня райська). Переважна кількість дерев розташована на відстані 3–10 м від університетських будівель, що забезпечує затінення і, як наслідок, регулює місцевий мікроклімат та підвищує енергоефективність корпусів НаУКМА.

Більшість екосистемних послуг, проаналізованих за допомогою інструменту MyTree, пов'язані з площею листової поверхні дерев, яка залежить від їхнього розміру, виду та прозорості крони. Для ефективності забезпечення послуг зеленими насадженнями важливо, щоб дерева були особливо стійкими, щоб вижити в умовах міста з високим впливом забруднювальних речовин та інших чинників. Далі в польовому дослідженні було оцінено показники стану здоров'я дерев та наявність ушкоджень, спричинених шкідниками.

Таблиця 1

Інвентаризаційні дані та оцінка екосистемних послуг (\$) за поточний рік і наступні 20 років за видами (в алфавітному порядку)

№ об'єкта	Вид	Стан дерева	Окружність стовбура, см	Вартість регуляторних екосистемних послуг за рік, \$	Вартість регуляторних екосистемних послуг за наступні 20 років, \$
41	<i>Acer platanoides</i>	Добрий	87	3,48	101,09
40	<i>Acer platanoides</i>	Відмінний	166,3	5,99	133,42
76	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	179	20,97	431,67
75	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	137	19,01	391,37
74	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	244	24,31	499,76
73	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	138,5	19,07	392,74
72	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	183	21,16	435,68
71	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	210	22,52	463,43
70	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	125	18,49	380,54
69	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	165	20,29	417,88
68	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	140	19,15	394,13
67	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	163	20,21	415,92
66	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	203	16,50	342,49
65	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	178	15,25	317,03
64	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	131	13,08	272,27
63	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	161	14,44	300,35
62	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	210,5	16,88	350,30
61	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	183	15,49	322,04
60	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	247	18,79	389,39
59	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	202	16,45	341,43
58	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	197	16,18	336,28
57	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Прийнятний	210	16,85	349,79
15	<i>Betula pendula</i>	Добрий	162,4	22,05	457,11
14	<i>Betula pendula</i>	Добрий	156,6	21,74	450,54
7	<i>Betula pendula</i>	Відмінний	71,5	23,35	524,94

Продовження табл. 1

№ об'єкта	Вид	Стан дерева	Окружність стовбура, см	Вартість регуляторних екосистемних послуг за рік, \$	Вартість регуляторних екосистемних послуг за наступні 20 років, \$
6	<i>Betula pendula</i>	Добрий	65	21,55	476,61
10	<i>Catalpa bignonioides</i>	Добрий	47	11,43	330,19
8	<i>Catalpa bignonioides</i>	Відмінний	24	6,55	221,61
1	<i>Fraxinus excelsior</i>	Відмінний	16,5	5,98	233,53
34	<i>Fraxinus excelsior</i>	Відмираюче дерево	243,5	-1,88	-37,22
31	<i>Fraxinus excelsior</i>	Добрий	112	2,41	55,46
29	<i>Fraxinus excelsior</i>	Добрий	132	0,51	21,52
25	<i>Fraxinus excelsior</i>	Прийнятний	346	22,25	446,73
50	<i>Juglans regia</i>	Добрий	201	9,13	203,94
48	<i>Juglans regia</i>	Прийнятний	201	16,95	356,73
52	<i>Malus pumila</i>	Добрий	40,5	1,23	31,09
20	<i>Malus pumila</i>	Добрий	97,2	1,65	18,85
9	<i>Malus pumila</i>	Добрий	12,4	1,89	72,08
5	<i>Malus pumila</i>	Відмінний	23,5	3,35	94,76
4	<i>Malus pumila</i>	Відмінний	15	1,31	39,81
3	<i>Malus pumila</i>	Відмінний	17,3	2,65	87,31
2	<i>Malus pumila</i>	Відмінний	23	3,43	98,96
39	<i>Paulownia tomentosa</i>	Відмінний	144,5	-2,68	-40,37
38	<i>Paulownia tomentosa</i>	Відмінно	146,2	-2,62	-39,10
37	<i>Paulownia tomentosa</i>	Відмінний	136,8	-2,96	-46,06
13	<i>Paulownia tomentosa</i>	Добрий	129	5,20	137,22
12	<i>Paulownia tomentosa</i>	Добрий	138,5	6,11	154,24
11	<i>Paulownia tomentosa</i>	Добрий	102	3,41	91,24
46	<i>Picea abies</i>	Прийнятний	86	28,98	645,29
33	<i>Picea abies</i>	Добрий	52,9	13,44	336,52
32	<i>Picea abies</i>	Добрий	168	33,06	666,49
28	<i>Picea abies</i>	Добрий	27,5	2,57	79,32
27	<i>Picea abies</i>	Добрий	31,5	3,08	105,14
26	<i>Picea abies</i>	Відмінний	69,1	18,75	448,81
56	<i>Picea pungens</i>	Добрий	54	3,56	85,97
55	<i>Picea pungens</i>	Добрий	73	6,20	184,07
54	<i>Picea pungens</i>	Добрий	103,5	15,42	353,60
53	<i>Picea pungens</i>	Відмінний	81,5	8,68	249,73
18	<i>Picea pungens</i>	Прийнятний	63	2,84	101,79
17	<i>Picea pungens</i>	Добрий	149	19,46	402,83
16	<i>Picea pungens</i>	Добрий	108	3,63	98,13
43	<i>Populus nigra</i>	Прийнятний	422	8,82	173,53
30	<i>Quercus robur</i>	Прийнятний	65	-2,86	-14,68
44	<i>Robinia pseudoacacia</i>	Добрий	307	18,42	365,41
49	<i>Sorbus aucuparia</i>	Добрий	34,5	-0,05	1,25
22	<i>Sorbus aucuparia</i>	Добрий	65,2	17,57	494,08
36	<i>Syringa vulgaris</i>	Добрий	53	1,46	38,17
35	<i>Syringa vulgaris</i>	Добрий	45	1,21	32,72
45	<i>Tilia cordata</i>	Добрий	132	6,67	143,87
42	<i>Tilia cordata</i>	Добрий	187	3,41	76,53
24	<i>Tilia cordata</i>	Відмінний	191	25,61	534,83
47	<i>Ulmus laevis</i>	Прийнятний	79	3,90	157,07
23	<i>Ulmus laevis</i>	Добрий	88,5	24,53	552,66
19	<i>Ulmus laevis</i>	Відмінний	103,5	13,66	269,32
51	<i>Viburnum obovatum</i>	Добрий	32	0,88	36,15
21	<i>Viburnum obovatum</i>	Добрий	23	1,72	55,92
Сума				843,17	18895,24

Стан 43 % із 76 досліджених деревних насаджень оцінено як «добрий» (немає 1–10 % листя); 36 % – «прийнятний» (немає 11–25 % листя); 20 % – «відмінний» (немає менше ніж 1 % листя); 1 % (одне дерево) є «мертвим» – немає взагалі листового покриву. Найпоширенішими проблемами (зокрема пов'язаними зі шкідниками) окремих дерев є пошкодження деревини у вигляді вихідних отворів від комах, відшарування кори, ексудатія (виділення речовини з пошкодженої ділянки дерева) та ознаки гниття (пластинчасті гриби, що ростуть на стовбурі).

На 20 деревах найпоширенішого в посадці на дослідній ділянці виду – *Aesculus hippocastanum* (гірकोкаштану звичайного) – восени 2022 року та навесні 2023 року було проведено кронування (метод радикальної обрізки), що негативно вплинуло на їхнє здоров'я і, як наслідок, на ефективність виконання ними важливих екосистемних функцій. Окрім деяких із низки зазначених вище проблем, на деревах гірकोкаштану звичайного також розвинулись епікормічні пагони. Пагони частково замінили попередні крони дерев, проте їхня естетична та регуляторна функції значно знизились.

У табл. 2 продемонстровано оцінку екосистемних послуг (у \$) за рік та накопичувальну оцінку за наступні 20 років за кожним видом дерев у порядку спадання, а на рис. 2 подано порівняльну діаграму на основі даних таблиці.

Найбільшою є вартість послуг дерев *Aesculus hippocastanum* (гірकोкаштану звичайного) – \$365,09 за рік та \$7544,49 за наступні 20 років, *Picea abies* (ялини європейської) – \$99,88 та \$2281,57 відповідно, *Picea pungens* (ялини колючої) – \$59,79 та \$1476,12, *Betula pendula* (берези повислої) – \$66,64 та \$1452,09, *Ulmus laevis* (в'яза гладкого) – \$42,09 та \$979,05.

У табл. 3 наведено результати оцінювання всіх екосистемних послуг досліджених деревних насаджень. Визначені переваги належать до п'яти категорій регуляторних екосистемних послуг: поглинання CO₂, регулювання дощового стоку, очищення повітря, заощадження енергії та запобігання енергетичним викидам. За розрахунками МуТгее, у загальній вартості вони становлять \$847,29 за рік і за сприятливих умов за наступні 20 років спостерігатиметься їх значне зростання (у 22,3 раза) – до \$18895,36.

Таблиця 2

Оцінка екосистемних послуг (\$) за поточний рік і наступні 20 років за кожним видом (у порядку спадання)

Вид	Кількість дерев	Сума вартості екосистемних послуг за рік, \$	Сума вартості екосистемних послуг за наступні 20 років, \$
<i>Aesculus hippocastanum</i>	20	365,09	7544,49
<i>Picea abies</i>	6	99,88	2281,57
<i>Picea pungens</i>	7	59,79	1476,12
<i>Betula pendula</i>	3	66,64	1452,09
<i>Ulmus laevis</i>	3	42,09	979,05
<i>Tilia cordata</i>	3	35,69	755,23
<i>Fraxinus excelsior</i>	5	29,27	720,02
<i>Juglans regia</i>	2	26,08	560,67
<i>Catalpa bignonioides</i>	2	17,98	551,80
<i>Sorbus aucuparia</i>	2	17,52	495,33
<i>Betula pendula</i>	1	22,05	457,11
<i>Malus pumila</i>	7	15,51	442,86
<i>Robinia pseudoacacia</i>	1	18,42	365,41
<i>Paulownia tomentosa</i>	6	6,46	257,17
<i>Acer platanoides</i>	2	9,47	234,51
<i>Populus nigra</i>	1	8,82	173,53
<i>Viburnum obovatum</i>	2	2,60	92,07
<i>Syringa vulgaris</i>	2	2,67	70,89
<i>Quercus robur</i>	1	-2,86	-14,68
Загальний підсумок	76	843,17	18895,24

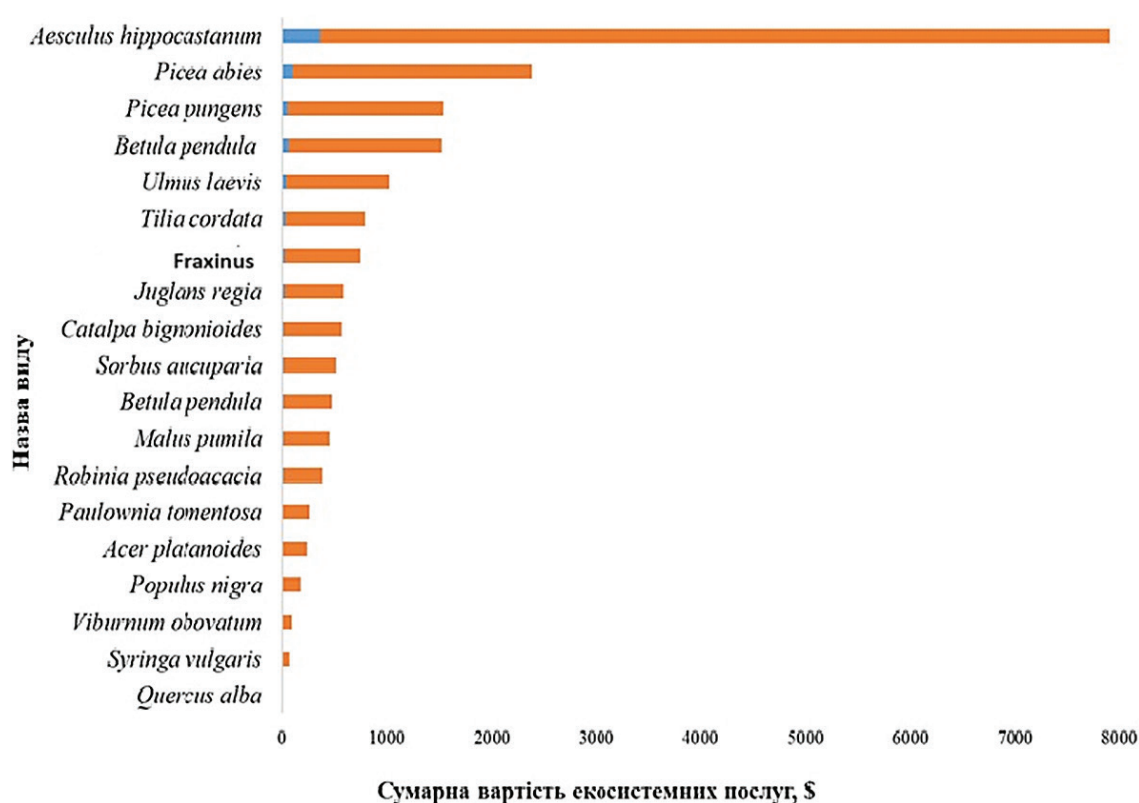


Рис. 2. Порівняльна діаграма вартості регуляторних екосистемних послуг (\$) за видами за поточний рік і наступні 20 років

Найбільшу вартість серед усіх регуляторних екосистемних послуг мають послуги заощадження енергії (\$485,08 за рік і \$10791,14 за 20 років) та поглинання CO_2 (\$183,35 і \$4129,15 відповідно). Порівняльну діаграму вартості детальніше за категоріями наведено на рис. 3.

До екосистемної послуги поглинання CO_2 (вуглекислого газу) входять:

- секвестрація вуглецю (поглинання парникового вуглекислого газу з повітря і його накопичення у вигляді деревини) – 975,27 кг за рік і 21963,55 кг за наступні 20 років;

- еквівалент CO_2 (показник, що допомагає кількісно оцінити вплив дерев на зниження рівня CO_2 в атмосфері) – 3575,97 кг і 80533,02 кг відповідно.

Екосистемна послуга регулювання дощового стоку деревами за рік становить \$41,05, а за наступні 20 років – \$898,02. Передовсім вона покладається на об'єми дощового стоку, які затримує коренева система. За рік ці показники становили 17390,55 л та зростуть до 380411,86 л затриманих зливових вод упродовж наступних 20 років.

Екосистемну послугу очищення повітря за допомогою MyTree було оцінено у \$61,66 за рік та \$1342,66 за 20 років. Графічно дані

очищення повітря для всіх категорій забруднювальних речовин за наступні 20 років порівняно з 2023 роком репрезентовано на рис. 4. Як видно на діаграмі, найбільше дерева поглинають з атмосферного повітря O_3 (озон) – 30,15 кг за рік і 656,24 кг за наступні 20 років. SO_2 (діоксид сірки) за обсягами поглинання посідає друге місце із 5,40 кг та 117,47 кг відповідно. Наступні за обсягом: NO_2 (діоксид азоту) 2,50 кг (рік) та 54,45 кг (20 років), $\text{PM}_{2,5}$ (дрібнодисперсні частинки) – 1,57 кг (рік) та 34,26 кг (20 років), і найменше дерева поглинають CO (чадний газ) – лише 0,63 кг (рік) та 13,78 кг (20 років).

До найбільш вартісної екосистемної послуги – заощадження енергії – входять показники:

- збереження електроенергії: 4617,19 кВт за рік і 100448,21 кВт у накопиченні за наступні 20 років;

- економія палива для опалення: 390 м³ природного газу за рік і 8032 м³ за 20 років.

Послуга заощадження енергії безпосередньо пов'язана із запобіганням енергетичним викидам. Зокрема, річну вартість цієї послуги оцінено в \$76,15, а за наступні 20 років вона кумулятивно становитиме \$1734,39. Найбільшу вартість мають показники запобігання викидам CO_2 : 1407,65 кг за рік і 32134,14 кг за 20 років.

Таблиця 3

**Регуляторні екосистемні послуги деревних насаджень
на території першого академічного містечка НаУКМА за поточний рік і наступні 20 років**

Вид екосистемних послуг	Оцінка за рік	Накопичувальна оцінка за наступні 20 років
Загальна вартість, \$	847,29	18895,36
Поглинання CO₂, \$	183,35	4129,15
Секвестрація вуглецю, кг*	975,27	21963,55
Еквівалент CO ₂ , кг**	3575,97	80533,02
Регулювання дощового стоку, \$	41,05	898,02
Затримка дощового стоку, л	17390,55	380411,86
Очищення повітря, \$	61,66	1342,66
CO, кг	0,63	13,78
O ₃ , кг	30,15	656,24
NO ₂ , кг	2,50	54,45
SO ₂ , кг	5,40	117,47
PM _{2,5} , кг	1,57	34,26
Заощадження енергії, \$***	485,08	10791,14
Збереження електроенергії, кВт	4617,19	100448,21
Економія палива для опалення, м ³ природного газу	-390,00	-8032,00
Запобігання енергетичним викидам, \$	76,15	1734,39
CO ₂ , кг	1407,65	32134,14
CO, кг	1,40	30,74
NO ₂ , кг	0,30	6,72
SO ₂ , кг	3,35	75,63
PM _{2,5} , кг	0,47	10,33

* Для великих дерев поглинання CO₂ зменшується через втрату CO₂ під час опадів/обслуговування (обрізки або кронування).

** Еквівалент CO₂ оцінюють обчисленням кількості атмосферного CO₂, що поглинається деревами для забезпечення вуглецю, збереженого в тканинах окремих дерев.

*** Позитивні значення енергії вказують на заощадження або зменшення викидів. Негативні значення вказують на збільшення використання або викидів. Електрика, використана для охолодження та обігріву, а також паливо (природний газ або нафта), використане для обігріву, базуються на типовому використанні для обраного місця.

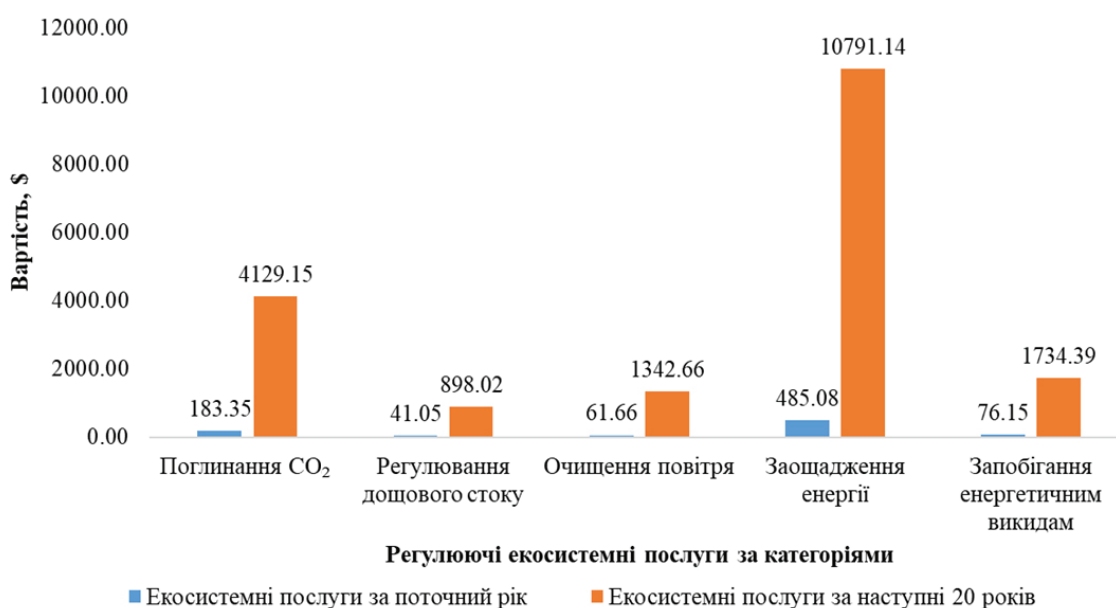


Рис. 3. Порівняльна діаграма вартості регуляторних екосистемних послуг (\$) за категоріями за поточний рік і наступні 20 років

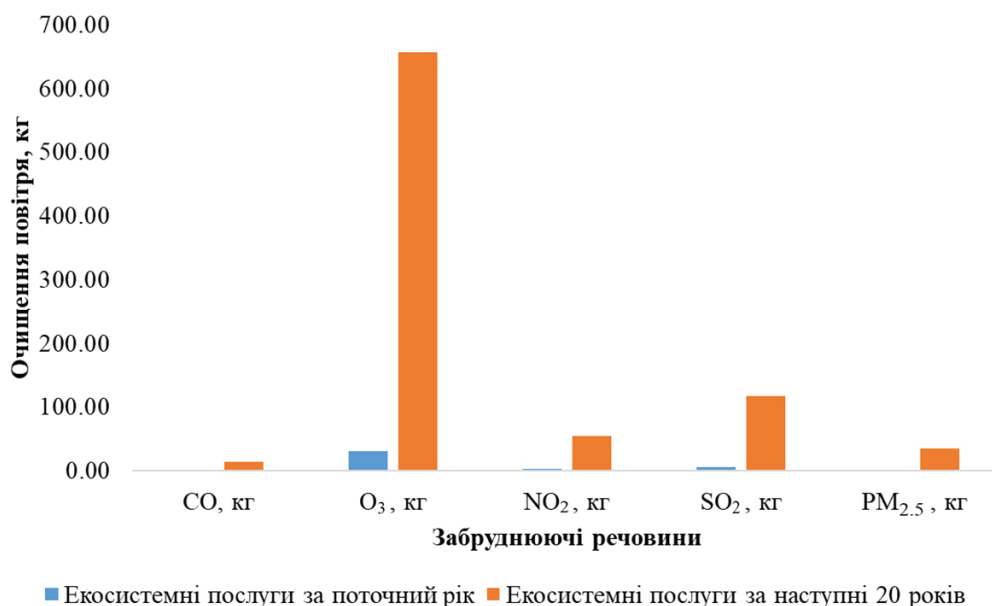


Рис. 4. Діаграма кількісної оцінки екосистемної послуги очищення повітря (кг) за забруднювальними речовинами за поточний рік і наступні 20 років

Висновки

Проведені дослідження підтвердили важливість і цінність регуляторних екосистемних послуг, які забезпечують зелені насадження для першого академічного містечка як частини кампусу Національного університету «Києво-Могилянська академія». Для ефективності екосистемних послуг важливо, щоб дерева на території кампусу були стійкими до умов міського середовища з високим впливом забруднювачів та інших стресових чинників. Проведена інвентаризація підкреслює необхідність впровадження практик сталого озеленення й догляду за деревами для підвищення стійкості та екосистемних послуг зелених насаджень кампусу. Слід уникати радикальних методів обрізки, як-от кронування, особливо на здорових деревах без попередніх ознак необхідності таких втручань. Така практика може спричинити значний стрес і знизити ефективність екосистемних послуг дерев. Натомість можна застосовувати санітарний або обмежений методи обрізки в межах комплексного підходу до догляду за насадженнями. У міському ландшафті потрібно надавати пріоритет висадженню дерев, які є найефективнішими для місцевої екосистеми для протистояння антропогенно зумовленим екологічним проблемам.

За розрахунками MyTree, загальна річна вартість екосистемних послуг деревних зелених насаджень кампусу становить \$847,29. За сприятливих умов, за прогнозами, ця вартість значно зростає – у 22,3 раза протягом наступних 20 років, досягнувши \$18895,36. Найбільшою є вартість

екосистемних послуг таких деревних видів, як *Aesculus hippocastanum* (гірकोкаштан звичайний), *Picea abies* (ялина європейська), *Picea pungens* (ялина блакитна), *Betula pendula* (береза повисла) та *Ulmus laevis* (в'яз гладкий).

Найбільшу вартість серед усіх регуляторних екосистемних послуг мають послуги заощадження енергії та поглинання парникового вуглекислого газу. Дереву відіграють важливу роль у регулюванні мікроклімату, завдяки чому протидіють відчутним наслідкам змін клімату в місті, а також дають змогу заощаджувати електроенергію, що використовується для охолодження та опалення. Завдяки зменшенню використання природного газу та нафти для опалення зелені насадження також допомагають запобігти енергетичним викидам.

З-поміж забруднювальних речовин атмосферного повітря найбільше дерева першого академічного містечка поглинають озону та діоксиду сірки. Дія озону особливо шкідлива в приземному шарі і може погіршити легеневі захворювання, як-от астма, а діоксид сірки може ускладнювати дихання, сприяти утворенню кислотних дощів та смогу, реагуючи з іншими речовинами в повітрі. Отже, екосистемна послуга очищення повітря має безпосередній позитивний вплив на здоров'я людини.

Загалом, дослідження підтвердило важливість моніторингу й оцінювання екосистемних послуг зелених насаджень в урбоекосистемах для ухвалення сталих рішень щодо розвитку міських територій, підтримання добробуту і здоров'я населення.

Список літератури

1. EU Biodiversity Strategy for 2030: Bringing Nature Back into Our Lives. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2021. 36 p.
2. The economics of ecosystems and biodiversity: Mainstreaming the economics of nature: A synthesis of the approach, conclusions and recommendations of TEEB. 2010. 39 p.
3. Costanza R, d'Arge R, De Groot R, et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*. 1997;387:253-60. doi:10.1038/387253a0
4. My Tree. A tool for assessing individual trees [Internet]. i-Tree [cited May 10, 2024]. Available from: <https://mytree.itreetools.org/>
5. Macháč J, Dubová L, Louda J, Hekrlé M, Zaňková L, Brabec J. Methodology for Economic Assessment of Green and Blue Infrastructure in Human Settlements [Internet]. Ústí nad Labem; 2019 [cited April 3, 2024]. 62 p. Available from: https://www.ieep.cz/wp-content/uploads/2019/08/Machac_et_al_2019_Methodology_Economic_Assessment_GBI-7.pdf
6. Millennium Ecosystem Assessment. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Washington, DC: Island Press; 2005. 155 p.
7. Song P, Kim G, Mayer A, He R, Tian G. Assessing the Ecosystem Services of Various Types of Urban Green Spaces Based on I-Tree Eco. *Sustainability*. 2020;12(4):16-30. doi:10.3390/su12041630
8. Василюк О, Варуха А, Куземко А, та ін. Екосистемний добробут: методика обрахунку екосистемних послуг непрямими методами. Чернівці: Друк Арт; 2023. 184 с.
9. Brander LM, de Groot R, Schägner JP, Guisado-Goñi V, van't Hoff V, Solomonides S, McVittie A, et al. Economic Values for Ecosystem Services: A Global Synthesis and Way Forward. *Ecosystem Services*. 2024;66:1-13. doi:10.1016/j.ecoser.2024.101606
10. Соловій І. Оцінка послуг екосистем, забезпечуваних лісами України, та пропозиції щодо механізмів плати за послуги екосистем [Інтернет]. 2016 [цитовано 9 травня 2024]. 90 с. Доступно на: https://d2ouvy59p0dg6k.cloudfront.net/downloads/evaluation_of_forest_ecosystem_services_and_proposals_on_pes_mechanisms.pdf

References

1. EU Biodiversity Strategy for 2030: Bringing Nature Back into Our Lives. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2021. 36 p.
2. The economics of ecosystems and biodiversity: Mainstreaming the economics of nature: A synthesis of the approach, conclusions and recommendations of TEEB. 2010. 39 p.
3. Costanza R, d'Arge R, De Groot R, et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*. 1997;387:253-60. doi:10.1038/387253a0
4. My Tree. A tool for assessing individual trees [Internet]. i-Tree [cited May 10, 2024]. Available from: <https://mytree.itreetools.org/>
5. Macháč J, Dubová L, Louda J, Hekrlé M, Zaňková L, Brabec J. Methodology for Economic Assessment of Green and Blue Infrastructure in Human Settlements [Internet]. Ústí nad Labem; 2019 [cited April 3, 2024]. 62 p. Available from: https://www.ieep.cz/wp-content/uploads/2019/08/Machac_et_al_2019_Methodology_Economic_Assessment_GBI-7.pdf
6. Millennium Ecosystem Assessment. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Washington, DC: Island Press; 2005. 155 p.
7. Song P, Kim G, Mayer A, He R, Tian G. Assessing the Ecosystem Services of Various Types of Urban Green Spaces Based on I-Tree Eco. *Sustainability*. 2020;12(4):16-30. doi:10.3390/su12041630
8. Vasylyuk O, Varukha A, Kuzemko A, et al. Ecosystem well-being: a method of calculating ecosystem services using indirect methods. Chernivtsi: Print Art; 2023. 184 p. Ukrainian.
9. Brander LM, de Groot R, Schägner JP, Guisado-Goñi V, van't Hoff V, Solomonides S, McVittie A, et al. Economic Values for Ecosystem Services: A Global Synthesis and Way Forward. *Ecosystem Services*. 2024;66:1-13. doi:10.1016/j.ecoser.2024.101606
10. Soloviy I. Evaluation of forest ecosystem services provided by forests of Ukraine and proposals on PES mechanisms [Internet]. 2016 [cited May 9, 2024]. 90 p. Available from: https://d2ouvy59p0dg6k.cloudfront.net/downloads/evaluation_of_forest_ecosystem_services_and_proposals_on_pes_mechanisms.pdf. Ukrainian.

I. Vyshenska, Ye. Melnyk

National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

ASSESSMENT OF REGULATORY ECOSYSTEM SERVICES OF GREEN PLANTS IN URBAN ECOSYSTEMS**Abstract**

The article presents the results of research on the assessment of ecosystem services of green tree stands on the territory of the first academic campus of the National University of Kyiv-Mohyla Academy using the MyTree tool. It is a part of the i-Tree tool set developed by the Forest Service of the United States Department of Agriculture (USDA) of the comprehensive program, designed to assess the ecosystem services provided by individual trees or small groups of trees. Research has established that the most important regulatory services were carbon dioxide absorption, microclimate regulation, energy saving, air purification from ozone and sulfur dioxide. Calculations by the MyTree tool show the annual cost of tree planting services on campus and its projected cumulative growth after 20 years. According to the calculations of the MyTree tool, this year's cost of tree plantation services of the first academic campus of the National University of Kyiv-Mohyla Academy was \$847.29, and according to forecasts, after 20 years it will cumulatively increase to \$18,895.36. Estimates of the cost of individual components of regulatory ecosystem services are provided. The cumulative estimate over the next 20 years for CO₂ sequestration was \$4,129.15, which includes the

sequestration of 21,963.55 kg of carbon. Air purification for 20 years is estimated at \$1,342.66, which includes absorption and neutralization of 656.24 kg of O₃, 117.47 kg of SO₂, 54.45 kg of NO₂, and 34.26 kg of solid dust particles PM_{2.5}. Energy savings are estimated at \$10,791.14, which includes energy savings of 100,448.21 kW. The tree species *Aesculus hippocastanum* (Bitter chestnut), *Picea abies* (European spruce), *Picea pungens* (Blue spruce), *Betula pendula* (Hanging birch) and *Ulmus laevis* (Smooth elm) provide the highest value of services. The results of this study can be used in the future to improve the planning and management of green areas of the university campus, taking into account the value of their ecosystem services.

In general, the study confirmed the importance of monitoring and evaluating the ecosystem services of green spaces in urban ecosystems for making sustainable decisions regarding the development of urban areas, supporting the well-being and health of the population.

Keywords: ecosystem services, urban ecosystems, MyTree tool, sustainable urban development.

Матеріал надійшов 12.05.2024

Відомості про авторів Notes about authors

Вишенська Ірина Георгіївна – кандидат біологічних наук, доцент кафедри екології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Vyshenska Iryna – PhD, Associate Professor of the Ecology Department of the National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-2075-5705>

e-mail: vyshenska@ukma.edu.ua

Мельник Єлизавета Євгенівна – здобувачка ОНП «Екологія та охорона навколишнього середовища» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Melnyk Yelyzaveta – graduate student of the “Ecology and Environmental Protection” of the National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

e-mail: yelyzaveta2.melnyk@ukma.edu.ua



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.53-61

УДК 502.4

Болоховець Ю. В.¹, Лицур І. М.¹, Шеремет І. М.^{1,2}, Рак О. О.¹, Партика Н. В.¹

¹ ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна

² Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

ВПЛИВ І НАСЛІДКИ ВОЄННИХ ДІЙ ДЛЯ ПРИРОДООХОРОННИХ ТЕРИТОРІЙ ТА ОБ'ЄКТІВ ПРИРОДНО-ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ В МЕЖАХ ЗЕМЕЛЬ ДП «ЛІСИ УКРАЇНИ»

У статті наведено дані про негативний вплив воєнних дій на об'єкти природно-заповідного фонду (ПЗФ), що перебувають в управлінні ДП «Ліси України», в межах лісових офісів станом на 1 березня 2024 р. Вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ було проаналізовано за десятьма чинниками.

Встановлено, що із 9 лісових офісів ДП «Ліси України» негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ виявлено на території Південного, Східного, Слобожанського, Північного та Столичного лісових офісів.

Негативного впливу воєнних дій зазнали 45 об'єктів природно-заповідного фонду, розташованих на землях лісгосподарського призначення, що перебувають у постійному користуванні ДП «Ліси України», загальною площею 36441,0 га.

Ключові слова: Державне підприємство «Ліси України», природно-заповідний фонд України, наслідки воєнних дій, лісові офіси, вплив воєнних дій.

Вступ

Агресія російської федерації проти України, що розпочалася у 2014 р., завдала великої шкоди довкіллю, зокрема й лісовим екосистемам. З початком повномасштабного вторгнення у 2024 р. вплив воєнних дій на лісовий фонд України став надзвичайно руйнівним. Особливо негативним є вплив воєнних дій на об'єкти природно-заповідного фонду, які є особливо цінними та вразливими лісовими екосистемами. ДП «Ліси України» є найбільшим лісокористувачем України і одним із найбільших лісокористувачів Європи, в управлінні якого перебуває 6,6 млн га лісового фонду, з них 1,05 млн га припадає на території природно-заповідного фонду.

Метою цього дослідження було встановити наслідки воєнних дій для об'єктів природно-заповідного фонду, що перебувають в управлінні

державного спеціалізованого господарського підприємства «Ліси України».

Методи досліджень

Було опрацьовано дані про негативний вплив воєнних дій на об'єкти природно-заповідного фонду (ПЗФ), що перебувають в управлінні ДП «Ліси України», в межах лісових офісів станом на 1 березня 2024 р. Вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ було проаналізовано за десятьма чинниками, запропонованими А. Д. Кузиком і В. І. Товарянським [1] (ці чинники використовують для визначення впливу воєнних дій на лісові екосистеми України):

- вибухи різноманітних боєприпасів, ракет та мін;
- кулі та фрагменти боєприпасів, що розірвалися;

- 3) падіння підбитих літальних апаратів і ракет;
- 4) вибухи і займання військової техніки внаслідок влучання снарядів, наїздів на міни;
- 5) пожежі внаслідок підпалу чи вибухів, пожежі, які неможливо було оперативно ліквідувати через активні бойові дії чи повітряну небезпеку;
- 6) пересування військової техніки;
- 7) будівництво інженерних укріплень;
- 8) неконтрольовані вирубування дерев як будівельного матеріалу та палива;
- 9) залишені та захоронені тіла загиблих людей і тварин;
- 10) залишене сміття, пально-мастильні матеріали, залишки техніки та озброєння.

Всі об'єкти природно-заповідного фонду за наслідками негативного впливу воєнних дій було поділено на чотири категорії [1]:

- 1) об'єкти ПЗФ, на території яких відбувались активні наземні бойові дії;
- 2) об'єкти ПЗФ, території яких зазнали уражень авіаційними бомбардуваннями та обстрілами далекобійної артилерії, ракетами, БПЛА;
- 3) об'єкти ПЗФ, на території яких базувалися військові підрозділи;
- 4) об'єкти ПЗФ, території яких заміновані.

Задля нерозголошення інформації, що може містити військову таємницю, ми не вказуємо вплив воєнних чинників на кожен конкретний об'єкт ПЗФ, а проаналізували інформацію сумарно, на основі матеріалів, отриманих від лісових офісів.

Розрахунок збитків було здійснено за «Методикою визначення шкоди та збитків, завданих територіям та об'єктам природно-заповідного фонду внаслідок збройної агресії Російської Федерації» [2].

Результати дослідження та їх обговорення

Із 9 лісових офісів ДП «Ліси України» негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ виявлено на території Південного, Східного, Слобожанського, Північного та Столичного лісових офісів.

У табл. 1 наведено об'єкти ПЗФ Південного лісового офісу, що зазнали негативного впливу воєнних дій.

Як видно з табл. 1, у Південному лісовому офісі негативного впливу воєнних дій зазнали 9 об'єктів ПЗФ, з них 8 об'єктів розташовані в Миколаївській області та 1 – в Одеській. Сумарна площа охоронних територій, що постраждали в межах земель Південного лісового офісу, становить 14220,3 га. Розмір збитків, завданих об'єктам ПЗФ, розраховано для лісового заказника загальнодержавного значення «Рацинська дача» та парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення «Валекруч-Негай» – становить сумарно 6503,04 тис. грн. Для 7 об'єктів ПЗФ у межах Південного лісового офісу суму збитків поки що не розраховано.

Таблиця 1

Негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ Південного лісового офісу

№ з/п	Назва об'єкта ПЗФ	Область, філія, в якій розташований об'єкт ПЗФ	Категорія ПЗФ	Площа, га	Розмір шкоди/збитків, завданих об'єкту ПЗФ, тис. грн
1	Мішково-Погорілове	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	лісовий заказник місцевого значення	180	поки що не розраховано
2	Михайло-Ларинський	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	ботанічний заказник місцевого значення	14,8	поки що не розраховано
3	Балабанівка	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	лісовий заказник місцевого значення	510	поки що не розраховано
4	Петрово-Солониський	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	150,5	поки що не розраховано
5	Андріївське	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	заповідне урочище місцевого значення	1294,0	поки що не розраховано
6	Білобережжя Святослава	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	національний природний парк	9205,2	тимчасово окупована територія
7	Кінбурнська коса	Миколаївська обл. «Миколаївське ЛГ»	регіональний ландшафтний парк	147,8	тимчасово окупована територія
8	Рацинська дача	Миколаївська обл. «Вознесенське ЛГ»	лісовий заказник загальнодержавного значення	1782	236,04
9	Валекруч-Негай	Одеська обл. «Балтське ЛГ»	парк-пам'ятка садово-паркового мистецтва місцевого значення	936	6267
Всього по офісу				14220,3	6503,04

У табл. 2 наведено об'єкти ПЗФ Східного лісового офісу, що зазнали негативного впливу воєнних дій.

Як видно з табл. 2, у Східному лісовому офісі негативного впливу воєнних дій зазнали 7 об'єктів ПЗФ, розташованих у Дніпропетровській області. Сумарна площа охоронних територій, що постраждали в межах земель Східного лісового офісу, становить 3437,9 га. Розмір збитків, завданих об'єктам ПЗФ, розраховано для ландшафтного

заказника загальнодержавного значення «Дібрівський ліс», пам'яток природи місцевого значення «Білі тополі» та «Нікопольські плавні» та регіонального ландшафтного парку «Балка Кобильна» – становить 817272,44 тис. грн. Для 4 об'єктів ПЗФ у межах Східного лісового офісу суму збитків поки що не розраховано.

У табл. 3 наведено об'єкти ПЗФ Слобожанського лісового офісу, що зазнали негативного впливу воєнних дій.

Таблиця 2

Негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ Східного лісового офісу

№ з/п	Назва об'єкта ПЗФ	Область, філія, в якій розташований об'єкт ПЗФ	Категорія ПЗФ	Площа, га	Розмір шкоди/збитків, завданих об'єкту ПЗФ, тис. грн
1	Дібрівський ліс	Дніпропетровська обл. «Новомосковське ЛГ»	лісовий заказник загальнодержавного значення	1079	630651,400
2	Самарські плавні	Дніпропетровська обл. «Новомосковське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	963,7	поки що не розраховано
3	Комарівщина	Дніпропетровська обл. «Новомосковське ЛГ»	ландшафтний заказник загальнодержавного значення	288	поки що не розраховано
4	Межиріччя	Дніпропетровська обл. «Новомосковське ЛГ»	ландшафтний заказник загальнодержавного значення	732,5	поки що не розраховано
5	Білі тополі	Дніпропетровська обл. «Дніпровське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	1	25
6	Балка Кобильна	Дніпропетровська обл. «Дніпровське ЛГ»	регіональний ландшафтний парк	376	180000
7	Нікопольські плавні	Дніпропетровська обл. «Дніпровське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	3,7	93
Всього по офісу				3437,9	817272,44

Таблиця 3

Негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ Слобожанського лісового офісу

№ з/п	Назва об'єкта ПЗФ	Область, філія, в якій розташований об'єкт ПЗФ	Категорія ПЗФ	Площа, га	Розмір шкоди/збитків, завданих об'єкту ПЗФ, тис. грн
1	Печенізьке поле	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	регіональний ландшафтний парк місцевого значення	72	поки що не розраховано
2	Малинівський	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	2257,1	поки що не розраховано
3	Печенізька лісова дача	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	5298,8	поки що не розраховано
4	Кочетоцька лісова дача	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	2163,3	поки що не розраховано
5	Кулаківський	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	лісовий заказник місцевого значення	455	поки що не розраховано
6	Миколаївські насадження	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	лісове урочище	248	поки що не розраховано
7	Кравцівський	Харківська обл. «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»	ентомологічний заказник місцевого значення	6,4	поки що не розраховано
Всього по офісу				10800,6	поки що не розраховано

Як видно з табл. 3, у Слобожанському лісовому офісі негативного впливу воєнних дій зазнали 7 об'єктів ПЗФ, які розташовані в Харківській області. Сумарна площа охоронних територій, що постраждали в межах земель Слобожанського лісового офісу, становить 10800,6 га. Розмір збитків, завданих об'єктам ПЗФ у межах Слобожанського лісового офісу, поки що не розраховано.

У табл. 4 наведено об'єкти ПЗФ Північного лісового офісу, що зазнали негативного впливу воєнних дій.

Як видно з табл. 4, у Північному лісовому офісі негативного впливу воєнних дій зазнали 3 об'єкти природно-заповідного фонду, два з яких розташовані в Чернігівській області і один – у Сумській. Сумарна площа охоронних територій, що постраждали в межах земель Північного лісового офісу, становить 4330,1 га. Розмір збитків, завданих об'єктам ПЗФ у межах Північного лісового офісу, поки що не розраховано.

У табл. 5 наведено об'єкти ПЗФ Столичного лісового офісу, що зазнали негативного впливу воєнних дій.

Як видно з табл. 5, у Столичному лісовому офісі негативного впливу воєнних дій зазнали 19 об'єктів природно-заповідного фонду, які розташовані в Київській області. Сумарна площа охоронних територій, що постраждали в межах земель Столичного лісового офісу, становить 1797,9 га. Розмір збитків, завданих об'єктам ПЗФ у межах Столичного лісового офісу, поки що не розраховано.

Отже, негативного впливу воєнних дій зазнали 45 об'єктів природно-заповідного фонду, розташованих на землях лісгосподарського призначення, що перебувають у постійному користуванні ДП «Ліси України», загальною площею 36441,0 га. З них на території 20 об'єктів ПЗФ відбувались активні наземні бойові дії; території 37 об'єктів зазнали уражень авіаційними бомбардуваннями та обстрілами далекобійної артилерії, ракетами, БПЛА; на території 40 об'єктів ПЗФ базувалися військові підрозділи і території 27 об'єктів ПЗФ заміновано.

За чинниками впливу 17 об'єктів ПЗФ постраждали від вибухів різноманітних боєприпасів, ракет та мін; 11 об'єктів ПЗФ забруднені кулями та фрагментами боєприпасів, що розірвалися; на території 11 об'єктів ПЗФ містяться фрагменти підбитих літальних апаратів і ракет; 3 об'єкти постраждали в результаті вибухів і займання військової техніки внаслідок влучання снарядів чи наїздів на міни. Через пожежі, що виникли внаслідок підпалу чи вибухів (рис. 1–2), пожежі, які неможливо було оперативно ліквідувати через активні бойові дії чи повітряну небезпеку (рис. 3–5), постраждало 6 об'єктів ПЗФ [3]. По території 15 об'єктів ПЗФ було зафіксовано пересування військової техніки; будівництво інженерних укріплень виявлено на території 11 об'єктів ПЗФ. Неконтрольовані вирубування дерев як будівельного матеріалу та палива виявлено на 16 об'єктах ПЗФ. Сміття, пально-мастильні матеріали, залишки техніки та озброєння виявлено на території 7 об'єктів ПЗФ. Інформації про залишені та захоронені тіла загиблих людей і тварин на території об'єктів ПЗФ немає.

Впливу трьох і більше чинників воєнних дій зазнали 19 об'єктів ПЗФ, впливу 6 і більше чинників – 8 об'єктів і впливу 9 чинників – один об'єкт.

Висновки

1. Негативного впливу воєнних дій зазнали 45 територій та об'єктів природно-заповідного фонду, що перебувають на балансі ДП «Ліси України», загальною площею 36441,0 га.

2. Найчастіше території об'єктів природно-заповідного фонду зазнавали негативного впливу воєнних дій внаслідок уражень авіаційними бомбардуваннями та обстрілами далекобійної артилерії, ракетами, БПЛА (37 об'єктів) та базування військових підрозділів (40 об'єктів).

3. Впливу трьох і більше негативних чинників воєнних дій зазнали 19 об'єктів ПЗФ, впливу 6 і більше чинників – 8 об'єктів і впливу 9 чинників – один об'єкт. У разі спільної дії кількох негативних чинників воєнних дій вибухи

Таблиця 4

Негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ Північного лісового офісу

№ з/п	Назва об'єкта ПЗФ	Область, філія, в якій розташований об'єкт ПЗФ	Категорія ПЗФ	Площа, га	Розмір шкоди/збитків, завданих об'єкту ПЗФ, тис. грн
1	Олишівська дача	Чернігівська обл. «Чернігівське ЛГ»	лісовий заказник місцевого значення	535	поки що не розраховано
2	Олишівський	Чернігівська обл. «Чернігівське ЛГ»	ботанічний заказник місцевого значення	31,1	поки що не розраховано
3	Монастирський ліс	Сумська обл. «Конотопське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	864	поки що не розраховано
Всього по офісу				4330,1	поки що не розраховано

різноманітних боєприпасів, ракет та мін найчастіше супроводжувалися кулями та фрагментами боєприпасів, що розірвалися, а також падінням підбитих літальних апаратів і ракет – 8 разів; пересування військової техніки найчастіше супроводжується будівництвом інженерних укріплень та неконтрольованим вирубуванням дерев – 12 разів.

4. Розмір збитків для об'єктів природно-заповідного фонду розраховано для 6 об'єктів ПЗФ на території Південного та Східного лісового офісів – сумарно становить 817272,44 тис. грн. Для 39 об'єктів ПЗФ розмір збитків поки що

не розраховано у зв'язку з обмеженим доступом і неможливістю проведення відповідних обстежень та експертиз і залишається актуальним завданням.

5. Для ліквідації наслідків негативного впливу воєнних дій на об'єкти ПЗФ потрібно розрахувати збитки, завдані довкіллю, проводити розмінування та дослідження території об'єктів заповідного фонду на наявність вибухонебезпечних предметів, а також провести необхідні санітарні рубки, щоб запобігти масовому розмноженню шкідників на загиблих та ослаблених деревах, що постраждали внаслідок пожеж.

Таблиця 5

Негативний вплив воєнних дій на об'єкти ПЗФ Столичного лісового офісу

№ з/п	Назва об'єкта ПЗФ	Область, філія, в якій розташований об'єкт ПЗФ	Категорія ПЗФ	Площа, га	Розмір шкоди/збитків, завданих об'єкту ПЗФ, тис. грн
1	Чапля	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	орнітологічний заказник місцевого значення	1,3	поки що не розраховано
2	Чорний лелека	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	орнітологічний заказник місцевого значення	3,2	поки що не розраховано
3	Сосново-дубові насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	3,8	поки що не розраховано
4	Дворянські насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	2,9	поки що не розраховано
5	Соснові насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	4,5	поки що не розраховано
6	Соснові насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	3,8	поки що не розраховано
7	Дворянські насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	6,2	поки що не розраховано
8	Соснові насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	10	поки що не розраховано
9	Соснові насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	7	поки що не розраховано
10	Мішані насадження	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	пам'ятка природи місцевого значення	3,1	поки що не розраховано
11	Гайдамацьке болото	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	751	поки що не розраховано
12	Коблицький ліс	Київська обл. «Іванківське ЛГ»	заповідне урочище місцевого значення	148	поки що не розраховано
13	Жуків хутір	Київська обл. «Київське ЛГ»	лісовий заказник загальнодержавного значення	622,5	поки що не розраховано
14	Гореницький	Київська обл. «Київське ЛГ»	лісовий заказник місцевого значення	230,6	поки що не розраховано
15	Калитянська дача	Київська обл. «Київське ЛГ»	ландшафтний заказник загальнодержавного значення	1162	поки що не розраховано
16	Плахтянський	Київська обл. «Київське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	227,2	поки що не розраховано
17	Корчуватник	Київська обл. «Київське ЛГ»	заповідне урочище місцевого значення	41	поки що не розраховано
18	Пужа	Київська обл. «Київське ЛГ»	заповідне урочище місцевого значення	10	поки що не розраховано
19	Яхнівський	Київська обл. «Тетерівське ЛГ»	ландшафтний заказник місцевого значення	414	поки що не розраховано
Всього по офісу				3652,1	поки що не розраховано



Рис. 1. Місце влучання артилерійського снаряда в лісовому заказнику місцевого значення «Балабанівка» (фото: березень 2024 р.)



Рис. 2. Наслідки пожежі, що виникла в лісовому заказнику місцевого значення «Балабанівка» в результаті артилерійського обстрілу (фото: березень 2024 р.)



Рис. 3. Загиблі внаслідок пожежі культури сосни в заповідному урочищі місцевого значення «Андріївське» (фото: травень 2024 р.)



Рис. 4. Наслідки низової пожежі в заповідному урочищі «Андріївське»
(фото: травень 2024 р.)



Рис. 5. Наслідки верхової пожежі в заповідному урочищі місцевого значення
«Андріївське» (фото: травень 2024 р.)

Список літератури

1. Кузик АД, Товарианський ВІ. Вплив воєнних дій на лісові екосистеми України та їх післявоєнне відновлення. Вісник ЛДУБЖД. 2023;27:16-22. doi:10.32447/20784643.27.2023.02
2. Методика визначення шкоди та збитків, завданих територіям та об'єктам природно-заповідного фонду внаслідок збройної агресії Російської Федерації, Наказ Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України № 424 [Інтернет], 13 жовт. 2022 [цитовано 15 черв. 2024]. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1416-22#Text>
3. Рибалова ОВ, Кочура АС, Ярмола ВА. Вплив бойових дій на унікальні природні об'єкти України. In: The XIV International Scientific and Practical Conference "Prospects for the development of science and the environment" [Internet]; April 10-12; Helsinki, Finland; 2023. p. 88-94 [cited May 20, 2024]. Available from: <https://eu-conf.com/wp-content/uploads/2023/04/Prospects-for-the-development-of-science-and-the-environment.pdf>

References

1. Kuzyk AD, Tovarianskyi VI. The impact of military actions on forest ecosystems of Ukraine and their post-war restoration. Bulletin of the LDUBZH. 2023;27:16-22. doi:10.32447/20784643.27.2023.02. Ukrainian.
2. The method of determining damage and losses caused to the territories and objects of the nature reserve fund as a result of the armed aggression of the Russian Federation, Order of the Ministry of Environmental Protection and Natural Resources of Ukraine No. 424 [Internet], Oct. 13, 2022 [cited June 15, 2024]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1416-22#Text>. Ukrainian.
3. Rybalova OV, Kochura AS, Yarmola VA. Impact of hostilities on unique natural objects of Ukraine. In: The XIV International Scientific and Practical Conference "Prospects for the development of science and the environment" [Internet]; April 10-12; Helsinki, Finland; 2023. p. 88-94 [cited May 20, 2024]. Available from: <https://eu-conf.com/wp-content/uploads/2023/04/Prospects-for-the-development-of-science-and-the-environment.pdf>. Ukrainian.

Yu. Bolokhovets¹, I. Lytsur¹, I. Sheremet^{1,2}, O. Rak¹, N. Partyka¹

¹ State Enterprise "Forests of Ukraine" of the State Agency of Forest Resources of Ukraine, Ukraine

² National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

IMPACT AND CONSEQUENCES OF MILITARY ACTIONS FOR NATURE PROTECTION AREAS AND OBJECTS OF THE NATURE RESERVE FUND WITHIN THE BOUNDARIES OF THE STATE ENTERPRISE "FORESTS OF UKRAINE" LANDS

Abstract

The study analyzed data on the negative impact of military actions on the objects of the nature reserve fund under the management of the State Enterprise "Forests of Ukraine" within the forest offices as of March 1, 2024. The impact of military actions on Nature Reserve Fund (NRF) objects was analyzed according to ten factors. It was established that out of the 9 Forest offices of the State Enterprise "Forests of Ukraine", the negative impact of military operations on NRF objects was noted in the territory of the Southern, Eastern, Slobozhansky, Northern and Capital forest offices.

45 objects of the Nature Reserve Fund, which are located on the lands of forestry purpose, and are in permanent use of the State Enterprise "Forests of Ukraine" with a total area of 36,441.0 hectares, were negatively affected by the military operations. Most often, the territories of the objects of the nature reserve fund were negatively affected by military operations as a result of damage by aerial bombardment and shelling of long-range artillery, missiles, UAVs (37 objects) and the basing of military units (40 objects). The 19 NRF objects were affected by three or more negative factors of military operations, which included explosions of various ammunition, rockets and mines, most often accompanied by bullets and fragments of ammunition that exploded, as well as the fall of downed aircraft and missiles. The construction of engineering fortifications and the uncontrolled felling of trees often accompanied the movement of military equipment.

The amount of damage to the objects of the nature reserve fund was calculated for 6 objects of the NRF on the territory of the Southern and Eastern forest offices and totals UAH 817,272.44. For 39 NRF objects, the amount of damages has not yet been calculated due to limited access and the impossibility of conducting relevant surveys and examinations and remains an urgent task.

In order to eliminate the consequences of the negative impact of military operations on the NRF objects, it is necessary to calculate the damage caused to the environment, carry out demining. An important task is to conduct an inspection of the protected areas for the presence of explosive objects, as well as carry out the necessary sanitary felling to prevent the mass reproduction of pests on the dead and weakened trees damaged by fires.

Keywords: State Enterprise "Forests of Ukraine", Nature Reserve Fund, consequences of military operations, Forest Offices, the impact of military operations.

Матеріал надійшов 21.06.2024

Відомості про авторів
Notes about authors

Болоховець Юрій Віталійович – генеральний директор ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна

Bolokhovets Yurii – General Director of the State Enterprise “Forests of Ukraine” of the State Agency of Forest Resources of Ukraine, Ukraine

e-mail: info@e-forest.gov.ua

Лицур Ігор Миколайович – доктор економічних наук (спеціальність «Економіка природокористування та охорони навколишнього середовища»), директор виконавчий ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна

Lytsur Ihor – Doctor of Economic Sciences (specialty “Economy of Nature Use and Environmental Protection”), Executive Director of the State Enterprise “Forests of Ukraine” of the State Agency of Forest Resources of Ukraine, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-3867-0734>

e-mail: info@e-forest.gov.ua

Шеремет Іван Миколайович – директор Департаменту лісового господарства ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, аспірант кафедри відтворення лісів та лісових меліорацій Навчально-наукового інституту лісового і садово-паркового господарства Національного університету біоресурсів і природокористування України, Україна

Sheremet Ivan – Director of the Department of Forestry of the State Enterprise “Forests of Ukraine”, graduate student of the Department of Forest Restoration and Melioration of the Educational and Scientific Institute of Forestry and Landscape-Park Management of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Ukraine

e-mail: info@e-forest.gov.ua

Рак Олександр Олексійович – кандидат біологічних наук, провідний інженер лісового господарства відділу лісового господарства Департаменту лісового господарства ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна

Rak Olexsandr – Candidate of Biological Sciences, PhD, leading forestry engineer of the Forestry Department of the State Enterprise “Forests of Ukraine”, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-0403-9469>

e-mail: aleksandr_rak@ukr.net

Партика Наталія Володимирівна – провідний інженер лісового господарства відділу лісового господарства Департаменту лісового господарства ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна

Partyka Nataliia – leading forestry engineer of the Forestry Department of the State Enterprise “Forests of Ukraine”, Ukraine

e-mail: info@e-forest.gov.ua



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Антонюк Максим Зиновійович – доктор біологічних наук, завідувач кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0002-5877-969X>
e-mail: antonyuk.m@ukma.edu.ua

Білько Денис Іванович – кандидат біологічних наук, доцент, ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0001-6801-401X>
e-mail: denys.bilko@ukma.edu.ua

Білько Надія Михайлівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри, гарант ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0002-3213-0032>
e-mail: nbilko@ukma.edu.ua

Блюм Ярослав Борисович – академік НАН України, професор, доктор біологічних наук, Державна установа «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Україна
<https://orcid.org/0000-0001-7078-7548>
e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

Болоховець Юрій Віталійович – генеральний директор ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Вакулюк Поліна Василівна – доктор технічних наук, професор кафедри хімії факультету природничих наук Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0001-7828-1349>
e-mail: vakuliuk@ukma.edu.ua

Вишенська Ірина Георгіївна – кандидат біологічних наук, доцент кафедри екології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0002-2075-5705>
e-mail: vyshenska@ukma.edu.ua

Вортман Марина Яківна – кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0003-0092-6009>

Лагоднюк Ігор Юрійович – аспірант ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0001-6865-8018>
e-mail: laigor777@gmail.com

Лемешко Валентина Миколаївна – молодший науковий співробітник Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0003-1916-2301>

Лицур Ігор Миколайович – доктор економічних наук (спеціальність «Економіка природо-користування та охорони навколишнього середовища»), директор виконавчий ДП «Ліси України» Державного агентства лісових ресурсів України, Україна
<https://orcid.org/0000-0002-3867-0734>
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Мельник Єлизавета Євгенівна – здобувачка ОНП «Екологія та охорона навколишнього середовища» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
e-mail: yelyzaveta2.melnyk@ukma.edu.ua

Нечипуренко Олексій Олександрович – кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри біології факультету природничих наук Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), спеціаліст з технічної підтримки Laboratorios Pirga, S.A., Київ, Україна

Павлюк Дарина Володимирівна – студентка бакалаврської програми «Біологія та біотехнологія» кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
e-mail: daryna.pavliuk@ukma.edu.ua

Партика Наталія Володимирівна – провідний інженер лісового господарства відділу лісового господарства Департаменту лісового господарства ДП «Ліси України», Україна
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Пахаренко Маргарита Вікторівна – PhD, провідний спеціаліст, асистентка, ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0003-2718-5116>
e-mail: m.pakharenko@ukma.edu.ua

Рак Олександр Олексійович – кандидат біологічних наук, провідний інженер лісового господарства відділу лісового господарства Департаменту лісового господарства ДП «Ліси України», Україна
<https://orcid.org/0000-0002-0403-9469>
e-mail: aleksandr_rak@ukr.net

Руссу Ірина Зіновіївна – кандидат біологічних наук, доцент, ОНП «Лабораторна діагностика біологічних систем» Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0001-9676-2859>
e-mail: iryna.russu@ukma.edu.ua

Созінова Оксана Ігорівна – Інститут захисту рослин НААН, Державна установа «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Україна
<https://orcid.org/0000-0002-0981-3433>
e-mail: sozinovaoksana1@gmail.com

Терновська Тамара Костянтинівна – доктор біологічних наук, професор кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна
<https://orcid.org/0000-0002-9712-1516>
e-mail: ternovska@ukma.edu.ua

Фуртат Ірина Михайлівна – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології факультету природничих наук Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

<https://orcid.org/0000-0003-0681-2889>

e-mail: furtat@ukma.edu.ua

Шевченко Валерій Васильович – доктор хімічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу хімії олігомерів і сітчастих полімерів Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна

<https://orcid.org/0000-0003-2100-4468>

Шеремет Іван Миколайович – директор Департаменту лісового господарства ДП «Ліси України», аспірант кафедри відтворення лісів та лісових меліорацій Навчально-наукового інституту лісового і садово-паркового господарства Національного університету біоресурсів і природокористування України, Україна

NOTES ABOUT AUTHORS

Antonyuk Maksym – Doctor of Science in Biology, Head of Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-5877-969X>
e-mail: antonyuk.m@ukma.edu.ua

Bilko Denys – PhD, Assistant Professor, “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0001-6801-401X>
e-mail: denys.bilko@ukma.edu.ua

Bilko Nadiia – M.D., Professor, Head of the department, guarantor of the “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-3213-0032>
e-mail: nbilko@ukma.edu.ua

Blume Yaroslav – Academician of the National Academy of Sciences of Ukraine, Professor, Doctor of Biological Sciences, Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0001-7078-7548>
e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

Bolokhovets Yurii – General Director of the State Enterprise “Forests of Ukraine” of the State Agency of Forest Resources of Ukraine, Ukraine
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Furtat Iryna – PhD in Biology, Associate Professor at the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-0681-2889>
e-mail: furtat@ukma.edu.ua

Lahodniuk Ihor – graduate student of the “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0001-6865-8018>
e-mail: laigor777@gmail.com

Lemeshko Valentyna – Junior Researcher at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-1916-2301>

Lytsur Ihor – Doctor of Economic Sciences (specialty “Economy of Nature Use and Environmental Protection”), Executive Director of the State Enterprise “Forests of Ukraine” of the State Agency of Forest Resources of Ukraine, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-3867-0734>
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Melnyk Yelyzaveta – graduate student of the “Ecology and Environmental Protection” program of the National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
e-mail: yelyzaveta2.melnyk@ukma.edu.ua

Nechypurenko Oleksii – PhD in Biology, Senior Lecturer at the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Technical Support Specialist at Laboratorios Hipra, S.A., Kyiv, Ukraine

Pakharenko Marharyta – PhD, Leading Specialist, Assistant, “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-2718-5116>
e-mail: m.pakharenko@ukma.edu.ua

Partyka Nataliia – leading forestry engineer of the Forestry Department of the State Enterprise “Forests of Ukraine”, Ukraine
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Pavlyuk Daryna – student of the Bachelor’s Program “Biology and Biotechnology” of the Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
e-mail: daryna.pavliuk@ukma.edu.ua

Rak Oleksandr – Candidate of Biological Sciences, PhD, leading forestry engineer of the Forestry Department of the State Enterprise “Forests of Ukraine”, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-0403-9469>
e-mail: aleksandr_rak@ukr.net

Russu Iryna – PhD, Assistant Professor, “Laboratory diagnostics of biological systems” program, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0001-9676-2859>
e-mail: iryna.russu@ukma.edu.ua

Sheremet Ivan – Director of the Department of Forestry of the State Enterprise “Forests of Ukraine”, graduate student of the Department of Forest Restoration and Melioration of the Educational and Scientific Institute of Forestry and Landscape-Park Management of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Ukraine
e-mail: info@e-forest.gov.ua

Shevchenko Valery – DSc in Chemistry, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Head of the Department of Oligomer and Network Polymer Chemistry at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-2100-4468>

Sozinova Oksana – Institute of Plant Protection NAAS, Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-0981-3433>
e-mail: sozinovaoksana1@gmail.com

Ternovska Tamara – Doctor of Science in Biology, Professor of Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-9712-1516>
e-mail: ternovska@ukma.edu.ua

Vakuliuk Polina – DSc in Technical Sciences, Professor at the Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0001-7828-1349>
e-mail: vakuliuk@ukma.edu.ua

Vortman Maryna – PhD in Chemistry, Senior Researcher at the Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0003-0092-6009>

Vyshenska Iryna – PhD, Associate Professor of the Ecology Department of the National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-2075-5705>
e-mail: vyshenska@ukma.edu.ua

ЗМІСТ

БІОЛОГІЯ

<i>Павлюк Д. В., Терновська Т. К., Антонюк М. З.</i> Стійкість рослин до збудників як результат взаємодії генів.....	3
<i>Нечипуренко О. О., Фуртат І. М., Вакулюк П. В., Лемешко В. М., Вортман М. Я., Шевченко В. В.</i> Ефективність поверхнево-активних речовин як компонентів для створення дезінфекційних засобів широкого спектра дії	16
<i>Созінова О. І., Блюм Я. Б.</i> Аналіз однонуклеотидних поліморфізмів у послідовностях генів <i>Pina</i> та <i>Pinb</i> диплоїдних пшениць <i>Triticum monosocum</i> і <i>T. urartu</i>	27
<i>Пахаренко М. В., Руссу І. З., Білько Д. І., Лагоднюк І. Ю., Білько Н. М.</i> Особливості впливу рекомбінантних цитокінів на функціональну активність гемопоетичних клітин-попередників при мієлодиспластичному синдромі <i>in vitro</i>	36

ЕКОЛОГІЯ

<i>Вишенська І. Г., Мельник Є. Є.</i> Оцінювання регуляторних екосистемних послуг зелених насаджень в урбоекосистемах	42
<i>Болоховець Ю. В., Лицур І. М., Шеремет І. М., Рак О. О., Партика Н. В.</i> Вплив і наслідки воєнних дій для природоохоронних територій та об'єктів природно-заповідного фонду в межах земель ДП «Ліси України»	53
Відомості про авторів	62

CONTENTS

BIOLOGY

<i>D. Pavlyuk, T. Ternovska, M. Antonyuk</i> Plant resistance to pathogens as a result of gene interaction	3
<i>O. Nechypurenko, I. Furtat, P. Vakuliuk, V. Lemesko, M. Vortman, V. Shevchenko</i> The effectiveness of surfactants as compounds for creating disinfectants with a wide spectrum of action	16
<i>O. Sozinova, Ya. Blume</i> Analysis of single nucleotide polymorphisms in sequences of <i>Pina</i> and <i>Pinb</i> genes of the diploid wheats <i>Triticum monococcum</i> and <i>T. urartu</i>	27
<i>M. Pakhareenko, I. Russu, D. Bilko, I. Lahodniuk, N. Bilko</i> Peculiarities of the influence of recombinant cytokines on the functional activity of hematopoietic progenitor cells in myelodysplastic syndrome <i>in vitro</i>	36

ECOLOGY

<i>I. Vyshenska, Ye. Melnyk</i> Assessment of regulatory ecosystem services of green plants in urban ecosystems	42
<i>Yu. Bolokhovets, I. Lytsur, I. Sheremet, O. Rak, N. Partyka</i> Impact and consequences of military actions for nature protection areas and objects of the nature reserve fund within the boundaries of the State Enterprise “Forests of Ukraine” lands	53
Notes about authors	62

**НАУКОВІ ЗАПИСКИ НаУКМА
БІОЛОГІЯ І ЕКОЛОГІЯ**

**NaUKMA RESEARCH PAPERS
BIOLOGY AND ECOLOGY**

Науковий рецензований фаховий електронний журнал

Ідентифікатор у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R40-04345
(рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення
№ 1158 від 11.04.2024)

Вебсайт журналу: <http://nrpbe.ukma.edu.ua>

**Том 7
2024**

Редакторка і коректорка *Н. Мінько*
Комп'ютерне верстання *А. Шмаркатюк*

Адреса редакції:
вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04070
e-mails: antonyuk.m@ukma.edu.ua
vyshenska@ukma.edu.ua
redviddil@ukma.edu.ua

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів
видавничої продукції серія ДК № 3631 від 23.11.2009