

**DOI 10.17721/1728.2748.2022.89.1-46**

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

<b>ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР</b>	Л. І. Остапченко, д-р біол. наук, проф.
<b>РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ</b>	Е. О. Торгало, канд. біол. наук (відп. секр.); Шандор Макай, д-р біол. наук, проф. (м. Сомбатхей, Угорщина); Іван Бубриак, канд. мед. наук (Оксфорд, Велика Британія); В. Г. Хоперія, д-р мед. наук, проф.; В. С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; М. Ю. Макарчук, д-р біол. наук, проф.; Н. Ю. Таран, д-р біол. наук, проф.; А. В. Сиволоб, д-р біол. наук, проф.; В. В. Джаган, канд. біол. наук, доц.; О. В. Жолос, д-р біол. наук, проф.; Т. В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; М. Є. Дзержинський, д-р біол. наук, проф.; Абенаволі Людовіко, д-р мед. наук (м. Катандзаро, Італія)
<b>Адреса редколегії</b>	ННЦ "Інститут біології та медицини"; просп. акад. Глушкова, 2 а, м. Київ, 03127, Україна ☎ (38044) 521-35-98; <a href="https://bio.visnyk.knu.ua/">https://bio.visnyk.knu.ua/</a>
<b>Затверджено</b>	Вченого радою ННЦ "Інститут біології та медицини" 30.06.22 (протокол № 12)
<b>Атестовано</b>	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/3 від 14.04.10
<b>Зареєстровано</b>	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 16053-4525 ПР від 09.11.09
<b>Засновник та видавець</b>	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет". Свідоцтво внесено до Державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02
<b>Адреса видавця</b>	ВПЦ "Київський університет", б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна, ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28
<b>Журнал входить до наукометричних баз:</b>	Index Copernicus (із 2012 р. ICV – 2019 = 71.39); Cite Factor (із 2014 р.); Research Bible (із 2013 р.); Academic Keys (із 2013 р.); DOAJ (із 2013 р.); EBSCO EJS (із 2012 р.); Free medical journals list of Geneva Foundation for Medical Education and Research (із 2014 р.); HINARI (із 2013 р.); Medical Journals Links (із 2013 р.); OAII (із 2012 р.); The Knowledge Network (із 2014 р.); Ulrich's Periodicals Directory (із 2012 р.); WorldCat (із 2013 р.); "Наукова періодика України" в Національній бібліотеці України імені В. І. Вернадського та в Національному депозитарії академічних текстів

**DOI 10.17721/1728.2748.2022.89.1-46**

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

<b>EDITOR-IN-CHIEF</b>	Ostapchenko Lyudmila, Dr Hab., Prof.
<b>EDITORIAL BOARD</b>	Torgalo Elizabeth, PhD; Sandor Makai, Dr Hab., Prof. (Szombathely, Hungary); Ivan Boubriak, PhD (Oxford, United Kingdom); Khoperiay Viktiray, Dr Hab., Prof.; Viktor Martynyuk, Dr Hab., Prof.; Mykola Makarchuk, Dr Hab., Prof.; Nataliia Taran, Dr Hab., Prof.; Andrii Sivolob, Dr Hab., Prof.; Veronika Dzhagan, PhD, Associate Prof.; Alexander Zholos, Dr Hab., Prof.; Tetiana Berehova, Dr Hab., Prof.; Mykola Dzerzhynskyi, Dr Hab., Prof.; Ludovico Abenavoli, PhD, M. D., Associate Prof. (Catanzaro, Italy)
<b>Editorial address</b>	ESC "Institute of Biology and Medicine", 2a, acad. Glushkov av., Kyiv, 03127, Ukrainian ☎ (38044) 521 35 98; <a href="https://bio.visnyk.knu.ua/">https://bio.visnyk.knu.ua/</a>
<b>Approved by</b>	The Academic Council of the ESC "Institute of Biology and Medicine" 30.06.22 (Protokol № 12)
<b>Attestated by</b>	Higher Attestation Commission of Ukraine HAC Presidio decree № 1-05/3 (April 14th, 2010)
<b>Registared by</b>	Ministry of Justice of Ukraine. Registration certificate KV № 16053-4525 ПР (November 9th, 2009)
<b>Founded and Published</b>	Taras Shevchenko National University of Kyiv, Publishing house "Kyiv University". Certificate included in the State Register ДК № 1103 від 31.10.02
<b>Publisher's Address</b>	Publishing and Polygraphic Center "Kyiv University", 14, Taras Shevchenka blvd., Kyiv, 01601, Ukraine, ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; fax 239 31 28
<b>Abstracted and Indexed:</b>	Academic Keys, CiteFactor, Directory of Open Access Journals (DOAJ), E-Library.ru, Hinari, Geneva Foundation for Medical Education and Research, DRJI, Open Academic Journal Index (OAJI), Quality Open Access Market (QOAM), ResearchBib, Ulrich's Periodicals, WorldCat, Ukrainian scientific journals; V. I. Vernadsky National Library of Ukraine, The journal uses CLOCKSS digital archiving policy as well as an electronic archive of Vernadsky National Library of Ukraine.

---

**ЗМІСТ**

---

<b>Бородін С., Тугаров Ю., Остапченко Д., Кот Л., Короткий О.</b> Погляд на патогенетичні механізми ураження суглобів при коронавірусній хворобі 2019 (COVID-19).....	5
<b>Нужина Н., Маляренко В., Сивець Г.</b> Особливості анатомічної будови кореня та кореневища перстача білого ( <i>POTENTILLA ALBA L.</i> ) як діагностична ознака сировини.....	10
<b>Дуніч А., Совінська Р., Дащенко А., Міщенко Л.</b> Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу жовтої мозаїки квасолі із гладіолусів в Україні.....	14
<b>Пономаренко А., Коротєєва Г., Андрійчук О.</b> Еволюційні взаємовідносини українського ізоляту вірусу кільцевої плямистості одонтоглоссуму .....	19
<b>Подковка О., Макарчук М., Філімонова Н., Пампуха І., Нікіфоров М.</b> Стан основних психофізіологічних функцій у військовослужбовців різного віку .....	23
<b>Жолуденко Є., Жолобак Н.</b> Антигерпетична дія солей церію <i>in vitro</i> .....	28
<b>Литвиненко Ю., Джаган В., Вакал А.</b> Сучасний стан та перспективи дослідження дискоміцетів Гетьманського національного природного парку.....	32
<b>Заремба А., Заремба П., Будзанівська І., Загородня С.</b> Закономірності впливу вакцинації на динаміку поширення різних варіантів SARS-COV-2. Дворічний аналіз .....	39

---

**CONTENTS**

---

<b>Borodin S., Tuharov Y., Ostapchenko D., Kot L., Korotkyi O.</b>	
View of the pathogenetic mechanisms of joint damage in coronavirus disease 2019 (COVID-19) .....	5
<b>Nuzhyna N., Maliarenko V., Syvets H.</b>	
Features of the root and rhizome anatomical structure of <i>POTENTILLA ALBA</i> L. as a diagnostic sign of the raw materials.....	10
<b>Dunich A., Sovinska R., Dashchenko A., Mishchenko L.</b>	
Phylogenetic analysis of bean yellow mosaic virus isolates from gladioli in Ukraine.....	14
<b>Ponomarenko A., Korotieieva H., Anriichuk O.</b>	
Evolutionary relationship of Ukrainian isolate of odontoglossum ringspot virus.....	19
<b>Podkovka O., Makarchuk M., Filimonova N., Pampuha I., Nikiforov M.</b>	
State of the main phychophysiological functions in military servants of different age groups.....	23
<b>Zholudenko Y., Zholobak N.</b>	
Antiherpetic action of cerum salts in vitro .....	28
<b>Lytvynenko Yu., Dzhagan V., Vakal A.</b>	
Current status and prospects of research on discomycetes of the Hetmanskyi national nature park.....	32
<b>Zaremba A., Zaremba P., Budzanivska I., Zahorodnia S.</b>	
Patterns of the influence of vaccination on the dynamics of different SARS-COV-2 variants spread. Two-year analysis .....	39

## VIEW OF THE PATHOGENETIC MECHANISMS OF JOINT DAMAGE IN CORONAVIRUS DISEASE 2019 (COVID-19)

*The Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic has had an extremely serious impact on the livelihoods of people worldwide. Despite the mainly respiratory manifestations of SARS-CoV-2 infection, its consequences can affect the functioning of most systems of organism, including the musculoskeletal, dysfunction of which is a leading factor in disability of the population. Diseases of the joints are one of the most common pathologies of modernity, which in the last decade are increasingly found in young people and even children. The musculoskeletal symptoms can be observed as isolated clinical signs and expressed regardless of the severity of the viral disease. Chronic fatigue, myalgia, swelling and joint pain may occur during the acute phase of COVID-19 and as short-term or long-term complications, but their prevalence has not been systematically studied. Considering the wide range of clinical manifestations of SARS-CoV-2 infection and the complexity of their pathogenesis, the mechanisms underlying lesions of musculoskeletal system and rheumatological complications remain unclear. Today, the main research in this direction is focused mainly on a complete understanding of the regulatory pathways of immune dysregulation and inflammation. Excessive secretion of pro-inflammatory cytokines, disruption of signal transduction and immune response are the result of the severe impact of SARS-CoV-2 infection on most organs, including joints, as well as the use of corticosteroids for the treatment of patients with COVID-19. The presented review highlights generalized information on the main pathophysiological processes that can occur in the joints as a manifestation of the impact of SARS-CoV-2 infection, and possible key mechanisms which contribute to the progression of pathological changes.*

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, musculoskeletal system, joints, osteoarthritis.

**Introduction.** The pandemic of the Coronavirus disease COVID-19 is a relevant topic worldwide due to its extremely large impact on all aspects of the daily life of society. Researchers and clinicians are actively studying the pathogenetic mechanisms of damage caused by respiratory infection SARS-CoV-2. Recently, trends in scientific research are changing from the acute consequences of viral infection to long-term ones. Although the SARS-CoV-2 virus is mainly associated with the respiratory system, reports indicate a widespread tissue tropism of COVID-19. There is increasing evidence of the direct and indirect effects of the coronavirus infection on dysfunctions of various organ systems [1, 2]. The presence of musculoskeletal symptoms such as joint pain or arthralgia, muscle pain or myalgia, reactive arthritis and vasculitis (inflammation of blood vessels), etc., which can be both temporary and continue for months is a concern: there is a high probability of NSAID use, especially among the middle-aged and elderly population [3]. Joint and muscle pain in endemic coronaviruses is quite rare (occurs in less than 10 % of cases), while in SARS-CoV-2 arthralgia is noted in 15 % of cases, and muscle pain and general weakness occur in one quarter or half of patients with symptoms of COVID-19. But the potential mechanisms of the viral infection impact on the musculoskeletal system have not yet been systematically studied and are currently limited [2, 4]. Given the wide range of symptoms, it is likely that the mechanism of systemic effects of SARS-CoV-2 infection is multifactorial. Proposed mechanisms include endothelial damage and dysfunction, dysregulation and hyperactivation of the immune system, which is described as a cytokine storm and the ability of coronavirus to evade the immune system. As a result, coagulation and inflammation can significantly affect the progression of the disease and possibly lead to injury to the musculoskeletal system, in particular pathological manifestations in the joints [5]. Despite the fact that there is an increase in the number of cases of arthritis after infection with COVID-19, the potential mechanisms at the origin of arthritis in the context of SARS-CoV-2 viral infection still remain at the hypothesis stage [6, 7]. Arthritis can also occur as a result of steroid and antiviral drugs used to treat

COVID-19. Rheumatoid arthritis (RA), which can occur after COVID-19, deserves special attention [8]. Today, this issue is a completely new challenge for rheumatologists and scientists, which requires study and long-term observation.

**Potential cellular targets of the musculoskeletal system for SARS-CoV-2 infection.** Coronaviruses are known to enter host cells in three ways: receptor-mediated plasma membrane fusion, receptor-mediated endocytosis, or antibody-dependent viral entry. Receptor proteins on the surface of host cells are critical for virus attachment to cells. SARS-CoV-2 mediates infection by binding its spike protein (which comprises S1 and S2 subunits) to one of its main receptors, the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), using the host cell surface proteases, in particular, transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2), lysosomal cathepsins, proprotein convertase 1 and 3 (also known as furin), etc., the expression of which is crucial for the fusion of membranes and the final penetration of the virus into the cell [9].

ACE2 is expressed to varying degrees in almost all human organs (lung, heart, gut, adipose tissue, thyroid, kidney, vessels, and brain) [10]. Therefore, all types of cells and tissues that express ACE2 may be potential targets for SARS-CoV-2 infection. It is believed that SARS-CoV-2 can achieve a primary infection through the respiratory tract, then enter the circulation and infect non-target tissues containing ACE2- and TMPRSS2-rich cell types.

In studies [2] showed that a part of B cells in the epithelium of the respiratory tract, mast cells, macrophages, alveolar cells and T cells express ACE2 and TMPRSS2. In human skeletal muscle tissue, multiple cell types (endothelial cells, smooth muscle cells, pericytes, muscle stem cells, macrophages, adaptive immune cells and muscle fibers) express TMPRSS2. However, only smooth muscle cells and pericytes express ACE2. Several cells in the synovium, including fibroblasts, monocytes, B cells, and T cells, express ACE2 and TMPRSS2. In articular cartilage, proliferative, hypertrophic and effector chondrocytes express ACE2, and only homeostatic chondrocytes express TMPRSS2. In the meniscus, a small proportion of cartilage progenitors and

regulatory fibrochondrocytes express ACE2, while TMPRSS2 is not detected. ACE2 was found to be expressed in samples of composite unenriched cortical and trabecular bone and in osteoblast-enriched samples, whereas TMPRSS2 was almost undetectable in composite bone tissue but was expressed in all osteoblast-enriched samples.

Similar results indicate that musculoskeletal tissues may be potential sites of direct infection by SARS-CoV-2. Despite significant research efforts to learn more about the pathogenesis of COVID-19, musculoskeletal involvement is understudied. However, there is scientific evidence [11, 12], which report that RNA of SARS-CoV-2 was not detected in any of the knee joint samples: synovial fluid, synovial membrane and bone tissue, as well as in myocytes of muscle tissue, despite a positive result in samples of other tissues (sputum, nasopharyngeal secretions, blood and feces). During the past few months there have been isolated reports [13, 14] about of cases SARS-CoV-2 RNA detection in the synovial fluid, which is associated with the development of arthritis on the background of a viral infection. The establishment of such cases raises the probability that SARS-CoV-2 RNA may be a pathological stimulus for local synovial inflammation in the joint, which deserves further consideration and investigation.

**Clinical manifestations and symptoms of joint disease in COVID-19.** The clinical spectrum of COVID-19 symptoms ranges from asymptomatic infection or mild respiratory symptoms (dry cough, nasal congestion, sore throat and dyspnea) to severe pneumonia with acute respiratory distress syndrome and multiorgan dysfunction. New evidence suggests that SARS-CoV-2 infection can cause musculoskeletal damage during the infectious or post-infectious stage. Patients with COVID-19 sometimes experience hypocalcemia, vitamin D deficiency, and possible immobilization due to the disease, which contributes to bone demineralization. In general, SARS-CoV-2 infection may be a trigger for clinical arthritis, through mechanisms related to immune inflammation, but most often it is associated with arthralgia, myalgia and muscle weakness [15]. Today the overwhelming number of studies on COVID-19 consider the occurrence of arthralgia and myalgia together as a single entity [3, 16]. However, researches are emerging that highlight the appearance of joint pain associated with COVID-19 as a new and clear manifestation of SARS-CoV-2 infection which was previously underrecognized by clinicians [16, 17]. Arthralgia is mentioned as one of the possible early symptoms in patients with COVID-19, which occurs independently of respiratory symptoms [18]. Also, systematic reviews confirm that approximately 4 % to 12 % of patients still suffer from arthralgia during the first year after infection [19, 20]. The causes of joint pain can be varied: from degenerative and destructive processes to inflammation of the periaricular tissues. It can also be caused by other conditions, such as an infection or vaccination [21].

Viral arthritis usually manifests as a polyarticular arthritis that coincides with other viral symptoms, the pathological mechanism of which may be mediated by local destruction after viral infiltration of tissue or an immune-mediated response triggered by molecular mimicry. Some identified cases of arthritis in patients with COVID-19 were clinically more consistent with reactive arthritis, although often the patient was not diagnosed extra-articular symptoms, as it is usually triggered by bacterial infections, but it can also be caused by viruses. Reactive arthritis is usually mono- or oligoarticular and asymmetric in distribution, may occur sometime after the initial viral symptoms and in most cases, it

disappears within three to six months without causing long-term problems [6, 13]. Arthritis may be a response to a masked pulmonary or gastrointestinal infection as a consequence of COVID [6, 22] or it may be a nonspecific consequence of the "cytokine storm" that accompanies symptomatic forms of the disease [23].

In addition, it is important to understand the effects on the musculoskeletal system of modern drugs: the use of antibiotics to eliminate any factors associated with reactive arthritis, analgesics for pain relief, nonsteroidal anti-inflammatory and specific antiviral agents, steroids or antirheumatic drugs, given that the side effects profile of many of these drugs coincides with the symptoms that are characteristic of COVID-19 and may mask the presence of SARS-CoV-2 infection.

Therefore, clinical signs of damage to the musculoskeletal system, in particular the joints, against the background of both acute infection and long-term COVID-19 must be carefully analyzed in combination with the results of laboratory tests, including parameters associated with inflammation and infection (Interleukin 6, procalcitonin, C-reactive protein, etc.). Monitoring symptoms is of paramount importance to minimize any progressive and long-term disability.

**Pathophysiological mechanisms of joint damage in SARS-CoV-2 infection.** It has been established that the pathophysiological mechanisms of COVID-19 are related to direct viral invasion via ACE2 receptors, dysregulation of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), hypoxia, hyperinflammation, endotheliopathy and thrombosis [24]. The potential mechanisms underlying the occurrence of joint pathologies or complications of their course caused by SARS-CoV-2 infection remain at the hypothesis stage. However, their main evaluation is focused mainly on immunopathological features, which include the hyperactivation of immune cells, prolonged inflammatory response, release of a large number of pro-inflammatory cytokines and chemokines, insufficient interferon response and possible production of autoantibodies [8]. An inflammatory reaction (both innate and adaptive immune response) in the airways caused by SARS-CoV-2 infection can lead to systemic inflammation. In severe cases, COVID-19 can excessively stimulate the immune response, leading to uncontrolled release of cytokines, a so-called "cytokine storm," T-cell depletion and lymphopenia [25]. The systemic inflammatory response together with other concomitant pathological factors, causes disruption or deregulation of many organ systems, exacerbation of existing pathologies and can be a trigger for pathological changes in the joints [26].

Studies have shown that SARS-CoV-2 infection induces an increase in important pro-inflammatory molecules which impact on musculoskeletal tissues: interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-8, IL-17 and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), interferon-gamma inducible protein 10 (IP-10 or CXCL10), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1), C-reactive protein (CRP), soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE), receptor activator of nuclear factor-B ligand (RANKL), vascular endothelial growth factor (VEGF) and macrophage colony stimulating factor (M-CSF), et al. [27]. These inflammatory mediators can promote phenotypic stability of joint cartilage, catabolic cascades and tissue destruction, leukocyte infiltration or tissue repair [2, 28]. IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  are key inflammatory factors in the pathogenesis of osteoarthritis (OA), induce chondrolysis, that may result in the occurrence of arthralgias, and are involved in joint degeneration and synovial cell activation in RA [29]. CXCL10, IL-17 and TNF- $\alpha$  are known to play an important role in

osteoclastogenesis [30, 31]. It is believed that IL-1 $\beta$ , IL-17 and TNF- $\alpha$  involved in inflammatory processes in tendinopathy and degenerative tendon disorders [32].

It should be noted that the increased level of inflammatory mediators promotes vasodilation and induces dysfunction of endothelial cell, which can result in impaired blood circulation in the synovial membrane and subchondral bone, degenerative changes in articular cartilage, stimulation of osteocyte apoptosis and osteoclast formation, and affects bone metabolism. Endothelial cells are rich in ACE2, so the virus itself can directly cause dysfunction by simply infecting the cells [33].

The inflammatory effects of key cytokines such as IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  are realized through the appropriate intracellular signaling pathways resulting in the activation of nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells' (NF- $\kappa$ B), JAK/STAT and MAPK pathways [34, 35]. Through various combinations of cytokine receptors and signal transduction pathways, a one signaling molecule may not only participate in one pathway, but also affect the transduction of other pathways.

S. Ong, et al. reported that abnormally elevated levels of pro-inflammatory cytokines (particularly IL-1 $\beta$ ) persisted 6 months after contracting COVID-19, even in patients who remained asymptomatic during the acute phase of the disease [36].

**The relationship between COVID-19 and RA.** The consequences of COVID-19, in particular rheumatological manifestations that occur during the course of a coronavirus infection or after an acute illness, have been investigated since 2019. In the literature sources it is mentioned that respiratory viruses can be associated with the development of RA – an autoimmune disease which results in joint destruction, is characterized by chronic inflammation, progresses cumulatively and has a wide range of extra-articular (systemic) manifestations [37, 38]. In terms of the severity of joint damage, RA is unparalleled among other diseases of the musculoskeletal system. For the treatment of this pathological condition, a "treat to target" strategy is often used, which aims to achieve a state of remission or a low disease activity, and needs the use of immunosuppressive drugs, which requires increased attention to their immune status to minimize infectious risks, especially during the COVID-19 pandemic [39].

As you know, any infectious pathology is closely related to autoimmune, since both pathogenetic mechanisms interact with each other, jointly causing the response of the immune system. The mechanisms of the development of autoimmune reactions include the induction of costimulators of antigen-presenting cells (primarily macrophages that first encounter an infection); molecular mimicry (when a foreign antigen has a common sequence or structural similarity with its own antigens); the influence of viruses that cause polyclonal activation of B-lymphocytes, provoking the synthesis of a significant number of antibodies, some of which are autoreactive, etc. Because most patients with an autoimmune disease the symptoms appear long before the onset of abnormal immune reactions, it is often difficult to pinpoint the factors responsible for the onset of the disease.

The mechanisms of the autoimmune reactions caused by the SARS-CoV-2 virus have not been sufficiently studied, and it is still too early to predict a direct relationship between the coronavirus infection and the development of RA [40]. Immunologists and rheumatologists suggest that SARS-CoV-2 may indeed be the virus that causes acute autoimmune diseases in genetically predisposed patients. In

the modern scientific literature, the question is even raised: is COVID-19 an infection or an autoimmune disease? [41]. Although several cases of RA after COVID-19 have been reported [42, 43], more research is still needed to understand whether the manifestation of RA is related to SARS-CoV-2 infection or is a coincidence. Both COVID-19 and RA have similar pathogenesis mechanisms mediated by aberrant ACE/ACE2 activity, and driven by the activities of analogous macrophage clusters [8, 44]. ACE activation promotes the accumulation of angiotensin II, which may be pathologically involved in both COVID-19 and RA. In the inflammatory environment, angiotensin II is known to induce inflammatory responses and vascular permeability by enhancing the production of prostaglandins and VEGF. These inflammatory mediators further contribute to the activation of nuclear factor NF- $\kappa$ B, which enhances inflammatory reactions and promotes the infiltration of inflammatory cells into damaged tissues [8, 35]. Therefore, the hyperactivation immune inflammatory response provoked by COVID-19 may serve as a potential causative factor in the development of autoimmune and rheumatic manifestations.

Analyzing the results of scientific research, several possible specific mechanisms can be identified, such as the polyclonal activation of B-lymphocytes; immunosuppression, which occurs in most patients with COVID-19 in the early phases of the disease; inadequate syndrome of recovery of the immune system after the acute phase and immunosuppression with a breakthrough of autotolerance; the results of polypharmacotherapy, glucocorticoids, immunoglobulins and other immunoactive drugs [45].

**A critical view at the crosstalk between COVID-19 and OA.** Osteoarthritis is one of the most common diseases in the elderly, which is characterized by inflammation of all articular structures, muscle atrophy, bone remodeling and sclerosis, cartilage destruction, meniscus damage, synovial membrane hypertrophy, osteophyte development and ligament dysfunction. Often of this pathology is present simultaneously with other chronic diseases such as cardiovascular disease, diabetes and obesity. These comorbidities are risk factors for infection with COVID-19 and its high severity. Currently, there is not enough evidence that COVID-19 provokes the development of OA. Scientific sources suggest [5] that the inflammatory reaction in the organism caused by the SARS-CoV-2 virus, even of a low degree, can generate a large number of pro-inflammatory cytokines, which contributes to the destruction of cartilage, thus inducing of OA or worsening its course. Studies of the biochemical mechanisms of the potential effects of SARS-CoV-2 infection on cartilage degeneration or synovial inflammation in the joints are still at the initial stage [46].

**Conclusions.** Pathological changes in the organism caused by COVID-19 are mainly related to the expression of ACE2 in the appropriate cells of various tissues, impaired functioning of the renin-angiotensin system and inflammation. An excessive inflammatory reaction can cause serious damage to the musculoskeletal system, more than the coronavirus infection itself. Muscle fatigue, myalgia, joint pain and arthritis are the most common extrapulmonary manifestations of SARS-CoV-2 infection, which can have severe short-term or long-term consequences, the elimination of which sometimes require the use of steroids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, or physiotherapy. It is believed that these symptoms mainly arise as a result of inflammatory and immune reactions, in the development of which pro-inflammatory effector cytokines are involved in combination with factors related to concomitant therapy. Studies emphasize

that laboratory indicators (increased levels of C-reactive protein, creatinine, D-dimer, cytokines, lymphopenia, leukocytosis, etc.) and imaging methods (computed tomography, magnetic resonance imaging, ultrasound, radiography) play a crucial role in the diagnosis and assessment of manifestations of COVID-19. However, most of these methods focus mainly on the respiratory, cardiovascular and digestive systems, only a few results are related to the musculoskeletal system. Clinical features and mechanisms of musculoskeletal manifestations of COVID-19 require study and in-depth analysis.

#### References

1. Lopez M, Bell K, Annaswamy T, Juengst S, Ifejika N. COVID-19 guide for the rehabilitation clinician: a review of non-pulmonary manifestations and complications. *Am J Phys Med Rehabil.* 2020;99(8):669-73. PubMed PMID: 32467492; PubMed Central PMCID: PMC7299122.
2. Disser NP, De Micheli AJ, Schonk MM, Konnaris MA, Piacentini AN, et al. Musculoskeletal consequences of COVID-19. *J Bone Joint Surg Am.* 2020;102(14):1197-204. PubMed PMID: 32675661.
3. Cipollaro L, Giordano L, Padulo J, Oliva F, Maffulli N. Musculoskeletal symptoms in SARS-CoV-2 (COVID-19) patients. *J Orthop Surg Res.* 2020;178. <https://doi.org/10.1186/s13018-020-01702-w>.
4. Schett G, Manger B, Simon D, Caporali R. COVID-19 revisiting inflammatory pathways of arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16:465-70.
5. Lauwers M, Au M, Yuan S, Wen C. COVID-19 in joint ageing and osteoarthritis: current status and perspectives. *Int J Mol Sci.* 2022;23(2):720. doi:10.3390/ijms23020720.
6. Wendling D, Verhoeven F, Chouk M, Prati C. Can SARS-CoV-2 trigger reactive arthritis? *Joint Bone Spine.* 2021;88(1):105086. doi:10.1016/j.jbspin.2020.105086.
7. Gasparotto M, Frama V, Piovella C, Doria A, Iaccarino L. Post-COVID-19 arthritis: a case report and literature review. *Clin Rheumatol.* 2021;40:3357-62.
8. Dewanjee S, Kandimalla R, Kalra RS, Valupadas C, Vallamkondu J, et al. COVID-19 and rheumatoid arthritis crosstalk: emerging association, therapeutic options and challenges. *Cells.* 2021;10(12):3291. doi:10.3390/cells10123291.
9. Zhang Q, Xiang R, Huo S, Zhou Y, Jiang S, Wang Q, Yu F. Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy. *Sig Transduct Target Ther.* 2021;6:233. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00653-w>.
10. Angelini F, Zappa M, Reboldi G, Trapasso M, Cavallini C, Spanevello A, Verdecchia P. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection: one year later. *Eur J Intern Med.* 2021;93:28-34. PubMed PMID: 34588140.
11. Grassi M, Giorgi V, Nebuloni M, Zerbi P, Gismondo MR, et al. SARS-CoV-2 in the knee joint: a cadaver study. *Clin Exp Rheumatol.* 2022;40(3):608-12. PubMed PMID: 34665699.
12. White-Dzuro G, Gibson LE, Zazzeron L, White-Dzuro C, Sullivan Z, et al. Multisystem effects of COVID-19: a concise review for practitioners. *Postgrad Med.* 2021;133(1):20-7. PubMed PMID: 32921198.
13. Kuschner Z, Ortega A, Mukherji P. A case of SARS-CoV-2-associated arthritis with detection of viral RNA in synovial fluid. *J Am Coll Emerg Physicians Open.* 2021;2(4):e12452. doi:10.1002/emp2.12452.
14. Yokogawa N, Minematsu N, Katano H. Case of acute arthritis following SARS-CoV-2 infection. *Ann Rheum Dis.* 2020;80(6):e101. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218281.
15. Hasan LK, Deadwiler B, Haratian A, Bolia IK, Weber AE, Petriglano FA. Effects of COVID-19 on the musculoskeletal system: clinician's guide. *Orthop Res Rev.* 2021;13:141-50. PubMed PMID: 34584465.
16. Hoong CWS, Amin MNME, Tan TC, Lee JE. Viral arthralgia a new manifestation of COVID-19 infection? A cohort study of COVID-19-associated musculoskeletal symptoms. *Int J Infect Dis.* 2021;104:363-9. PubMed PMID: 33476761; PubMed Central PMCID: PMC7813485.
17. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(7):1017-32.
18. Joob B, Wiwanitkit V. Arthralgia as an initial presentation of COVID-19: observation. *Rheumatol Int.* 2020;40:823. doi: 10.1007/s00296-020-04561-0.
19. Sapkota HR, Nune A. Long COVID from rheumatology perspective – a narrative review. *Clin Rheumatol.* 2022;41(2):337-48.
20. Fernández-de-las-Peñas C, Navarro-Santana M, Plaza-Manzano G, Palacios-Ceña D, Arendt-Nielsen L. Time course prevalence of post-COVID pain symptoms of musculoskeletal origin in patients who had survived to SARS-CoV-2 infection. *Pain.* 2022;163(7):1220-31. PubMed PMID: 34561390.
21. Motaqi M, Hatef B, Askari Ashtiani A, Ghanjal A. Musculoskeletal problems in patients with COVID-19: a review study. *Asian J Sports Med.* 2021;12(3):e111040. doi: 10.5812/asjsm.111040.
22. Ono K, Kishimoto M, Shimasaki T. Reactive arthritis after COVID-19 infection. *RMD Open.* 2020;6:e001350. doi: 10.1136/rmdopen-2020-001350.
23. Quartuccio L, Semerano L, Benucci M, Boissier MC, De Vita S. Urgent avenues in the treatment of COVID-19: targeting downstream inflammation to prevent catastrophic syndrome. *Joint Bone Spine.* 2020;87(3):191-3. PubMed PMID: 32321634; PubMed Central PMCID: PMC7167227.
24. Siam HB, Abedin SM, Ahmed A, Nishat NH, Hossain MS. Pathophysiological mechanisms of disease severity in COVID-19: an update. *J Adv Biotechnol Exp Ther.* 2020;3(4):68-78.
25. Henderson LA, Canna SW, Schulert GS, Volpi S, Lee PY, et al. On the alert for cytokine storm: immunopathology in COVID-19. *Arthritis Rheumatol.* 2020;72:1059-63.
26. Ramani SL, Samet J, Franz CK, Hsieh C, Nguyen CV, Horbinski C, Deshmukh S. Musculoskeletal involvement of COVID-19: review of imaging. *Skeletal Radiol.* 2021;50:1763-73.
27. Dos Santos PK, Sigoli E, Braga L, Cornachione AS. The Musculoskeletal Involvement after mild to moderate COVID-19 infection. *Front Physiol.* 2022;13:813924. doi:10.3389/fphys.2022.813924.
28. Korotky OH, Vovk AA, Halenova TI, Vovk TB, Dvorshchenko KO, Falalyeyeva TM, Ostapchenko LI. Cytokines profile in knee cartilage of rats during monoiodoacetate-induced osteoarthritis and administration of probiotic. *Biopolym Cell.* 2020;36(1):23-35. <https://doi.org/10.7124/bc.000A1E>.
29. Su C-H, Lin C-Y, Tsai C-H, Lee H-P, Lo L-C, et al. Betulin suppresses TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  production in osteoarthritis synovial fibroblasts by inhibiting the MEK/ERK/NF- $\kappa$ B pathway. *J. of Functional Foods.* 2021;86:104729. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104729>.
30. Liu P, Lee S, Knoll J, Rauch A, Ostermay S, et al. Loss of menin in osteoblast lineage affects osteocyte-osteoclast crosstalk causing osteoporosis. *Death Differ.* 2017;24(4):672-82. PubMed PMID: 28106886; PubMed Central PMCID: PMC5384024.
31. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest.* 1999;103(9):1345-52. PubMed PMID: 10225978; PubMed Central PMCID: PMC408356.
32. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. *Surgeon.* 2017;15(5):297-302. PubMed PMID: 28596062.
33. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395:1417-8. PubMed PMID: 32325026; PubMed Central PMCID: PMC7172722.
34. Chen P, Tang Y, He W, Yang R, Lan Z, Chen R, Zhang P. Potential pathophysiological mechanisms underlying multiple organ dysfunction in cytokine release syndrome. *Mediators of Inflammation.* 2022;2022:7137900. <https://doi.org/10.1155/2022/7137900>.
35. Wong MCS, Wong S, Huang J, Yan B. Relating angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers with incidence or mortality of COVID-19. *ESC Heart Fail.* 2020;7:3119-23. PubMed PMID: 33121220; PubMed Central PMCID: PMC7524232.
36. Ong SWX, Fong S-W, Young BE, Chan Y-H, Lee B, et al. Persistent symptoms and association with inflammatory cytokine signatures in recovered coronavirus disease 2019 patients. *Open forum infectious diseases.* 2021;8(6):156. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab156>.
37. Favalli EG, Ingegnoli F, De Lucia O, Cincinelli G, Cimaz R, Caporali R. COVID-19 infection and rheumatoid arthritis: faraway, so close! *Autoimmun Rev.* 2020;19:102523. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102523.
38. Eryupoglu OE, Ates I. The relationship between rheumatoid arthritis and COVID-19. *Biomed J Sci Tech Res.* 2021;38(4):30501-6.
39. Hock ES, James M-MS, Wailoo A, Scott DL, Stevensonet M, et al. Treat-to-target strategies in rheumatoid arthritis: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *SN Compr Clin Med.* 2021;3:838-54.
40. D'Silva KM, Wallace ZS. COVID-19 and rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2021;33:255-61. PubMed PMID: 33625043; PubMed Central PMCID: PMC8784188.
41. Icenogle T. COVID-19: Infection or autoimmunity. *Front Immunol.* 2020;11:2055. doi:10.3389/fimmu.2020.02055.
42. Roongta R, Chattopadhyay A, Ghosh A. Correspondence on Onset of rheumatoid arthritis after COVID-19: coincidence or connected? *Ann Rheum Dis.* 2021. doi:10.1136/annrheumdis-2021-220479.
43. Özcan E, Özcan S. The new onset seropositive rheumatoid arthritis after COVID-19 infection: coincidental or related. *Kastamonu Med J.* 2022;2(1):24-6.
44. Zhu Z, Cai T, Fan L, Lou K, Hua X, Huang Z, Gao G. The potential role of serum angiotensin-converting enzyme in coronavirus disease 2019. *BMC Infect Dis.* 2020;20:883. doi:10.1186/s12879-020-05619-x.
45. Kudryavtsev I, Rubinstein A, Golovkin A, Kalinina O, Vasilyev K, Rudenko L, Isakova-Sivak I. Dysregulated immune responses in SARS-CoV-2-infected patients: a comprehensive overview. *Viruses.* 2022;14:1082. <https://doi.org/10.3390/v14051082>.
46. Alhassan E, Slaton BC, Hochberg MC. Did COVID-19 impact osteoarthritis – clinical perspective? *Curr Opin Rheumatol.* 2022;34(1):68-72. PubMed PMID: 34698678; PubMed Central PMCID: PMC8635080.

Надійшла до редколегії 02.05.22  
Отримано відповідний варіант 01.06.22  
Підписано до друку 01.06.22

Received in the editorial 02.05.22  
Received version on 01.06.22  
Signed in the press on 01.06.22

С. Бородін, асп.,  
Ю. Тугаров, асп.,  
Д. Остапченко, студ.,  
Л. Кот, канд. біол. наук,  
О. Короткий, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ПОГЛЯД НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ УРАЖЕННЯ СУГЛОБІВ ПРИ КОРОНАВІРУСНІЙ ХВОРОБІ 2019 (COVID-19)

Пандемія коронавірусної хвороби 2019 (COVID-19) надзвичайно серйозно вплинула на життєдіяльність людей в усьому світі. Незважаючи на переважно респіраторні вияви інфекції SARS-CoV-2, її наслідки можуть негативно впливати на функціонування більшості систем організму, зокрема й кістково-м'язової, дисфункція якої є провідним фактором інвалідизації населення. Захворювання суглобів є одними з найпоширеніших патологій сучасності, які в останнє десятиліття все частіше виявляються у молоді й навіть дітей. Симптоми ушкодження опорно-рухового апарату можуть спостерігатися у вигляді ізольованих клінічних ознак та виражатися незалежно від важкості вірусного захворювання. Хронічна атрома, міалгія, набряк і біль у суглобах можуть виникати під час гострої фази COVID-19, а також як короткочасні або тривалі ускладнення, проте їхня поширеність систематично не вивчалася. Ураховуючи широкий спектр клінічних виявів інфекції SARS-CoV-2 і складність її патогенезу, механізми, що лежать в основі уражень опорно-рухової системи та ревматологічних ускладнень, залишаються нез'ясованими. Сьогодні основні дослідження в цьому напрямі зосереджені переважно на повному розумінні регуляторних шляхів імунної дисрегуляції і запалення. Надмірна секреція прозапальних цитокінів, порушення сигнальної трансдукції та імунної відповіді є наслідком важкого впливу інфекції SARS-CoV-2 на більшість органів, включаючи суглоби, а також застосування кортикостероїдів для лікування хворих на COVID-19. У представлена огляді висвітлено узагальнену інформацію щодо основних патофізіологічних процесів, які можуть відбуватися у суглобах, як вияві вінливу інфекції SARS-CoV-2, і можливих ключових механізмів, які сприяють прогресуванню патологічних змін.

Ключові слова: COVID-19, SARS-CoV-2, опорно-руховий апарат, суглоби, остеоартрит.

## FEATURES OF THE ROOT AND RHIZOME ANATOMICAL STRUCTURE OF *POTENTILLA ALBA* L. AS A DIAGNOSTIC SIGN OF THE RAW MATERIALS

Raw materials derived from the species *Potentilla alba* L. have been widely used in medicine. It has been shown that roots and rhizomes contain compounds with a number of antioxidant properties that may support therapeutic, namely anti-inflammatory and adaptogenic effects. The species is also promising in the complex treatment of thyroid pathology. Analysis of the obtained raw materials for the presence of the required plant species for the manufacture of medicines is essential procedure.

The purpose of the research is to identify the anatomical features of the root and rhizome of *Potentilla alba*. It will help to identify these plants in the raw material. Comparison of the anatomical structure of the roots and rhizomes of five members of the genus *Potentilla* L.: *P. alba* L., *P. anserina* L., *P. argentea* L., *P. pilosa* Willd., *P. reptans* L. has been held. All species have been grown in the collection of the Fomin Botanical Garden. The cross sections of the root and rhizome with a thickness of 15–20  $\mu$ m were made by the means of a freezing microtome. The inclusions were identified in the resulting cross sections stained with safranin, KI and sudan. The species differ in the development and location of xylem elements, and by localization of inclusions.

The most effective anatomical markers of *P. alba*, compared to other species of the genus, are the development and the location of rhizome xylem elements. The vessels of the secondary xylem are small, placed with uneven radial strands. The thickness of strands is 1–3 vessels, delimited by the rays of the xylem parenchyma. The number of inclusions depends to a greater extent on the conditions of plant growth, so it is a less important factor during the analysis of plant raw materials.

**Keywords:** *Potentilla alba*, anatomy, rhizome, root.

**Introduction.** *Potentilla alba* L. is a valuable medicinal plant widely used in folk and traditional medicine. It is particularly promising in the complex treatment of thyroid gland pathology. Special attention was paid to the research of *P. alba* rhizome extracts. The total content of phenols, flavonoids, flavonols, flavanones and proanthocyanidins was determined in extracts of roots and rhizomes. The antioxidant and pro-oxidant properties of the extracts were described. A number of phenolic compounds in the raw material with strong antioxidant properties were found. It can support the therapeutic, namely anti-inflammatory and adaptogenic effects attributed to the species of this genus [1]. The effect of various microelements contained in these plants on iodine metabolism and thyroid gland function has also been confirmed [2]. Methanolic extracts obtained from the leaves of the genus *Potentilla* were studied for their free radical scavenging activity and polyphenol composition. Many common polyphenols, particularly oligomeric procyanidins, were found in the leaves of *P. alba*. The raw material of *P. alba* has high antioxidant activity, which may be related to the high concentration of procyanidins and other phenols [3]. Thus, the species is a potential source of effective antioxidants. It is promising to investigate the properties of *P. alba* extracts to use them as herbal supplements for the prevention of oxidative stress-related diseases in the future.

The discovery of the contained substances valuable for the pharmacological industry in these medicinal plants contributes to increasing their use. However, the natural resources of this species are insufficient to satisfy the growing needs for modern medicine for this raw material. One of the ways to overcome this problem is to grow plants of this species in vitro. Using this method, the area of *P. alba* plantations can be quickly and effectively increased. Therefore, Tikhomirova and others developed a method of microclonal reproduction of *P. alba* [4]. However, the most common method of obtaining medicinal raw materials is the gathering of wild plants, which has a debilitating effect on natural biodiversity. In some European countries (in particular, Germany and the Republic of Belarus), these species are already disappearing. On the other hand, impurities of another species of plant material often appear in the raw materials obtained in this way. It is possible to eliminate or reduce the impurities of plant species in the raw materials for the production of *P. alba* extracts with the help of markers that will make it possible easily identify the materials. These diagnostic markers include, first of all, morphological and

anatomical signs of vegetative organs. These diagnostic markers include, first of all, morphological and anatomical signs of vegetative organs. There are very little data on the anatomy of the vegetative organs of *P. alba* [5]. Most of the available information concerns the anatomical structure of the leaves of plants of the genus *Potentilla* L. [6, 7]. The result of the research has been found that the diagnostic features of the *P. alba* species include the features of the cells of the upper and lower epidermis of the leaves and the presence of calcium oxalate druses and three types of leaf trichomes [6].

Anatomical features of the structure of underground plant organs can serve as important markers. However, known today markers cannot be a sufficient for diagnosis of raw materials [8].

The research aimed to identify the anatomical features of the root and rhizome of *Potentilla alba*, by which it will be possible to identify these plants in the raw material.

**Materials and methods.** The research anatomical structure of the root and rhizome (if available) has been carried out for species of the genus *Potentilla* L.: *P. alba* L., *P. anserina* L. (root only), *P. argentea* L., and *P. pilosa* Willd. (synonym of *Potentilla recta* subsp. *pilosa* (Willd.) Rchb.f. ex Rothm.) (root only), *P. reptans* L., which are most common in Ukraine. We used plants that grow in the collection exhibits of the O. V. Fomin botanical garden. Cross-section slices of 15–20  $\mu$ m thickness were made by freezing microtomes from roots and rhizomes. The samples were stained with safranin (to detect lignified structures), KI-staining of starch grains, and sudan-staining of lipids. Sections were described using a microscope XSP-146TR. Photographs were taken with a Canon Power Shot A630 digital camera.

**Results and their discussion.** The observed plants of the genus *Potentilla* L. are representatives of Ukrainian flora and extensively are used as medicinal plants. The underground and above-ground parts of *P. alba*, *P. argentea*, *P. reptans*, and *P. anserina* plants are harvested separately and used as medicinal raw materials. Therefore, it is advisable to use specific anatomical features as markers of one or another species. For this, it is necessary not only to have an idea of the anatomical structure of one or another part of the target plant, but also to know the markers by which these plants differ from plants of other species of this genus.

Plants of the genus *Potentilla* L. have a similar anatomical structure to the rhizome: the periderm consists of 5–10 layers of the suberin-impregnated cork, phellogen, and up to 10 layers of pheloderm. Locally scales of suberinized

cells are found above the cork, filled with air. Under the periderm, there are 10–15 layers of lamellar collenchyma. In some species, the collenchyma is lamellar-angular. The vascular plant system is of the collateral type, mainly the bundle type. The xylem is more intensively developed than the phloem. The primary phloem is not lignified, and the xylem parenchyma is small-celled and thin-walled. A good development pith consists of thin-walled cells. The pith parenchyma, the cortical collenchyma and xylem parenchyma in varying amounts are filled with starch granules, calcium oxalate druses, and sometimes idioblasts. No lipid inclusions were detected.

The roots of plants of this genus have a slightly thinner periderm, phellogen, and parenchyma. The latter has less

thickened cell walls compared to the rhizome. Radial rays of the xylem, as a rule, are narrow and uneven, separated by parenchymal strands containing many inclusions of starch and calcium oxalate druses.

Along with this, some variances in the structure of the rhizome and root in different species were revealed (Table 1). First of all, species differ in the development and placement of xylem elements and localization of inclusions. However, the number of inclusions is a less important sign, as it can vary depending on the age of the plant, the time of harvesting raw materials, growing conditions, etc.

Table 1. Variance in the anatomical structure of the root and rhizome species *Potentilla* L.

Species	Inclusion	Vascular plant system
<i>P. alba</i>	A large amount of starch is everywhere, except for the periderm of the rhizome and the root (Fig. 1a); $\text{Ca}^{2+}$ oxalate druses are everywhere except the periderm, most in the xylem parenchyma of the rhizome and root; there are also idioblasts in the core of the rhizome (Fig. 1b, c, d; 2a)	Rhizome: metaxylem forms an almost continuous circle, narrow radial rows of small vessels, separated by 1–2 cell strands of non-lignified parenchyma. The bundle type remains as the vessels of the secondary xylem are separated by wide rays of the xylem parenchyma. The vessels of the xylem are small. The conducting elements of the secondary xylem are arranged in uneven radial cords, mostly 1–3 vessels thick (Fig. 1 b, c). The xylem in the radial rays of the root is arranged in uneven radial strands with a thickness of 1–3 vessels (Fig. 2 a)
<i>P. anserina</i>	In the cortical parenchyma of the root, there are huge clusters of $\text{Ca}^{2+}$ oxalate druses, which are not placed evenly (as in <i>Potentilla alba</i> ) but form their rays, idioblasts are absent, and there are inclusions of starch; Starch inclusions, many $\text{Ca}^{2+}$ oxalate druses, and single idioblasts are found in the root wood parenchyma (Fig. 3 a, b)	In the root, the vascular elements of the secondary xylem are arranged in uneven radial strands with a thickness of 1 to 7 vessels. The phloem is very strongly developed compared to other representatives of the genus and is divided into a third by cortical parenchyma inserts. The phloem of the perennial root also has striations due to the alternation of smaller and larger cells (Fig. 3 a, b)
<i>P. argentea</i>	The pith of the rhizome contains a lot of starch, $\text{Ca}^{2+}$ oxalate druses, and idioblasts (Fig. 4 a) Single inclusions of $\text{Ca}^{2+}$ oxalates are present in the cortical parenchyma of the root. (Fig. 4 b)	There are powerful vascular bundles with highly lignified small and large vessels in the root and rhizome (Fig. 4 a, b) The secondary xylem forms an almost continuous ring, parenchymocytes highly lignified. The primary xylem is characterized by numerous vessels with a large diameter and nonlignified parenchyma
<i>P. pilosa</i>	Starch is present in all root structures except the periderm. $\text{Ca}^{2+}$ oxalates were not detected (Fig. 2 b)	The xylem of the leading bundle of the root forms powerful annual rings, which are torn by thick strands of xylem parenchyma in 3-4 places. The xylem contains vessels with large and small diameters (Fig. 2b)
<i>P. reptans</i>	Rhizome, root: single idioblasts are found in the cortical and pith parenchyma. Starch is abundant in all structures, except for the periderm (Fig. 5 a). $\text{Ca}^{2+}$ oxalate druses are present in the pith parenchyma and less in the interfascicular parenchyma (Fig. 5 a, b)	The bundle type, wide strands of the interfascicular parenchyma are separated by radially elongated rays of xylem, 1–6 vessels of small and large diameter (up to 7 $\mu\text{m}$ ) thick. The vessels are not separated by parenchymal cells in a separate bundle (Fig. 5 a, b)

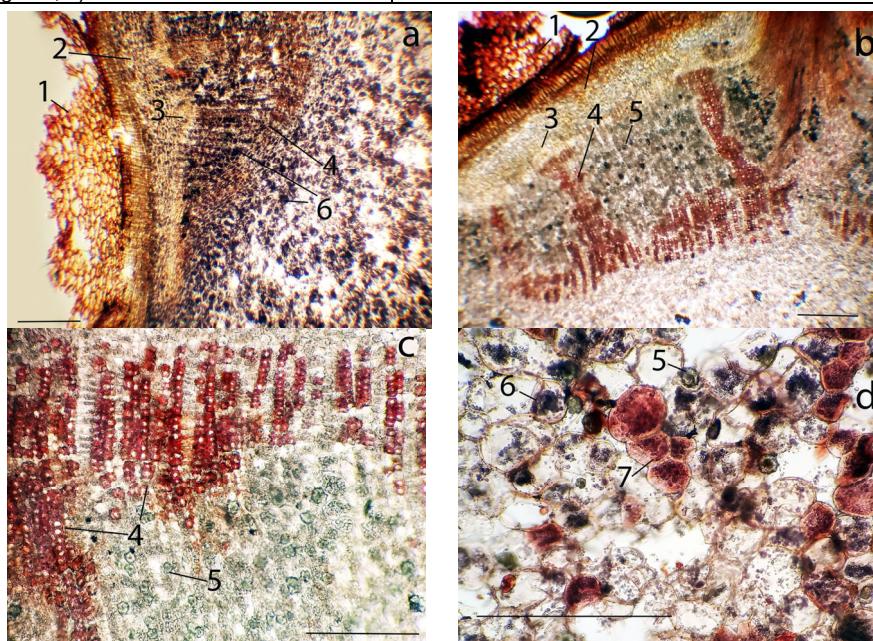


Fig. 1. Cross-section: a) accumulation of starch in the rhizome of *P. alba* (safranin, KI, sudan), b) general structure of the rhizome of *P. alba* (safranin), c) location of xylem elements in the rhizome of *P. alba* (safranin, sudan), d) inclusion in the pith parenchyma of the rhizome of *P. alba* (safranin, KI, sudan)

bar=100  $\mu\text{m}$ , 1 – periderm, 2 – cortical parenchyma, 3 – phloem, 4 – xylem, 5 – inclusion of  $\text{Ca}^{2+}$  oxalate, 6 – inclusion of starch, 7 – idioblasts

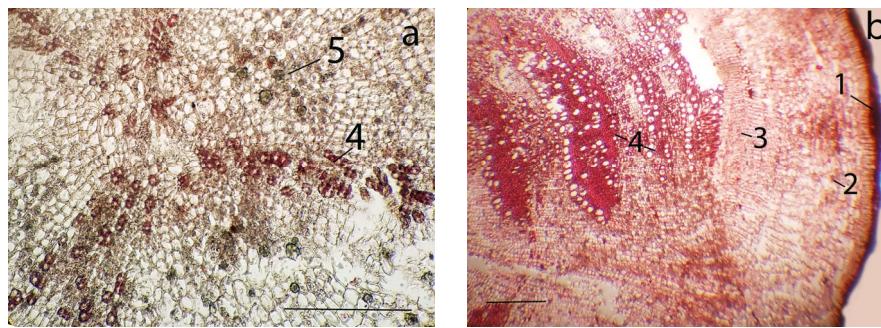


Fig. 2. Cross-section: a) location of xylem elements in the root of *P. alba* (safranin, KI, sudan),  
b) general structure of the root of *P. pilosa* (safranin, sudan)

bar=100  $\mu\text{m}$ , 1 – periderm, 2 – cortical parenchyma, 3 – phloem, 4 – xylem, 5 – inclusion of  $\text{Ca}^{2+}$  oxalate

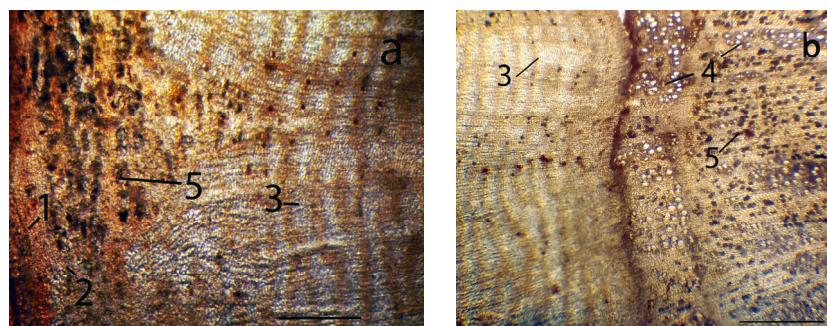


Fig. 3. Cross-section of the root of *P. anserina* (safranin, KI, sudan): a) inclusion in the cortical parenchyma,  
b) conducting system

bar=100  $\mu\text{m}$ , 1 – periderm, 2 – cortical parenchyma, 3 – phloem, 4 – xylem, 5 – inclusion of  $\text{Ca}^{2+}$  oxalate



Fig. 4. Cross-section (safranin, sudan): a) general structure of *P. argentea* rhizome, b) general structure of *P. argentea* root

bar=100  $\mu\text{m}$ , 1 – periderm, 2 – cortical parenchyma, 3 – phloem, 4 – xylem, 5 – inclusion of  $\text{Ca}^{2+}$  oxalate

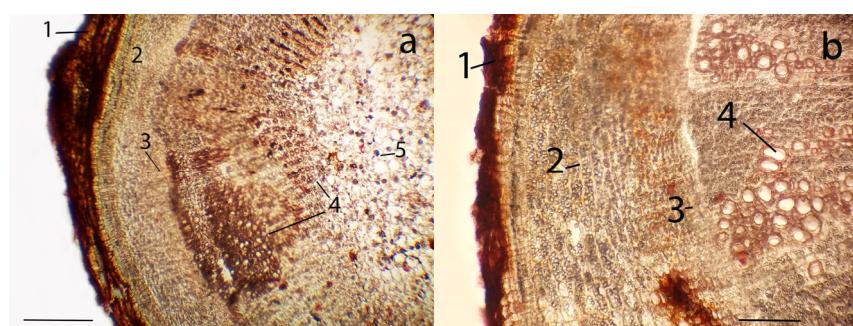


Fig. 5. Cross section: a) general structure of the rhizome of *P. reptans* (safranin, KI, sudan),  
b) general structure of the root of *P. reptans* (safranin, sudan)

bar=100  $\mu\text{m}$ , 1 – periderma, 2 – cortical parenchyma, 3 – floem, 4 – xylem, 5 – inclusion of  $\text{Ca}^{2+}$  oxalate

Thus, it confirmed basically that the anatomical structure of the roots and rhizomes of representatives of the *Potentilla* genus is similar. Accordingly, some specific features coincide between certain species of the genus. For example, irregular rows of leading xylem elements in the root and rhizome are characteristic of both *P. alba* and the roots of *P. anserina* and *P. reptans*. Also, as in *P. alba*, in the rhizome of *P. reptans*, radial rows of vascular elements one vessel thick are adjacent to the pith parenchyma. However, in *P. anserina* and *P. reptans*, there are large and small vessels in the xylem rays, while in *P. alba* all vessels are small with narrow lumen. Also, the perennial roots of *P. anserina* have a very well-developed phloem, which is an important anatomical difference. The conducting system of the rhizome of *P. argentea* forms a closed ring. The bundle type of the conducting system is preserved in *P. pilosa*, but a cluster of numerous vessels of different sizes is present, they are separated by several transverse layers of non-lignified parenchyma cells, which makes it possible to easily determine the age of the plant.

Among other features, the most distinctive feature was the location and number of  $\text{Ca}^{2+}$  oxalate inclusions. In particular, for *P. alba* and *P. anserina*, the largest number of inclusions is localized in the xylem parenchyma. The latter characterized by a numerous number of druses in the cortex parenchyma. The most of these inclusions are concentrated in the pith of *P. argentea* and *P. reptans*. But in *P. reptans* they are found in much smaller quantities. Whereas in *P. pilosa* they are completely absent. The lipid inclusions were not detected in any species. While starch reserves are more labile, and their detection varies more intensively depending on the conditions of cultivation, the period of collection of raw materials, etc.

**Conclusions.** According to the number and location of inclusions in the root and rhizome, some species are similar, some are different, at one time. This indicator is not very stable. It may be slightly varied depending on various factors. The roots have a more similar structure between the species in particular, the anatomical structure of the root of *P. alba* is similar to *P. reptans*. The most effective anatomical marker of *P. alba*, compared to other species of the

genus, is the development and location of xylem elements of the rhizome and root. In particular, only in *P. alba* the roots contain small vessels of secondary xylem, arranged in uneven radial strands 1–3 vessels thick, separated by rays of non-lignified xylem parenchyma. In the rhizome, the bundle type of the vascular system remained. But the metaxylem between the bundles, which bordering the pith parenchyma is represented by short rows of small vessels. These rows are one cell thick and separated by parenchymal cells.

#### Reference

1. Dorman DHJ, Shikov AN, Pozharitskaya ON [et al.]. Antioxidant and pro-oxidant evaluation of *Potentilla alba* L. rhizome extract. *Chem Biodivers.* 2011;8:1344-1356. doi.org/10.1002/cbdv.201100043.
2. Kaminskii AV, Kiseleva IA, Teplaiia EV. Clinical application of *Potentilla alba* for prevention and treatment of thyroid gland pathologies. *Likars'ka Sprava.* 2013;8:99-108.
3. Matkowski A, Świadek K, Ślusarczyk S [et al.]. Free radical scavenging activity of extracts obtained from cultivated plants of *Potentilla alba* L. and *Waldsteinia geoides* L. *Herva Pol.* 2006;52(4):91-97.
4. Tikhomirova LI, Kechaykin AA, Shmakov AI, Alexandrova OV. An effective way to carry out mass in vitro propagation of *Potentilla alba* L. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelni茨kiy Melitopol State Pedagogical University.* 2016;1:433-444.
5. Heo KI, Lee SR, Yoo MH [et al.]. The taxonomic implication of trichome and epicuticular waxes in tribe *Potentilleae* (Rosaceae) in Korea. *Korean J. Pl. Taxon.* 2013;43(2):106-117. <http://dx.doi.org/10.11110/kjpt.2013.43.2.106>.
6. Faghir B, Attar F, Ertez B. Foliar anatomy of the genus *Potentilla* L. (Rosaceae) in Iran and its taxonomic implication. *Iranian Journal of Science & Technology.* 2011;35(3):243-256.
7. Samatadze T, Zoshchuk SA, Khomik AS [et al.]. Molecular cytogenetic characterization, leaf anatomy and ultrastructure of the medicinal plant *Potentilla alba* L. *Genetic Resources and Crop Evolution.* 2018;65:1637-1647. doi: 10.1007/s10722-018-0640-7.
8. Ambrozyuk OB, Matcyk OB. [Anatomical analysis of *Potentilla anserina* roots]. *Modern Plant Biology: Theoretical and Applied Aspects.* – Abstract Book of IV International Scientific Conference; 2018, October, 09–10; Kharkiv, Ukraine; 2018. P. 16-17. Ukrainian.

Надійшла до редколегії 02.05.22  
Отримано виправлений варіант 01.06.22  
Підписано до друку 01.06.22

Received in the editorial 02.05.22  
Received version on 01.06.22  
Signed in the press on 01.06.22

Н. Нужина, канд. біол. наук,  
В. Маліренко, канд. біол. наук,  
Г. Сивець, пров. біолог  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### ОСОБЛИВОСТІ АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ КОРЕНЯ ТА КОРЕНЕВИЩА ПЕРСТАЧА БІЛОГО (*POTENTILLA ALBA* L.) ЯК ДІАГНОСТИЧНА ОЗНАКА СИРОВИНИ

Сировина, отримана з рослин виду *Potentilla alba* L., широко використовується в медицині. Доведено, що запасальні корені та кореневища містять сполуки, які мають низку антиоксидантних властивостей і можуть підтримувати різні терапевтичні ефекти, зокрема протизапальний й адаптогенний. Також від є перспективним у комплексному лікуванні патології щитовидної залози. Аналіз отриманої сировини на наявність певного виду рослин є необхідною процедурою для виготовлення лікарських засобів.

Метою дослідження було виявити анатомічні особливості кореня та кореневища *Potentilla alba*, за якими можна ідентифікувати ці рослини в сировині. Дослідження анатомічної будови кореня та кореневища було проведено на п'ятьох представниках роду *Potentilla* L.: *P. alba* L., *P. anserina* L., *P. argentea* L., *P. pilosa* Willd., *P. reptans* L., які зростають у колекційних експозиціях Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна. Поперечні зрізи кореня та кореневища завтовшки 15–20 мкм виготовляли за допомогою заморожуючого мікротома. Отримані зразки забарвлювали сафраніном, КІ та суданом для виявлення включень. Було встановлено, що корені та кореневища різних видів відрізняються за розвитком і розміщенням елементів ксилеми, а також за кількістю та локалізацією включень. Найбільш ефективним анатомічним маркером *P. alba*, порівняно з іншими видами роду, є розвиток та розміщення елементів ксилеми кореневища. Лише у цього виду судини вторинної ксилеми дрібні, розміщені нерівномірними радіальними тяжами завтовшки в 1–3 судини, розмежовані променями ксилемної паренхіми. Кількість включень переважно залежить від умов зростання рослин, тому є менш важливим фактором під час аналізу рослинної сировини.

Ключові слова: *Potentilla alba*, анатомія, кореневище, корінь.

## PHYLOGENETIC ANALYSIS OF BEAN YELLOW MOSAIC VIRUS ISOLATES FROM GLADIOLI IN UKRAINE

*Bean yellow mosaic virus (BYMV) is the one of most prevalent and harmful viruses infecting gladiolus plants worldwide. The aim of the study was to perform phylogenetic analysis of two Ukrainian BYMV isolates from gladioli grown in different regions of Ukraine and determine phylogenetic relationships of the isolates to other BYMVs. Visual diagnostics, enzyme-linked immunosorbent assay in DAS-ELISA modification, total RNA extraction, RT-PCR, phylogenetic analysis and statistical data analysis were used in this research. The results of the studies showed that gladioli of variety 'Pamyat' (Poltava region, 2018) and var. 'Galyna Zelenobirska' (Kyiv region, 2020) with symptoms of chlorotic stripes and mosaics on the leaves, flower color breaks are infected by BYMV. Fragments of the CP gene sequence of Ukrainian gladiolus isolates of bean yellow mosaic virus, named GIMP-18 (MK416160) and BYMV-GI-SV-20 (MZ286966) were sequenced and deposited to the NCBI GenBank. Nucleotide sequences of these isolates corresponding to 578 nt of the coat protein gene (CP) located at the position 8727–9305 of the viral genome and amino acid sequences were compared with 40 known BYMV isolates/strains. Phylogenetic analysis demonstrated that GIMP-18 and BYMV-GI-SV-20 have identity of nucleotide sequence 100 % and amino acid sequence 100 % with each other. Both Ukrainian isolates clustered with the Monocot group. The identity of the CP gene sequences of the two gladiolus isolates GIMP-18 and BYMV-GI-SV-20 from geographically remote regions of the country and in different years of selection indicates a common origin of isolates and probable their distribution of planting material.*

**Keywords:** gladiolus, bean yellow mosaic virus, phylogenetic analysis.

**Introduction.** Bean yellow mosaic virus (BYMV) is the one of the most widespread and harmful virus that infects gladiolus worldwide. BYMV belongs to the *Potyvirus* genus of *Potyviridae* family and can infect more than 200 plant species from 14 families. Infection with BYMV and CMV was reported to cause (i) reduction of the number of corms and cormels; (ii) shorter life of the stock; (iii) lower number of florets per spike; and (iv) deterioration of the flowers quality [1, 2].

There are two main classifications of BYMV isolates. One divides all isolates into seven phylogenetic groups (general, monocot, lupine, canna, W, pea, broad bean) according to the coat protein sequences [3]. Second divides all isolated into nine phylogenetic groups (I-IX) based on full genome sequences [4]. Within the host-specific groups of the first classification, all isolates originate from the domesticated species, and none were identified in the wild plants. On the contrary, isolates in the general group were identified in wild and domesticated hosts of monocots and dicots [3]. Some members of the monocot group can infect dicotyledonous species from three families: *Orchidaceae*, *Iridaceae*, *Gentianaceae* [5–9]. As phylogenetic relationships among BYMV isolates correlate with their natural hosts, Wylie et al. (2008) proposed seven BYMV phylogenetic groupings based on coat protein sequences and the original hosts of the isolates: (i) general group with a broad host range of monocots and dicots; (ii) broad bean group; (iii) canna group; (iv) lupine group; (v) monocot group; (vi) pea group; and (vii) one strain 'W' from *L. albus* [3]. An isolate PAC-1 from *Passiflora caerulea* did not cluster with any of seven host groups [10]. Interestingly, all gladiolus isolates fall into two different groups: monocot and general. Isolates belonging to the monocot group are of Europe and Asia origin from four hosts, which are all domesticated ornamental plants within two monocot (*Orchidaceae*, *Iridaceae*) and one dicot (*Gentianaceae*) family. All these host species are propagated vegetatively. International trade in infected corms of *G. hybrida* would explain such a wide geographic distribution of the BYMV isolates from the monocot group.

The aim of the study was to perform a phylogenetic analysis of two BYMV isolates from gladioli grown in different

regions of Ukraine and determine phylogenetic relationships of the isolates to other BYMVs.

**Materials and methods.** *Samples collection and visual diagnostics.* Sampling was carried out in the summer-autumn period in 2018 and 2020 in the territories of Poltava region and Kyiv region. Visual diagnostics revealed symptoms of viral infection on leaves, flowers and corms. Samples of gladiolus with both virus-specific symptoms and visually healthy plants were selected.

*Enzyme-linked immunosorbent assay.* To determine the presence of viral antigens, the double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) was used. The analysis was performed using commercial antibodies against BYMV manufactured by Loewe (Germany) in three replicates. Samples of healthy gladioli were used as negative controls. Commercial BYMV preparations (Loewe, Germany) were used for positive controls. The reaction results were recorded on the Termo Labsystems Optris MR (USA) reader with Dynex Revelation Quicklink software at wavelength of 405 nm. Samples with absorbance values that exceeded the negative control at least three times were considered positive [11].

*RNA extraction, RT-PCR and sequencing.* GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific, USA) was used to extract total RNA from gladiolus leaves. Samples of healthy gladioli were used as negative control. cDNA synthesis was performed using RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific, USA) and BYMV-specific oligonucleotide primers for amplifying a fragment of BYMV coat protein gene were used: BYMV-CP-5, 5'-GAAGTGTGGAAC-GTTTCAATTCC-3'; and BYMV-CP-3, 5'-TCTGTTCCAA CATTGCCATCAAG-3' [12]. Amplification steps using Dream Taq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, USA) were performed using a Genetic Research Instrumentation LTD thermocycler (UK). The amplification reactions were set up as follows: initial denaturation for 3 min at 95 °C, followed by 30 cycles of 95 °C for 30 s, 62 °C for 30 s and 72 °C for 45 s. The final extension was at 72 °C for 5 min. The primers are expected to amplify DNA product sections of the BYMV capsid protein gene of 590 bp. PCR products were separated on a 1.5 % agarose gel with DNA markers

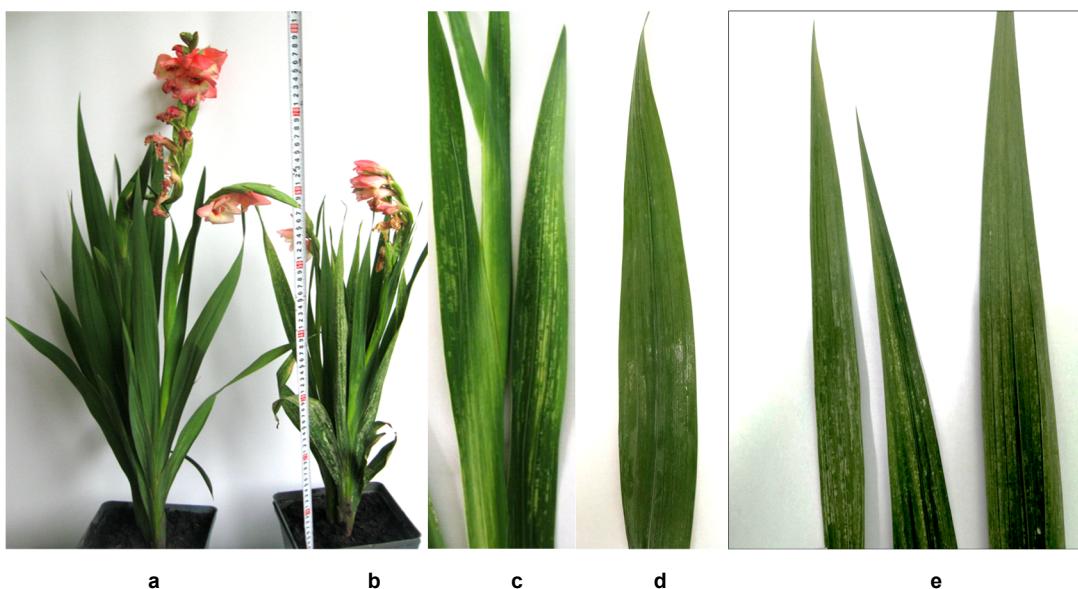
CSL-MDNA-100 bp (Cleaver Scientific, UK), and visualized under UV light. The PCR products were purified from the agarose gel using Zymoclean Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research, USA). Sanger dideoxy direct sequencing was performed on the 3130 Genetic analyzer (Applied Biosystems-HITACHI) using the BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems) and primers used for cDNA synthesis and amplification. Sample analysis was performed using Sequencing Analysis Software v5.2.0.

**Phylogenetic analysis.** The obtained sequences of the *CP* gene of two Ukrainian BYMV isolates from gladioli were compared with the sequences available in the NCBI GenBank database using the BLAST program. Forty BYMV isolates from different countries were used for the analysis. Nucleotide and amino acid sequences were aligned using

Clustal W. Phylogenetic trees for the 578 nt fragment of *CP* gene of BYMV isolates were constructed in MEGA X by the Neighbor Joining method [13] using the Jukes-Cantor model with 1000 bootstrap replicates to estimate the statistical significance of each node. Clover yellow vein virus (Ac No NC\_003536) was taken as an outgroup for the tree [14]. The pairwise nucleotide sequence identity scores between isolates were determined using MEGA X.

#### Results and discussion

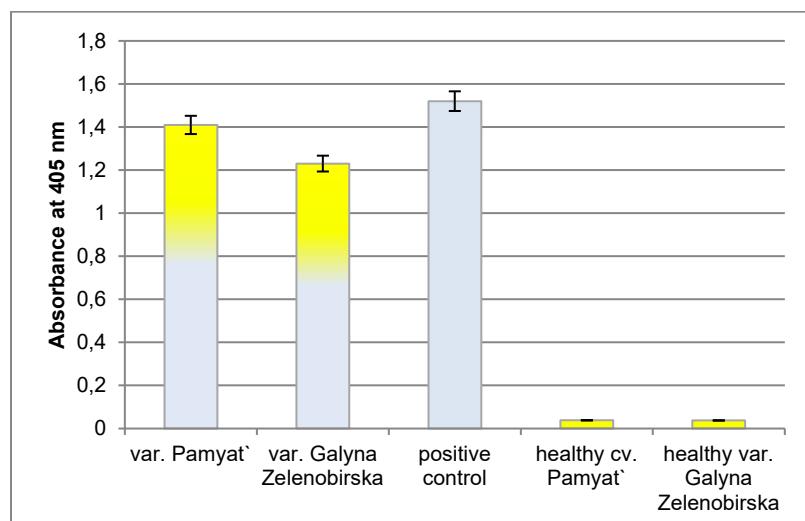
During the summer-autumn period of 2018 and 2020, samples of gladioli variety Pamyat' and var. Galyna Zelenobirska were collected in Poltava and Kyiv region, respectively. Virus-specific symptoms of chlorotic stripes and mosaics on the leaves, colour breaks on the flowers were observed (Fig. 1).



**Fig. 1. Symptoms of BYMV infection on gladiolus plants:** a) – healthy, var. Pamyat'; b, c – chlorotic stripes var. Pamyat'; d – healthy var. Galyna Zelenobirska; e – chlorotic mosaics and stripes, var. Galyna Zelenobirska

DAS-ELISA showed the presence of BYMV antigens in gladioli with described symptoms (Fig. 2). In asymptomatic gladiolus samples BYMV antigens were not detected. The

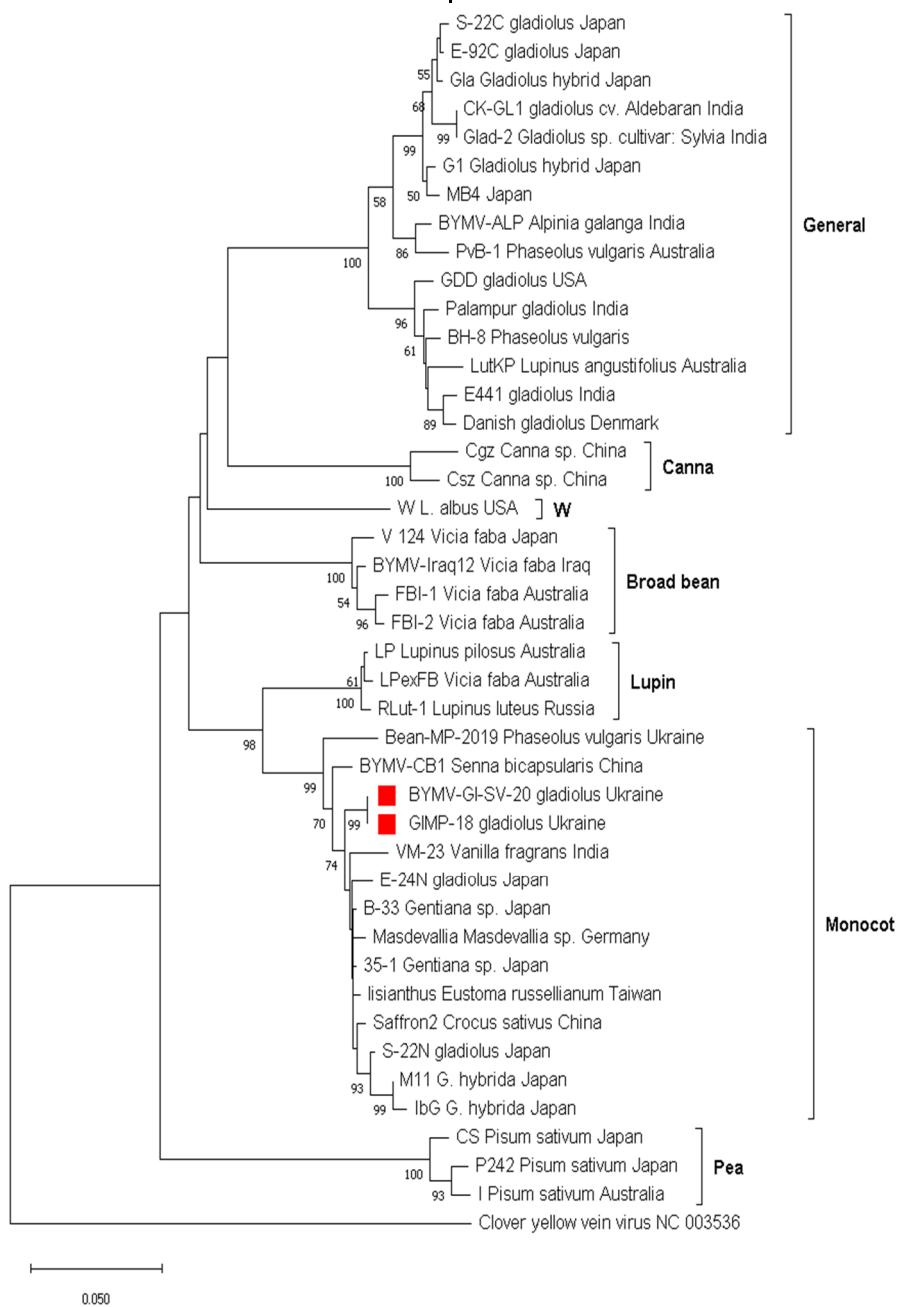
results of RT-PCR are consistent with the data obtained by DAS-ELISA and demonstrate the presence of BYMV in the studied samples of gladiolus leaves.



**Fig. 2. Detection of BYMV in gladioli leaves by DAS-ELISA**

Fragments of the *CP* gene sequence of Ukrainian gladiolus isolates of bean yellow mosaic virus, named GIMP-18 (MK416160) and BYMV-GI-SV-20 (MZ286966) were sequenced and deposited to the NCBI GenBank. Nucleotide sequences of these isolates corresponding to 578 nt of the coat protein gene (*CP*) located at the position 8727–9305 of the viral genome were compared with 40 known BYMV isolates/strains.

This experiment demonstrated that GIMP-18 and BYMV-GI-SV-20 are very similar to each other with the identity of nucleotide sequence 100 % and amino acid sequence 100 %. Both Ukrainian isolates clustered with the Monocot group (Fig. 3) and shared 96.6–99.4 % nucleotide sequence and 95.9–100 % amino acid identity with the members of this clade (Table 1).



**Fig. 3. Neighbor-joining tree based on nucleotide sequences of 578 nt *CP* gene fragment of BYMV isolates. Jukes-Cantor model was performed. The scale bar shows the number of substitutions per base.**  
**Clover yellow vein virus (Ac No NC\_003536) used as an outgroup.**  
**The studied Ukrainian gladioli isolates are marked with red squares**

Phylogenetic analysis of GIMP-18 and BYMV-GI-SV-20 showed the highest percentage of identity with Japanese isolates from *Gentiana* sp. 35-1 (AB097090), B-33 (AB097089), which is 98.6–99.4 % by nucleotide sequence and 98.5–100 % by amino acid sequence, as well as with Taiwanese isolate Lisanthus from *Eustoma russellianum*

(AM884180), Chinese isolate Saffron-2 from *Crocus sativus* (MG002647) – 98.2 % nt and 100 % aa; German isolate Masdevallia from *Masdevallia* sp. (AF185961), Japanese gladiolus isolate E-24N (AB029438) – 98.2 % nt and 99.5 % aa sequences, respectively (Table 1).

Comparative analysis of identity with other BYMV groups showed that isolates GIMP-18 and BYMV-GI-SV-20 have an identity in the range of 92 % – 92.7 % nt, 98.9 % – 99.5 % aa with the Lupin group; with isolates from the Broad bean group – 85.5 % – 85.8 % nt, 97.9 % – 98.9 % aa; with

General – 82.3 % – 83.6 % nt, 93.7 % – 96.3 % aa; with the Canna group 83.0 % – 83.6 % nt, 94.3 % – 94.8 % aa; with a representative from group W – 85.5 % nt, 95.3 % aa and with representatives of Pea group share identity of 80.1 % – 81.2 % nt and 92.2 % – 92.7 % aa (Table 1).

**Table 1. Nucleotide and amino acid sequence identity of the coat protein gene fragments of the Ukrainian BYMV isolates with isolates from the GenBank (%)**

No	Ac No в GenBank	Isolate	Host	Country	Group	GIMP-18 (MK416160)		BYMV-GI-SV-20 (MZ286966)		References
						nt	aa	nt	aa	
1	AB097090	35-1	<i>Gentiana</i> sp.	Japan	Monocot	99.4	100	99.4	100	[7]
2	AB097089	B-33	<i>Gentiana</i> sp.	Japan	Monocot	98.6	98.5	98.6	98.5	[7]
3	AM884180	Lisianthus	<i>Eustoma russellianum</i>	Taiwan	Monocot	98.4	98.5	98.4	98.5	[9]
4	MG002647	Saffron2	<i>Crocus sativus</i>	China	Monocot	98.2	100	98.2	100	[15]
5	AF185961	Masdevallia	<i>Masdevallia</i> sp.	Germany	Monocot	98.2	99.5	98.2	99.5	[8]
6	AB029438	E-24N	gladiolus	Japan	Monocot	98.2	99.5	98.2	99.5	[8]
7	AB029435	S-22N	gladiolus	Japan	Monocot	97.9	99.5	97.9	99.5	GenBank
8	MK516282	BYMV-CB1	<i>Senna bicapsularis</i>	China	Monocot	97.9	100	97.9	100	[16]
9	OL555723	Bean-MP-2019	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Ukraine	Monocot	95.9	98.4	95.9	98.4	GenBank
10	AY845012	VM-23	<i>Vanilla fragrans</i>	India	Monocot	97.5	96.9	97.5	96.9	GenBank
11	AB079886	M11	<i>G. hybrida</i>	Japan	Monocot	97.2	98.6	97.2	98.9	GenBank
12	AB079887	IbG	<i>G. hybrida</i>	Japan	Monocot	96.6	97.9	96.6	97.9	[7]
13	HG970866	BYMV-LP	<i>Lupinus pilosus</i>	Australia	Lupin	92.1	99.5	92.1	99.54	[3]
14	EU082124	R-Lut-1	<i>Lupinus luteus</i>	Russia	Lupin	92.7	99.5	92.7	99.5	[3]
15	HG970868	LPexFB	<i>Vicia faba</i>	Australia	Lupin	92.0	98.9	92.0	98.9	[3]
16	JQ026005	BYMV-Iraq12	<i>Vicia faba</i>	Iraq	Broad bean	85.7	98.9	85.7	98.9	[9]
17	AB041970	V 124	<i>Vicia faba</i>	Japan	Broad bean	85.8	98.4	85.8	98.4	GenBank
18	EU082116	FBI-1	<i>Vicia faba</i>	Australia	Broad bean	85.5	97.9	85.5	97.9	[17]
19	EU082114	FBI-2	<i>Vicia faba</i>	Australia	Broad bean	85.5	98.4	85.5	98.4	[17]
20	AY192568	GDD	<i>Gladiolus</i> sp.	USA	General	83.6	95.8	83.6	95.8	[18]
21	AB439729	Gla	<i>G. hybrida</i>	Japan	General	83.6	95.8	83.6	95.8	[19]
22	AB439730	G1	<i>G. hybrida</i>	Japan	General	83.6	96.3	83.6	96.3	[19]
23	AB029436	S-22C	<i>Gladiolus</i> sp.	Japan	General	83.4	94.8	83.4	94.8	[9]
24	AB029439	E-92C	<i>Gladiolus</i> sp.	Japan	General	83.4	95.8	83.4	95.8	[9]
25	KF155409	CK-GL1	<i>Gladiolus</i>	India	General	83.0	95.3	83.0	95.3	[6]
26	JQ686721	Glad 2	<i>Gladiolus</i>	India	General	83.6	95.3	83.6	95.3	[6]
27	AM398198	Palampur	<i>Gladiolus</i>	India	General	83.4	95.3	83.4	95.3	GenBank
28	AB041972	BH-8	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Japan	General	83.2	94.8	83.2	94.8	GenBank
29	EU082123	PvB-1	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Australia	General	82.7	95.8	82.7	95.8	[20]
30	AF192781	LutKP-1	<i>Lupinus luteus</i>	Australia	General	82.5	94.3	82.5	94.3	[3]
31	D83749	MB4	-	Japan	General	83.6	95.8	83.6	95.8	[21]
32	MN509831	BYMV-ALP	<i>Alpinia galanga</i>	India	General	83.4	96.3	83.4	96.3	[17]
33	AJ844916	E441	<i>Gladiolus</i>	India	General	82.3	93.7	82.3	93.7	[22]
34	X53684	Danish	<i>Gladiolus hybrida</i>	Denmark	General	82.3	94.3	82.3	94.3	[20]
35	EF592169	Csz	<i>Canna</i> sp.	China	Canna	83.6	94.3	83.6	94.3	GenBank
36	EF592168	Cgz	<i>Canna</i> sp.	China	Canna	83.0	94.8	83.0	94.8	GenBank
37	DQ641248	W	<i>L. albus</i>	USA	W	85.5	95.3	85.5	95.3	[23]
38	AB373203	CS	<i>Pisum sativum</i>	Japan	Pea	81.2	92.7	81.2	92.7	GenBank
39	S71232	I	<i>Pisum sativum</i>	Australia	Pea	80.2	92.2	80.2	92.2	[24]
40	AB041971	P242	<i>Pisum sativum</i>	Japan	Pea	80.1	92.7	80.1	92.7	[25]

So, both Ukrainian BYMV isolates cluster with isolates from the Monocot group and have the highest level of the amino acid and nucleotide sequences identity with isolates from *Gentiana* plants (AB097090) and *Crocus sativus* plants (MG002647). This fact is consisted with the hypothesis that *Gentiana* plants could be infected from *Gladiolus* plants growing nearby [3, 8, 9]. Possibly, the 'monocot' group might have coevolved with the domestication of the host species *Iris* or *Crocus*, the ancestors of which are indigenous to Eurasia and are now widely grown as ornamental plants worldwide' [3].

Ukrainian BYMV isolate AI38 from *Phaseolus vulgaris* (KT923791) and isolate AN from soybeans (KT923790) exhibit the highest nucleotide sequence identity with Russian and Australian isolates from lupine plants, and Argentinean isolate from soybean [26]. Hence both belong to the lupine group. These facts confirm previously shown high host-

specificity of the BYMV isolates and suggest that GIMP-18 and GIMP-18 isolates were introduced into the Ukraine from other geographical regions.

**Conclusions.** Identity of CP gene sequences of GIMP-18 and Bean-MP-2019 (isolate from bean plants, Poltava region) is only 95.9 % nt and 98.4 % aa and these isolates are located distantly on the phylogenetic tree that indicates about their possible different origin. GIMP-18 isolates in 2018 from gladiolus 'Pamyat' in Poltava region shares 100 % nt and aa CP identity with BYMV-GI-SV-20 from var. Galyna Zelenobirska, Kyiv region 2020. Identity of two gladioli BYMV isolates GIMP-18 i BYMV-GI-SV-20 from geographically remote regions of the country and in different years of selection indicates a possible common origin of the isolates and probable their distribution of planting material.

## References

- Kaur C., Kumar S., Raj S. K., Chauhan P. S., Sharma N. Characterization of a new isolate of *Bean yellow mosaic virus* Group-IV associated with mosaic disease of Gladiolus in India. *Plant Pathology & Microbiology*. 2015; 6(10):1-8. doi: 10.4172/2157-7471.1000309.
- Sovinska R., Dunich A., Mishchenko L. Co-infection of bean yellow mosaic virus and cucumber mosaic virus in *Gladiolus* sp. plants: phylogenetic analysis of Ukrainian isolates. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 2022; 55(3): 303-330. doi: 10.1080/03235408.2021.2017189.
- Wylie S. J., Coutts B. A., Jones M. G. K., Jones R. A. C. Phylogenetic analysis of *Bean yellow mosaic virus* isolates from four continents: Relationship between the seven distinct groups found and their natural isolation hosts and geographical origins. *Plant Disease*. 2008; 92(12): 1596-1603. doi: 10.1094/PDIS-92-12-1596.
- Kehoe M. A., Coutts B. A., Buirchell B. J., Jones R. A. Plant virology and next generation sequencing: experiences with a potyvirus. *PloS ONE*. 2014; 9(8): E104580. doi: 10.1371/journal.pone.0104580.
- Gibbs A., Mackenzie A., Blanchfield A., Cross P., Wilson C., Kitajima E., Nightingale M., Clements M. Viruses of orchids in Australia: Their identification, biology and control. *The Australian Orchids Review*. 2000; 65:10-21.
- Kaur C., Raj R., Srivastava A., Kumar S., Raj S. K. Sequence analysis of six full-length bean yellow mosaic virus genomes reveals phylogenetic diversity in India strains, suggesting subdivision of phylogenetic group-IV. *Archives of Virology*. 2018; 163(1): 235-242. doi: 10.1007/s00705-017-3609-5.
- Nakazono-Nagaoka E., Satoh G., Kosaka Y., Natsuaki T. Evaluation of cross-protection with an attenuated isolate of *Bean yellow mosaic virus* by differential detection of virus isolates using RT-PCR. *Journal of General Plant Pathology*. 2004; 70: 359-362. doi: 10.1007/s10327-004-0138-3.
- Uga H., Kobayashi Y.O., Hagiwara K., Honda Y., Omura T. Selection of an attenuated isolate of *Bean yellow mosaic virus* for protection of dwarf gentian plants from viral infection in the field. *Journal of General Plant Pathology*. 2004; 70: 54-60. doi: 10.1007/s10327-003-0091-6.
- Wada Y., Iwai H., Ogawa Y., Arai K. Comparison of pathogenicity and nucleotide sequences of 3'-terminal regions of bean yellow mosaic virus isolates from Gladiolus. *Journal of General Plant Pathology*. 2000; 66(4): 345-352. doi: 10.1007/PL00012976.
- Parrella G., Lanave C. Identification of a new pathotype of *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) infecting blue passion flower and some evolutionary characteristics of BYMV. *Archives of Virology*. 2009; 154: 1689-1694. doi: 10.1007/s00705-009-0485-7.
- Crowther J. R. ELISA. Theory and practice. New York: Humana Press; 1995. 223 p. doi: 10.1385/0-89603-279-5:1.
- Wang Y. N., Melzer M. J., Borth W. B., Green J. C., Hamim I., Hu J. S. First report of *Bean yellow mosaic virus* in vanilla in Hawaii. *Plant disease*. 2017; 101(8): 1557. doi: 10.1094/PDIS-01-17-0091-PDN.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 2018; 35(6): 1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096.
- Naidu R. A., Hu C.-C., Pennington R. E., Ghabrial S. A. Differentiation of eastern and western strains of peanut stunt cucumovirus based on satellite RNA support and nucleotide sequence homology. *Phytopathology*. 1995; 85(4): 502-507. doi: 10.1094/Phyto-85-502.
- Zheng H. Y., Wu X. Y., Han K. L., Chen Z. Q., Song X. J., Peng J. J., Lu Y. W., Lin L., Chen J. P., Yan F., Wu X. Y., Han K. L. First Report of *Beet western yellows virus* infecting *Crocus sativus* in China. *Plant Disease*. 2018; 102(7): 1471. doi: 10.1094/PDIS-10-17-1579-PDN.
- Qiu Y., Zhou Y., Zhang S., Atta S., Li M., Wu J., Li R., Cao M. *Senna bicapsularis*: a new natural host of bean yellow mosaic virus in China. *Plant Disease*. 2019; 103(8): 2144. doi: 10.1094/PDIS-02-19-0428-PDN.
- Cheng Y., Jones R.A.C. Biological properties of necrotic and non-necrotic strains of bean yellow mosaic virus in cool season grain legumes. *Annals of Applied Biology*. 2000; 136: 215-227. doi: 10.1111/j.1744-7348.2000.tb00028.x.
- Hammond J., Hammond R. W. The complete nucleotide sequence of isolate BYMV-GDD of *Bean yellow mosaic virus*, and comparison to other potyviruses. *Archives of Virology*. 2003; 148: 2461-2470. doi: 10.1007/s00705-003-0185-7.
- Nakazono-Nagaoka E., Takahashi T., Shimizu T., Kosaka Y., Natsuaki T., Omura T., Sasaya T. Cross-protection against *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) and *Clover yellow vein virus* by attenuated BYMV isolate M11. *Phytopathology*. 2009; 99(3): 251-257. doi: 10.1094/PHYTO-99-3-0251.
- Boye K., Jensen P. E., Stumm B. M., Henningsen K. W. Nucleotide sequence of cDNA encoding the BYMV coat protein gene. *Nucleic Acids Research*. 1990; 18: 4926. doi: 10.1093/nar/18.16.4926.
- Sharma P. N., Sharma V., Sharma A., Rajput K., Sharma S. K. Identification and molecular characterization of *Bean yellow mosaic virus* infecting French bean in Himachal Pradesh. *Virus Disease*. 2015; 26(4): 315-318. doi: 10.1007/s13337-015-0270-z.
- Nakamura S., Honkura R., Ugaki M., Ohshima M., Ohashi Y. Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of bean yellow mosaic virus RNA and resistance to viral infection in transgenic *Nicotiana benthamiana* expressing its coat protein gene. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 1994; 62: 472-477. doi: 10.3186/jjphytopath.60.295
- Bruun-Rasmussen M., Moller I. S., Tulinius G., Hansen J. K., Lund O. S., Johansen I. E. The same allele of translation initiation factor 4E mediates resistance against two Potyvirus spp. in *Pisum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2007; 20(9): 1075-1082. doi: 10.1094/MPMI-20-9-1075.
- Taylor R. H., Smith P. R. The relationship between bean yellow mosaic virus and pea mosaic virus. *Australian Journal of Biological Science*. 1968; 21: 429-437.
- Takahashi Y., Takahashi T., Uyeda I. A cDNA clone to clover yellow vein potyvirus genome is highly infectious. *Virus Genes*. 1997; 14(3): 235-243. doi: 10.1023/a:1007940028058.
- Kyrychenko A. M., Antipov I. O., Hryncuk K. V. Phylogenetic analysis of Ukrainian BYMV isolates from soybeans and beans. *Cytol Genet*. 2017; 51(3): 173-178. doi: 10.3103/S0095452717030045.

Надійшла до редколегії 10.05.22  
Отримано відправлений варіант 10.06.22  
Підписано до друку 10.06.22

Received in the editorial 10.05.22  
Received version on 10.06.22  
Signed in the press on 10.06.22

А. Дуніч<sup>1</sup>, канд. біол. наук,  
Р. Свінська<sup>1</sup>, асп.,

А. Дащенко<sup>2</sup>, канд. с.-г. наук,  
Л. Міщенко<sup>1</sup>, д-р біол. наук, проф.

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

## ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ ЖОВТОЇ МОЗАЇКИ КВАСОЛІ ІЗ ГЛАДІОЛУСІВ В УКРАЇНІ

**Вірус жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК) є одним із найбільш поширеніших та шкодочинних вірусів, що уражують рослини гладіолусів у світі. Метою роботи було провести філогенетичний аналіз двох українських ізолятів ВЖМК, виділених із гладіолусів різних областей України, і визначити їхні філогенетичні зв'язки з іншими ізолятами цього вірусу. У досліджені були використані такі методи: візуальна діагностика; імуноферментний аналіз у модифікації "сандевіч"; виділення тотальної РНК, ЗТ-ПЛР; філогенетичний аналіз; статистичні методи оброблення даних. Результатами дослідження показано, що гладіолуси сортів Пам'ять (Полтавська обл., 2018) та Галина Зелено-бірська (Київська обл., 2020) із симптомами хлоротичної штрихуваної мозаїки на листках і розривом колючору квіткової інфіковані ВЖМК. Послідовності фрагмента гена СР українських гладіолусних ізолятів вірусу жовтої мозаїки квасолі, названі GIMP-18 (МК416160) та BYMV-GI-SV-20 (MZ286966), депоновані до NCBI GenBank. Нуклеотидні послідовності цих ізолятів, які відповідають ділянці гена СР розміром 578 нуклеотидів, локалізовані у позиціях 8727-9305 вірусного геному, а також амінокислотні послідовності порівнянні із 40 відомими ВЖМК ізолятами/штамами. Філогенетичний аналіз показав, що GIMP-18 і BYMV-GI-SV-20 мають між собою ідентичність 100 % і за нуклеотидною, і за амінокислотною послідовністю. Обидва українські ізоляти належать до групи Моносот. Ідентичність двох гладіолусних ізолятів GIMP-18 і BYMV-GI-SV-20 за ділянкою гена СР із територіально віддалених областей країни та в різні роки відбору свідчить про їхнє спільне походження і їхнє поширення посадковим матеріалом.**

**Ключові слова:** гладіолус, вірус жовтої мозаїки квасолі, філогенетичний аналіз.

## EVOLUTIONARY RELATIONSHIP OF UKRAINIAN ISOLATE OF ODONTOGLOSSUM RINGSPOT VIRUS

*Odontoglossum ringspot virus (ORSV) is one of the most dangerous viruses of decorative orchids. Infection caused by this virus can reduce the phenotypic differences of orchids in collections, and as a result lead to their total exhaustion. In this study, the possible origin of the Ukrainian isolate of ORSV from the collection of O. V. Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv was investigated. The properties of nucleotide sequences of the RNA-dependent RNA-polymerase (RdRp) and coat protein gene of ORSV were examined. RNAs of ORSV isolated from leaves of *Cymbidium hybridum* from O. V. Fomin Botanical Garden's collection were amplified through RT-PCR and sequenced. Obtained sequences were compared at the nucleotide level with ORSV isolates accessible within the GenBank. Phylogenetic analysis showed that the studied ORSV isolate may have a common root with a few South Korean isolates.*

**Keywords:** orchids, ORSV, RT-PCR, phylogenetic analysis.

**Introduction.** Tropical and subtropical orchids are cultivated in numerous countries around the world and stay one of the most important commercial crops within the world's botanical industry. Viral infections of orchids are known since the middle of the XX century. Numerous viruses influence the quality of orchids, and, subsequently, significantly decrease their commercial and esthetical value. About 50 viruses responsible for a wide range of orchid diseases have been currently described [1–3]. However, Odontoglossum ringspot virus (ORSV, *Tobamovirus*) is one of the most common as it can be rapidly transmitted, contributing significant spread of infection among susceptible plants [4–7]. This infection is transmitted exclusively in artificial ecosystems basically during vegetative proliferation or mechanically. Viral contamination affects the physiological state of orchids developed in greenhouses [5]. The loss of ornamental flowers can not only damage the development of industrial production in Ukraine, but also reduce the diversity of plants in collections, since tropical orchids are mainly grown in greenhouses as part of botanical gardens collections. Cases of ORSV infection of tropical orchids in the collections of Ukrainian botanical gardens have been known since the late 90s of the last century [8, 9]. The aim of the study is to determine the origin of Ukrainian isolates of ORSV in orchid collection from O. V. Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv.

**Materials and Methods.** Leaves of *Cymbidium hybridum* with necrotic and chlorotic striping symptoms were collected from the O. V. Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. Virus identification was carried out using DAS-ELISA with polyclonal antisera specific to ORSV (Prime Diagnostics, The Netherlands). Total RNA was extracted using the RNeasy Plant

Mini Kit (Qiagen, Germany). Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was accomplished using the SuperScript II kit (Invitrogen, USA). To amplify the coat protein (CP) gene of ORSV, RT-PCR was used in one reaction tube with the pair of primers: ORSV-F-5'AC-GCACAATCTGATTGATTGAA-3', ORSV-R-5'-TATCAA CGTTATTTCTAAATAT-3' (Expected product size 528 bp) [10]. The amplified products from *Cymbidium hybridum* samples were purified using MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen, Great Britain). The resulting PCR products were sequenced using Applied Biosystems 3730x1 DNA Analyzer using Big Dye terminators, version 3.1 (Applied Biosystems, USA). Phylogenetic analysis was carried out using Mega X and IQTREE software.

**Results and Discussion.** Orchid plants from the collection of O. V. Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv with symptoms of mosaic, spots, necrosis, and chlorosis have been identified. Mosaic symptoms on leaves were an alternation of dark and light zones, which shaped a mosaic design. Necrotic symptoms or ring spotting were the arrangement of little (0.5–2 mm) and medium-sized (2–4 mm) dark spots of circular and oval shape on the leaf edge, occasionally encompassed by a limit border (Fig. 1 A). Yellowing of the leaf edge in combination with the arrangement of negligible leaf spots was a reasonably common symptom. Symptoms of mosaic, yellowing, and ring necrosis can occur in plants affected by ORSV [11–15]. ORSV was detected by ELISA with appropriate antisera in all selected samples of orchid plants. Subsequently, *Cymbidium hybridum* leaves with symptoms typical for ORSV infection, which was also confirmed by DAS-ELISA, were used to isolate total RNA. Rod-shaped virions were found in the sap of plant leaves with typical viral symptoms (Fig. 1 B).

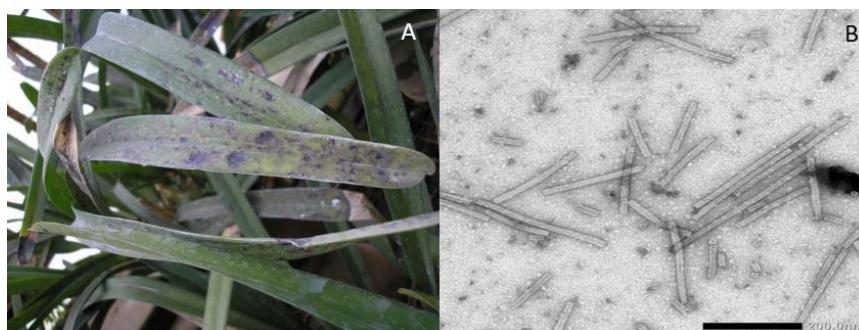
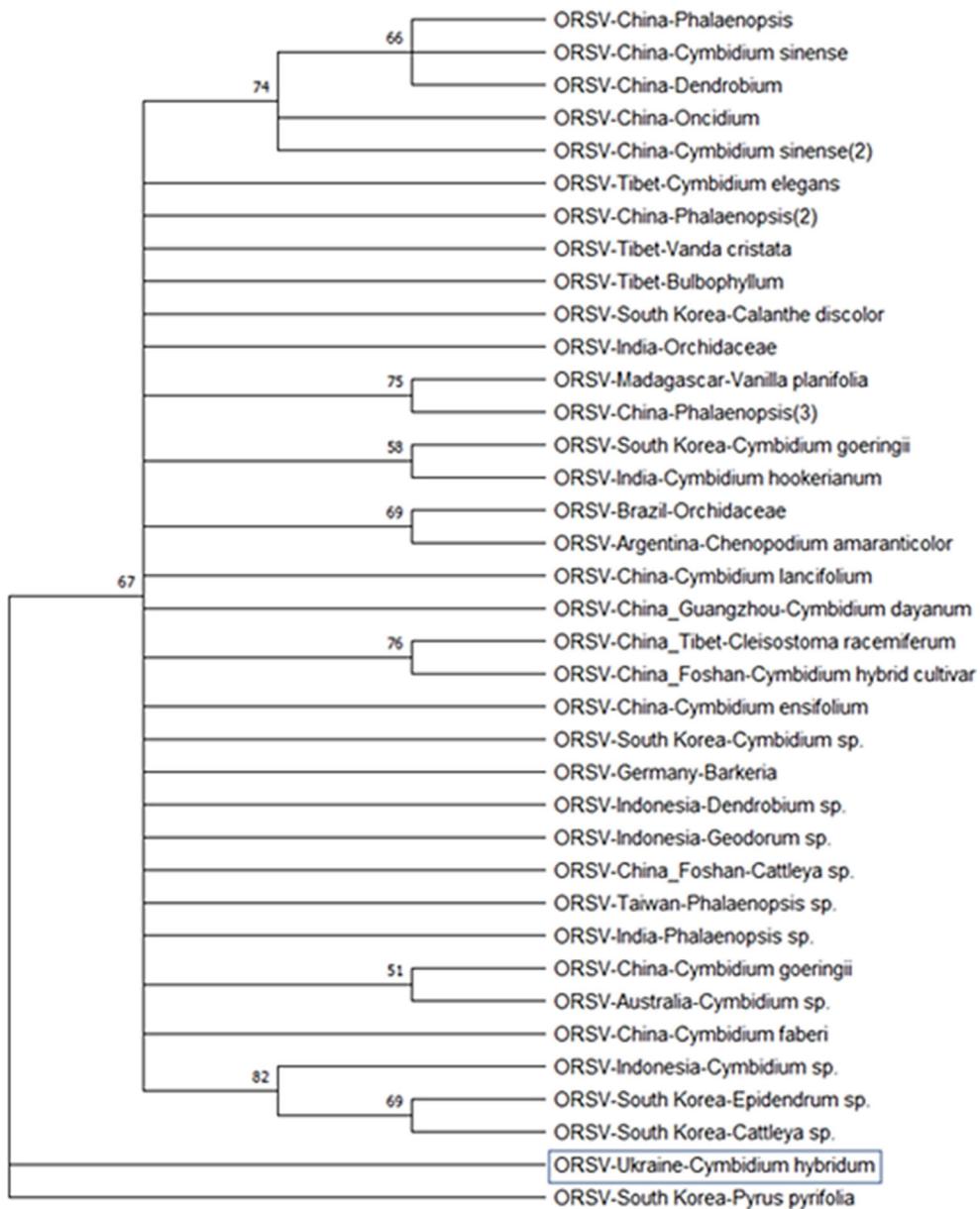


Fig. 1. Leaf of *Cymbidium hybridum* with symptoms of black necrotic spots. (A). Electron micrograph of rod-shaped viral particles in plant sap of *Cymbidium hybridum*. Bar – 200 nm (B)

The Gene sequence of the Ukrainian ORSV isolate (ORSV-Ukraine) was compared with other known isolates of ORSV accessible from the GenBank. To determine the conceivable root of the ORSV isolates tested in Ukraine, a phylogenetic investigation based on nucleotide sequences was conducted. The Maximum Likelihood strategy was chosen as a discrete strategy, which was performed using the Kimura

two-parameter model. As can be seen from the phylogenetic species affinity tree (Fig. 2), Ukrainian isolate (ORSV-Ukraine) and one of the ORSV isolates from South Korea were clustered together proposing their conceivable common root. Also, the Ukrainian isolate was compared with other to-bamoviruses to establish its species similarity (Fig. 3).



**Fig. 2. Phylogenetic analysis of Ukrainian ORSV isolates based on a nucleotide sequence of the coat protein gene.**  
The phylogenetic tree (50 % majority rule consensus tree) is constructed using the ML method  
(Kimura two-parameter model, bootstrap 10000 replications)

The next step was related to the construction of a phylogenetic tree based on ORSV polymerase gene, the results of which revealed the similarity of the Ukrainian isolate with the Mexican one (Fig. 4).

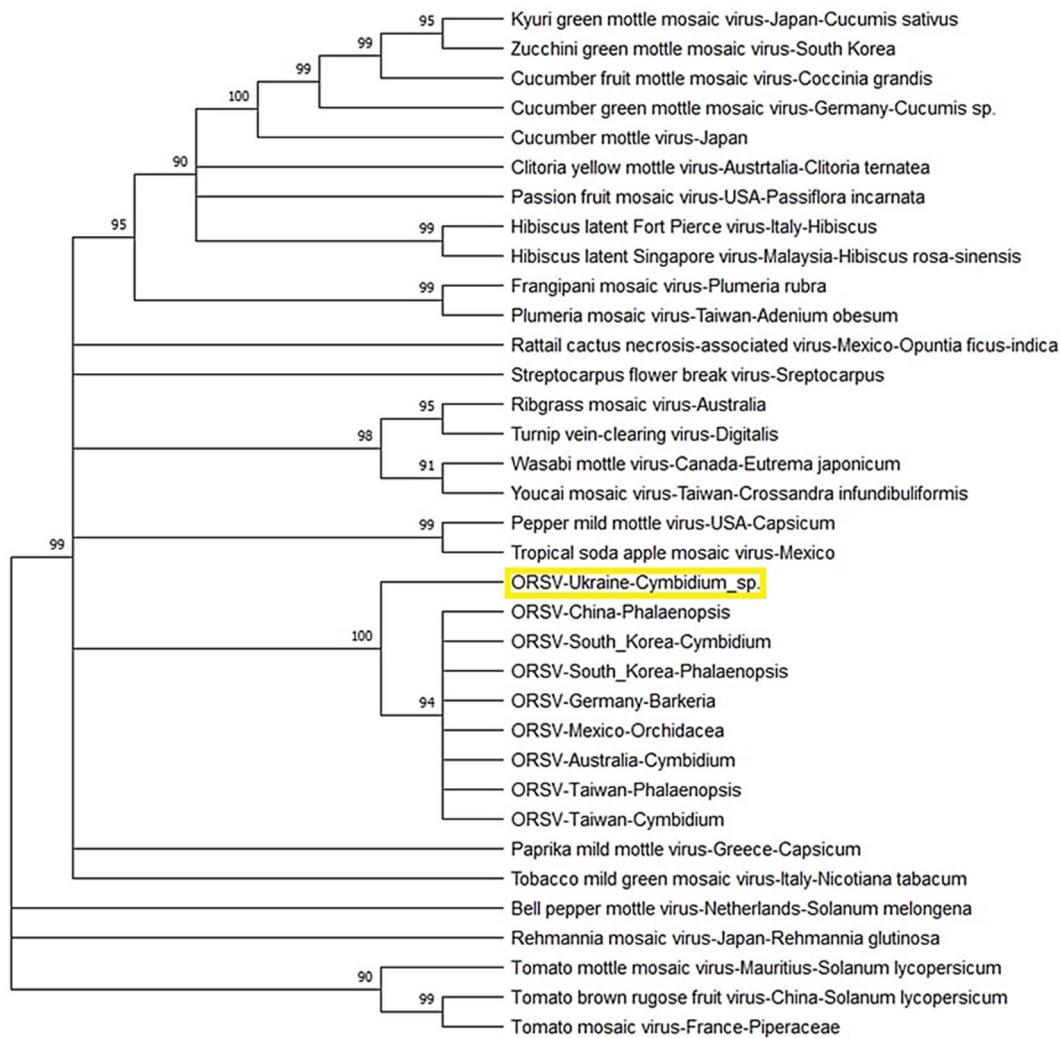


Fig. 3. Phylogenetic analysis of Ukrainian ORSV isolates based on the nucleotide sequence of coat protein gene.

The tree is constructed using the ML method

(90 % majority-rule consensus tree, Kimura 2-parameter model, bootstrap 10000 replications)

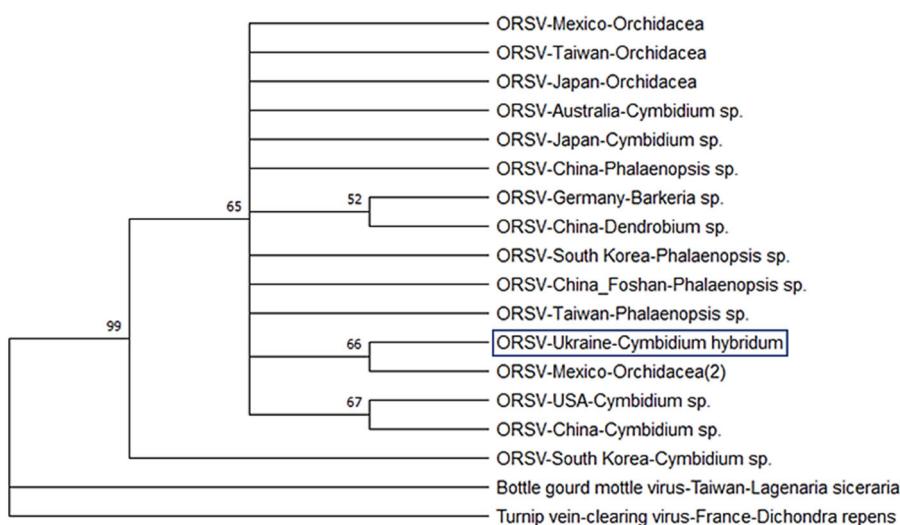


Fig. 4. Phylogenetic analysis of Ukrainian ORSV isolates based on the nucleotide sequence of the RdRp gene.

The tree is constructed using the ML method

(50 % majority rule consensus tree Kimura 2-parameter model, bootstrap 10000 replications)

ORSV is a unique virus [16]. It is a recombinant; its replicase genes are closest to those of from *Brassicaceae*-infecting tobamoviruses, whereas its movement and coat protein genes are closest to those from *Solanaceae* [17]. It's known from previous studies that all existing ORSV isolates share high homology with each other at nucleotide level [18, 19]. Besides this the nucleotide sequence of the ORSV capsid protein is highly conserved [20]. Thus, in subsequent studies the most variable virus sequences such as the C-terminal region of the ORSV should be used as the most informative markers for phylogenetic analysis.

In conclusion, it was determined that ORSV isolates collected from *Cymbidium hybridum* in Ukraine shared high homology at the nucleotide level with other known ORSV isolates based on CP and RdRp genes/protein sequences. ORSV isolates showed similarity to the virus isolates from South Korea. Since the plants from tropical orchids' collections in botanical gardens in Ukraine were originally imported from eastern countries, we suggest that ORSV could invade orchid collections with imported plant material with a further spread in Ukraine.

#### References

- Zettler FW, Wistler GC, Elliot MS, Ko N-J. Viruses of orchids and their control. *Plant. Disease.* 1990; 74: 621-626.
- Lee Ch-H, Zheng Y-X, Jan F-J. The Orchid-Infecting viruses found in the 21st century Orchid Biotechnology III. 2017; 145-164 : [https://doi.org/10.1142/9789813109223\\_0009](https://doi.org/10.1142/9789813109223_0009)
- Ahmad S, Chen G, Huang J, Yang K, Hao Y, Zhou Y & Peng D. Beauty and the pathogens: A leaf-less control presents a better image of *Cymbidium* orchids defense strategy. *Frontiers in Plant Science*, 2022; 1; 1-13.
- Pant RP, Baljeet Kaur. Virus diseases of orchids. *RASSA Journal of Science for Society.* 2022.; 4 (1): 1-15.
- Ajijikutira PA, Lim-Ho CL, Woon MH, Ryu KH, Chang CA, Loh CS, Wong SM. Genetic variability in the coat protein genes of two orchid viruses: *Cymbidium* mosaic virus and *Odontoglossum* ringspot virus. *Arch. Virol.* 2002; 147: 1943-1954.
- Wong SM, Chng CG, Lee YH, Tan K, Zettler FW. Incidence of *Cymbidium* Mosaic and *Odontoglossum* Ringspot Viruses and Their Significance in Orchid Cultivation in Singapore. *Crop Prot.* 1994; 13:235-239, [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(94\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90084-1)
- Cánovas SE, Ballari MC and Nome CF. First report of *Cymbidium* mosaic virus and *Odontoglossum* ring spot virus in Argentina. *Australasian Plant Dis. Notes.* 2016; 11: 2. <http://dx.doi.org/10.1007/s13314-015-0189-7>.
- Koroteyeva HV, Polischuk VP. [Viral diseases in the orchid collection of Academician O. V. Fomin Botanical Gardens of Taras Shevchenko Kyiv National University] [Scientific Notes of NaUKMA]. 2001; 19(2): 399-400. Ukrainian
- Polischuk V, Koroteyeva G, Bysov A, Lavrentieva A. Spreading of virus infection in the orchid collection in Ukraine. *Plant science.* Sofia. 2007; XLIV (3) : 213-216.
- Chng CG., Wong SM., Mahtani PH, Loh CS, Goh CJ, Chung MC-M, Watanabe Y. The complete sequence of a Singapore isolate of *Odontoglossum* ringspot virus and comparison with tobamoviruses. *Gene.* 1996; 171: 155-161.
- Panjaitan MVT, Mahfut, Handayani TT, Wahyuningsih S. Various ORSV infection symptoms on *Ceratostylis* induction in orchid plants. *Journal of Sustainability Science and Technology.* 2021.1(2): 64-71.
- Manfut Identification and Efforts to Control Infection *Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) on Orchid. *International Journal of Engineering, Science and Information Technology.* 2021, 1(1):25-29.
- Pearson MN, Cole JS. Further observations on the effects of *Cymbidium* mosaic virus and *Odontoglossum* ringspot virus on the growth of *Cymbidium* orchids [Electronic resource]. *Journal of Phytopathology.* 1991; 131(3); 193-198. – Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1991.tb01187.x>
- Yamane K, Oyama K, Iuchi E, Ogawa H, Suzuki T, Natsuk T. RT-PCR detection of *Odontoglossum* ringspot virus, *Cymbidium* mosaic virus, and Tospoviruses and association of infections with leaf yellowing symptoms in *Phalaenopsis*. *Journal of Phytopathology.* 2008; 156: 268-273. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01352.x>
- Hu JS, Ferreira S, Xu MQ. Detection of *Cymbidium* Mosaic Virus, *Odontoglossum* Ringspot Virus, Tomato Spotted Wilt Virus, and Potyviruses Infecting Orchids in Hawaii, Department of Plant Pathology. 1993:464-468. [https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1993Articles/PlantDisease77n05\\_464.PDF](https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1993Articles/PlantDisease77n05_464.PDF)
- Dubs M C, Van Regenmortel MH. *Odontoglossum* ringspot virus coat protein: sequence and antigenic comparisons with other tobamoviruses. *Arch. Virol.* 1990; 115: 239-249.
- Gibbs A. Evolution and origins of tobamoviruses. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1999; B 354: 593-602. <http://doi.org/10.1098/rstb.1999.041>
- Sherpa A, Tusa B, Hallan V, Zaidi A. A Detection of *Odontoglossum* ringspot virus in orchids from Sikkim, India. *Australasian Plant Pathology – Australasian plant pathol.* 2006; 35: 69-71.
- Rashmi ER, Pant R, Baranwal V, Jain R. Detection of orchid viruses and molecular characterization of *odontoglossum* ringspot virus (ORSV) isolates. *Indian Council of Agricultural Research.* 2021; 91(8):
- Yoon JY, Chung BN, Choi SK. High sequence conservation among *Odontoglossum* ringspot virus isolates from orchids. *Virus Genes.* 2011; 42(2):261-7.

Надійшла до редколегії 12.05.22  
Отримано виправлений варіант 14.06.22  
Підписано до друку 14.06.22

Received in the editorial 12.05.22  
Received version on 14.06.22  
Signed in the press on 14.06.22

А. Пономаренко, студ.,  
Г. Коротєєва, канд. біол. наук,  
О. Андрійчук, канд. біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ЕВОЛЮЦІЙНІ ВЗАЄМОВІДНОСИНИ УКРАЇНСЬКОГО ІЗОЛЯТУ ВІРУСУ КІЛЬЦЕВОЇ ПЛЯМИСТОСТІ ОДОНТОГЛОССУМУ

**Вірус кільцевої плямистості одонтоглоссуму (ВКПО)** є одним із найнебезпечніших вірусів декоративних орхідей. Захворювання, викликані цим вірусом, можуть призвести до зниження фенотипових відмінностей колекцій орхідей і, як наслідок, – їхнього повного виснаження. У цій роботі досліджувалося можливе походження українського ізоляту ВКПО, виділеного з рослин колекції Ботанічного саду імені О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Досліджено властивості нуклеотидних послідовностей РНК-залежної РНК-полімерази (RdRp) та капсидного білка ВКПО. РНК ВКПО виділяли з листків *Cymbidium hybridum*, відібраних із колекції Ботанічного саду імені О. В. Фоміна. Далі послідовності РНК вірусу були ампліфіковані за допомогою RT-PCR та секвеновані. Отримані послідовності порівнювали на рівні нуклеотидів із послідовностями ізолятів ВКПО, доступними в GenBank. При проведенні філогенетичного аналізу було виявлено, що досліджуваний ізолят ВКПО може мати спільній корінь із кількома південнокорейськими ізолятами.

**Ключові слова:** орхідні, ВКПО, ЗТ-ПЛР, філогенетичний аналіз.

О. Подковка<sup>1</sup>, асп.,  
М. Макарчук<sup>1</sup>, д-р біол. наук,  
Н. Філімонова<sup>2</sup>, канд. фіз.-мат. наук,  
І. Пампуха<sup>2</sup>, канд. техн. наук,  
М. Нікіфоров<sup>2</sup>, канд. військ. наук  
<sup>1</sup>ННЦ "Інститут біології та медицини",  
<sup>2</sup>Військовий інститут,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## СТАН ОСНОВНИХ ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ У ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ РІЗНОГО ВІКУ

Досліджено пов'язані з віком зміни у здійсненні простої сенсомоторної реакції (ПСМР), реакції вибору (РВ), протестовано функціональну рухливість нервових процесів (ФРНП) і працездатність головного мозку (ПГМ), а також визначено індекс напруги (ІН) регуляторних систем під час тестування. 47 здорових добровольців, представників різних військових професій, віком 18–54 роки, яких було поділено на три групи (перша група – 18–23 роки,  $n=16$ ; друга – 24–34 роки,  $n=19$ ; третя – 35–54 роки,  $n=12$ ), проходили тести на визначення ПСМР, РВ, ФРНП та ПГМ на основі авторської комп'ютерної методики. Паралельно проводився запис електрокардіограми (ЕКГ). Хоча швидкість ПСМР та РВ не відрізнялася для учасників трьох груп, ІН під час здійснення ПСМР був значуще вищий у третій групі порівняно з першою ( $p<0,01$ ), а під час здійснення РВ його рівень був значуще вищий для другої і третьої груп порівняно з першою ( $p<0,01$ ). Показник ФРНП був значуще більший у третій групі порівняно з першою ( $p<0,05$ ), а ПГМ мала найвищі значення для другої групи порівняно з першою ( $p<0,01$ ). ІН при виконанні тести на визначення ПГМ не відрізняється у трьох групах, а під час проходження тести на ФРНП мав значуще вищий рівень для третьої групи порівняно з першою ( $p<0,01$ ). Ефективність виконання простих завдань (ПСМР та РВ) не змінювалася з віком, але якість їх виконання забезпечувалася за рахунок збільшення ІН регуляторних систем, тобто збільшення симпатичного тонусу. Значення ФРНП є показником, який більше залежить від індивідуальних особливостей ЦНС, ніж від віку. Найвищий рівень ФРНП спостерігався в осіб старшої вікової групи, які також мали підвищений рівень ІН регуляторних систем, що може бути пов'язане з високою активністю кіркових нейронів, що спонукає інтенсифікацію метаболічних процесів та зміни рівня вегетативного забезпечення. Нижчий рівень відносної кількості помилок, тобто найвищий рівень ПГМ, було виявлено в середній віковій групі. При цьому не було виявлено відмінностей в ІН регуляторних систем між військовослужбовцями різних вікових груп.

**Ключові слова:** проста сенсомоторна реакція, реакція вибору, функціональна рухливість нервових процесів, працездатність головного мозку, індекс напруги регуляторних систем, вікові зміни.

**Вступ.** Загальновідомо, що старіння супроводжується змінами у швидкості та/або режимі оброблення інформації в мозку [6]. Хоча раніше вважалося, що старіння більше впливає на вищі когнітивні процеси, ніж на нижчі (сенсорні та моторні), наразі існують докази того, що взаємозалежність між вищими когнітивними та нижчими сенсорними/сенсомоторними процесами стає сильнішою з віком [9]. Щодо внеску нижчих сенсомоторних процесів в уповільнення поведінки в літніх людей, попередні дослідження задокументували зниження дофамінергічної системи нейромедіаторів у старішому мозку людини і, конкретніше, втрату дофамінових рецепторів у смугастому тілі та позастріальних ділянках [8], що пов'язано з основними порушеннями рухових функцій. Було продемонстровано, що інтраокортікальне гальмування та фасилітація первинних рухових ділянок зменшується у людей похилого віку [5]. Такі висновки свідчать про те, що насамперед сенсомоторні функції змінюються в літньому віці, і ці зміни можуть впливати на продуктивність навіть в умовах простого завдання.

Існують дані, що старіння супроводжується функціональною дізрегуляцією збудливості моторної кори під час сенсомоторного оброблення, причому цей дефект стає все більш очевидним із більшою складністю завдання [5]. Наприклад, автори цього дослідження виявили значне уповільнення, пов'язане зі старінням (середній вік групи 58,3), але лише при виконанні завдання на реакцію вибору [5].

Для визначення функціонального стану центральної нервової системи (ЦНС) були виміряні латентні періоди (ЛП) простої сенсомоторної реакції та реакції вибору за тестами ПСМР та РВ, швидкість функціональної рухливості нервових процесів та відносна кількість помилок за тестами ФРНП та ПГМ. Ми обрали ці показники, оскільки вони дозволяють робити висновки щодо

силі нервової системи, її функціонального рівня, рівня функціональних можливостей, швидкості простої сенсомоторної реакції, швидкості реакції вибору, функціональної рухливості нервових процесів та працездатності головного мозку [17, 29].

В основі різноманітних методик визначення коефіцієнта силі нервової системи [12, 23, 24, 25] лежить вимірювання величини латентного періоду (ЛП) сенсомоторних реакцій при багаторазовому повторенні подразників, оскільки швидкість цих реакцій (за однаковості інших умов) є мірою збудливості ЦНС. Крім цього, тривалість ЛП є важливим параметром, який свідчить про рівень психофізичної готовності до виконання моторних завдань узагалі [3]. ПСМР у нормальних умовах є відносно сталим показником, тому його зміни можуть бути використані для контролю, прогнозування та корегування ментального стану людини [7].

При дослідженні роботи операторів було встановлено, що при прийнятті рішення вирішальну роль відіграють швидкісні характеристики процесів оброблення інформації людиною [14, 20]. Саме швидкість оброблення є однією з головних складових у ситуації вибору з великої кількості альтернативних стимулів. Вважалося, що час реакції вибору закономірно збільшується зі збільшенням кількості альтернативних стимулів. Однак уже у класичних дослідженнях було показано, що тренування або життєва практика сприяють тому, що час реакції при багатоальтернативному виборі поступово зменшується і стає майже постійним і перестає залежати від кількості альтернативних ситуацій, які застосовуються в тому або іншому досліді. Встановлено також, що після тривалого тренування час такої реакції приблизно дорівнює часу реакції при застосуванні лише двох альтернативних стимулів (часу диз'юнктивної реакції) [16]. На основі цього можна стверджувати, що саме диз'юнк-

тивна реакція є базовою характеристикою реакції вибору. Для визначення цієї характеристики був використаний тест на реакцію вибору (РВ).

Однією із типологічних якостей особистості, що характеризує процеси гальмування та збудження у ЦНС, є рівень функціональної рухливості нервових процесів (ФРНП). Від ступеня його розвитку значною мірою залежать індивідуальні відмінності функцій уваги, пам'яті, мислення. Ці показники мають особливе значення у процесі особистісно-орієнтованого та профільного навчання [30]. Наприклад, деякі дослідження показали, що учням із високими показниками рухливості нервових процесів властиві вищі рівні розвитку мислення та працездатності головного мозку (ПГМ), а також більш висока успішність у навчанні [11, 18].

Серед методик визначення функціональної рухливості нервових процесів (ФРНП) широкої популярності набув метод А. Е. Хільченка [29]. На базі цієї методики раніше нами був розроблений авторський тест, який ми використали у пропонованому дослідження [2]. Четвертий показник, який ми визначали, – це працездатність головного мозку. Працездатність головного мозку за А. Е. Хільченко визначається за показниками кількості помилкових реакцій шляхом реєстрації реакцій обстежуваного на пред'явлення умовних подразників у швидкому темпі протягом кількох хвилин [2, 10]. Цей тест також доповнює перший, оскільки за І. П. Павловим критерієм сили нервової системи є ПГМ, яка виражається у здібності витримувати тривале та концентроване збудження, або дію сильного подразника, не переходячи у стан запорогового гальмування [19, 28].

Відомо, що типологічні властивості нервових процесів впливають на фізіологічні функції організму (напр. на ефективність адаптаційних реакцій системи кровообігу) [10], а також динаміку психічних процесів [27]. Будь-який вид діяльності вимагає високих швидкісних показників, що відображаються в реакції, швидкості мислення тощо. У свою чергу, оптимізація вищезгаданих функцій забезпечується посиленням метаболізму кіркових нейронів. Динамічно це реалізується шляхом активних ангіотонічних змін, що розвиваються у межах відповідних нейронних модулів [21].

Для вивчення рівня активності механізмів вегетативної регуляції серцево-судинної системи паралельно з проходженням тестів на визначення функціонального стану ЦНС ми діагностували індекс напруги (ІН) регуляторних систем [22]. ІН як похідний показник ритму серця враховує співвідношення між його основними показниками і відображає ступінь централізації процесів його регулювання. При збільшенні симпатичного тонусу мода зазвичай зменшується, що зумовлює збільшення індексу напруги. Посилення ж парасимпатичного тонусу, навпаки, спричиняє збільшення моди і зменшення індексу напруги [13]. Будь-яка стійка адаптація до умов навчання та професійної діяльності має для організму свою "ціну", яка може виявлятися у прямому зношенні функціональних систем, на які у процесі адаптації припадає найбільше навантаження [16]. Тому при профвідборі важливо враховувати не тільки якість виконання завдання, але й кількість зусиль, тобто "ціну", яку організм за це сплачує [16]. Ефективність професійної діяльності є співвідношенням корисного результату та витрачених адаптивних ресурсів [16].

Метою проведеної нами роботи було виявлення впливу віку на психофізіологічні параметри людини, а саме ПСМР, РВ, ФРНП, ПГМ та ІН регуляторних систем під час виконання пропонованих тестів задля введення процедури контролю за швидкістю та ефективністю цих

реакцій і відповідністю до професійних вимог у представників військових спеціальностей.

**Методи та матеріали.** В обстеженні взяли участь 47 добровольців (з них 9 жінок) віком 18–54 роки, без скарг на здоров'я, – представники різних військових професій (механіки, стрільці, водії, оператори радіолокаційної станції, службовці зенітно-ракетних військ, зв'язківці, планшетисти, льотчики та призовники військкомату), яких було поділено на три вікові групи (перша група – 18–23 роки, n=16 (з них 3 жінки); друга – 24–34 роки, n=19 (з них 3 жінки); третя – 35–54 роки, n=12 (з них 3 жінки)).

ПСМР, РВ, ФРНП та ПГМ були визначені за допомогою спеціалізованої комп'ютерної програми [29]. Для реєстрації ПСМР на екрані комп'ютера була інструкція, згідно з якою обстежуваний мав реагувати на появу зображення (квадрата) якомога швидше натисканням будь-якої клавіші. Після цього з'являлося слово "Пуск", 2 с надавалися для фокусування, після чого перші 15 зображень (квадратів) були надані для адаптації і включені з подальшого аналізу. Потім послідовно були пред'явлені ще 100 зображень основної групи. Пауза між ними була обрана випадково з інтервалу 500–600 мс, так що наступний сигнал очікувався, але звикання до ритму появи зображень не відбувалося. Зображення зникало після натискання будь-якої клавіші, в іншому випадку його пред'явлення тривало 1500 мс. Точність реєстрації ЛП ПСМР становила 10 мс. Швидкість ПСМР (Simple Response Time, SRT, мс) розраховували як середнє значення 100 реакцій обстежуваної групи.

У другому тесті "Реакція вибору" обстежуваному на екрані комп'ютера у випадковому порядку пред'являлися два типи стимулів: квадрат або трикутник (всього 300 стимулів), при пред'явленні яких необхідно було реагувати відповідно правою або лівою рукою. Пауза між стимулами обиралась випадково з інтервалу 500–600 мс для того, щоб наступний стимул був очікуваним, але не прогнозуваним. У тесті реєструвався час моторної відповіді на правильно ідентифіковане зображення, тобто при помилковій реакції наступний стимул не пред'являвся. Також реєструвався час сенсомоторної відповіді реакції вибору правою (РВП) та лівою рукою (РВЛ), розраховувався середній час реакції вибору – РВ = (РВП + РВЛ)/2.

У третьому тесті "Тест на визначення функціональної рухливості нервових процесів" (ФРНП) на моніторі комп'ютера обстежуваному пред'являли у випадковій послідовності три види зображень – коло, квадрат і трикутник. При появі квадрата на екрані потрібно було якомога швидше натиснути клавішу "/", трикутника – "z" у латинському регістрі, кола – нічого не натискати. Подразники починали подаватись з інтервалом 500 мс. Кожна правильна реакція зменшувала час пред'явлення зображення на 10 мс, а помилкова – збільшувала. Перші 30 подразників давали на адаптацію, реакція на них впливала на темп пред'явлення стимулів, але впродовж цих 30 реакцій не розраховувалась кількість помилок. Програму зупиняли, коли кількість помилок в останніх 10 реакціях досягала 50 %. Значення ЛП останніх 10 реакцій відкидалися, а показник ФРНП визначався як середнє значення передостанніх 10 ЛП методом ковзного (рухомого) середнього.

У четвертому тесті "Тест на визначення працездатності головного мозку" (ПГМ) обстежуваному пред'являли 200 тих самих стимулів, що і в попередньому тесті, але в темпі, який був індивідуально визначений на основі ФРНП. Цей тест починався безпосередньо після проходження попереднього, оскільки знайдене значення ФРНП задає темп пред'явлення подразників. При цьому реєструвалась тільки кількість помилок. Показ-

ник ПГМ обчислювався як відносна кількість помилок для 1–200 стимулів.

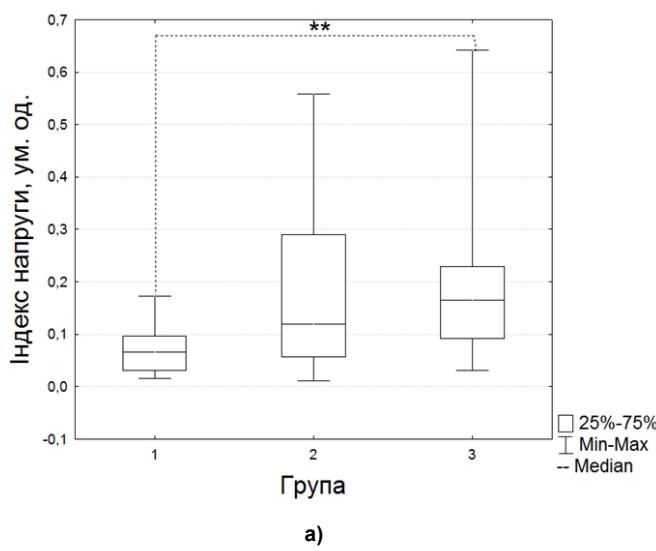
Під час виконання тестів проводився запис ЕКГ. Для реєстрації та аналізу ЕКГ був використаний комплекс "Полі-Спектр". Статистичний аналіз здійснювали за допомогою пакету програм Statistica 8.0 ("StatSoft", USA). Критичним рівнем значущості при тестуванні статистичних гіпотез вважали 0,05. Оскільки розподіл ПСМР, РВ, ФРНП, ПГМ та ІН за критерієм Шапіро – Вілка відрізнявся від нормальногого ( $p < 0,05$ ), то для оцінювання центральної тенденції використовували медіану ( $Me$ ), а розкиду – мікквартильний розмах [25, 75 %]. Подальший аналіз відмінностей здійснювали за допомогою критеріїв Крускала – Волліса та Манна – Вітні.

**Результати та їх обговорення.** Порівняльний аналіз ЛП ПСМР та РВ у трьох групах за критерієм Крускала – Волліса не виявив значущих відмінностей (Kruskal-Wallis test:  $H(2, N=59)=0,888$ ;  $p=0,64$  та  $H(2, N=59)=1,098$ ;  $p=0,58$ , відповідно). Водночас порівняльний аналіз за критерієм Манна – Вітні виявив, що ІН при здійсненні ПСМР був значущо вищий у третій групі порівняно з першою ( $p < 0,01$ ) (рис. 1а). Між першою і другою та другою і третьою групами відмінностей виявлено не було ( $p=0,058$  і  $p=0,053$ , відповідно) (рис. 1а). Тому можна припустити, що підтримання якості виконання завдання на належному рівні учасниками третьої групи забезпечувалось за рахунок збільшення ІН регуляторних систем, тобто збільшення симпатичного тонусу [13]. Раніше нами було показано, що, хоча відмінностей у швидкості ПСМР у трьох вікових групах (18–23, 24–35 та 36–54 роки) не спостерігалось, але нейромережі, які забезпечували виконання цього завдання, значно відрізнялись між собою [26]. Так, у третій групі під час здійснення ПСМР когерентність у тета-діапазоні між пре-

фронтальною зоною та постцентральною звивиною була найбільш вираженою порівняно з першою та другою групами, що може свідчити про збільшення ролі візуальної селективної уваги з віком, а також прикладання більших зусиль та концентрації уваги для виконання завдання, оскільки відомо, що збільшення тета-активності корелює зі складністю завдання і емоційним фактором [4]. Таким чином, результати нашої роботи підтверджують попереднє припущення.

Під час здійснення РВ ІН був значуще нижчий для першої групи порівняно із другою та третьою ( $p < 0,01$ ) (рис. 1б). Між другою і третьою групами відмінностей виявлено не було ( $p=0,7$ ) (рис. 1б). Отже, можна припустити, що підвищення складності завдання не вплинуло на якість його виконання трьома віковими групами, але симпатичний тонус зростав у представників другої і третьої груп, тобто починаючи із 24 років.

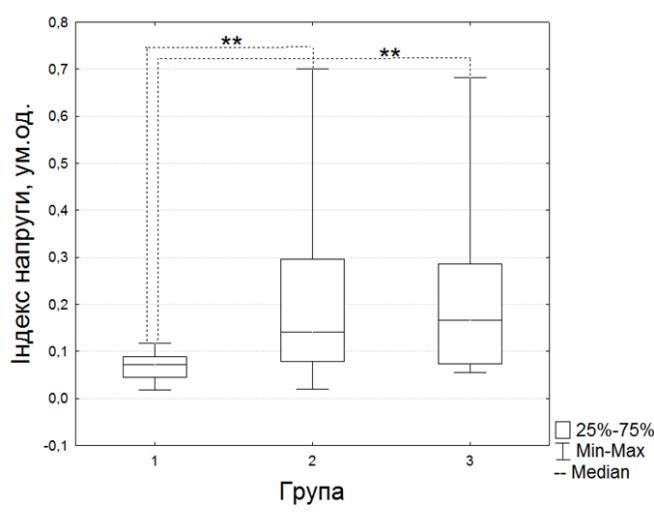
Під час дослідження впливу віку на здійснення чотирьохкомпонентної РВ Kovel зі співавторами показали, що пов'язане зі старінням сповільнення РВ спостерігається як для аудіальних, так і для візуальних стимулів, причому причина полягає не у затриманні оброблення стимулу і вибору відповіді, а у подовженні генерації центральної реакції, тобто у між- та внутрішньопівкульних взаємодіях, що впливають на активацію сенсорних та моторних ділянок кори [5]. Із цього випливає висновок, що саме складність завдання, а не відмінності в моделях активації, що забезпечують специфічне оброблення стимулу, зумовлює сповільнення реакції зі старінням [5]. Інше дослідження виявило, що сповільнення оброблення інформації та зниження точності виконання завдань були опосередковані зниженням оперативної пам'яті, але не зниженням сенсомоторної швидкості [1]. Можливою причиною подібних відмінностей є використання при діагностиці РВ різних методик.



a)

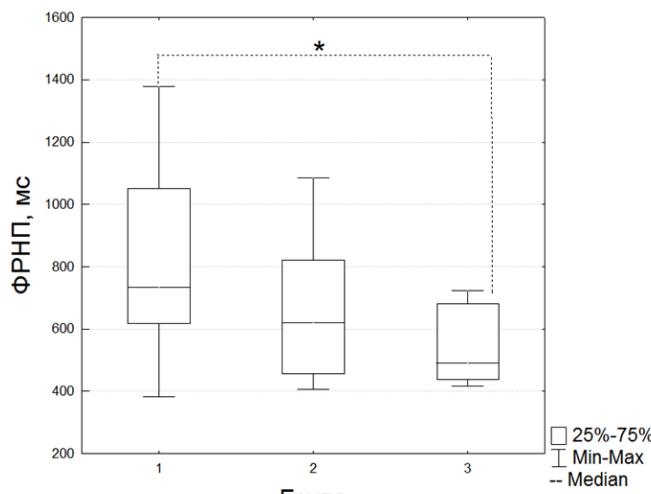
Рис. 1. Індекс напруги регуляторних систем при здійсненні простої сенсомоторної реакції (а) та реакції вибору (б) в обстежуваних різних вікових групах

Натомість у третьому тесті на визначення ФРНП ЛП у третій групі був значуще нижчий, ніж у першій ( $p < 0,05$ ) (рис. 2а), а між першою і другою та другою і третьою групами значущих відмінностей виявлено не було ( $p=0,13$  та  $p=0,17$ , відповідно). У тесті на визначення ПГМ відносна кількість помилок була значуще меншою у другій групі, ніж у першій ( $p < 0,01$ ) (рис. 2б), і не відрізнялася для першої і третьої та другої і третьої груп ( $p=0,39$  та  $p=0,52$ , відповідно). Цікаво, що найменшу кількість помилок у тесті на ПГМ допускала сама друга група, а розкид

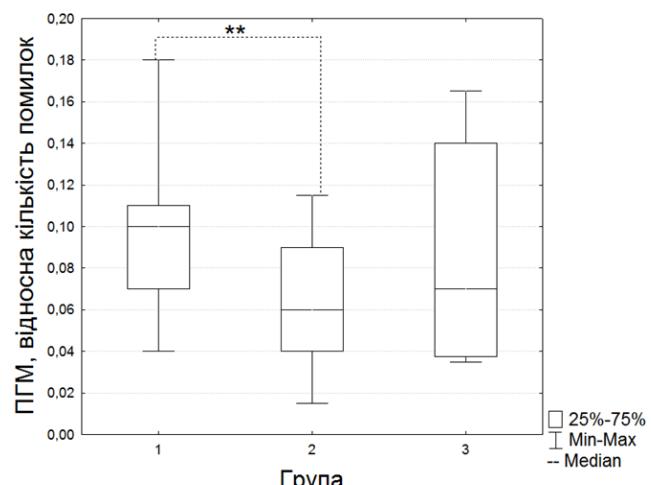


б)

значень по цьому показнику був найбільший у третій групі (рис. 2б). Отже, можна припустити, що з віком ФРНП лишається на належному рівні. У першій групі ФРНП і кількість помилок при проходженні тесту на ПГМ були найбільшими (рис. 2а, б). Отримані результати можуть бути пов'язані з тим, що військовослужбовці другої і третьої вікових груп пройшли природний відбір упродовж проходження служби, а ті з них, хто мав недостатні рівні ФРНП та ПГМ, відсіялись.



а)



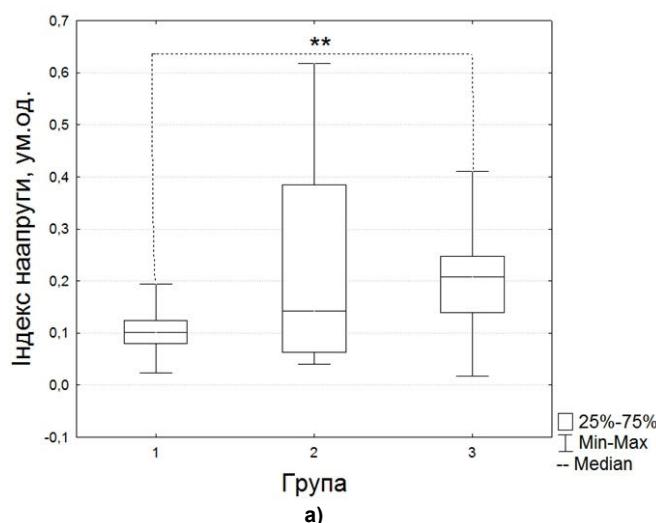
б)

Рис. 2. Функціональна рухливість нервових процесів (а) та працездатність головного мозку (б) в обстежуваних різних вікових груп

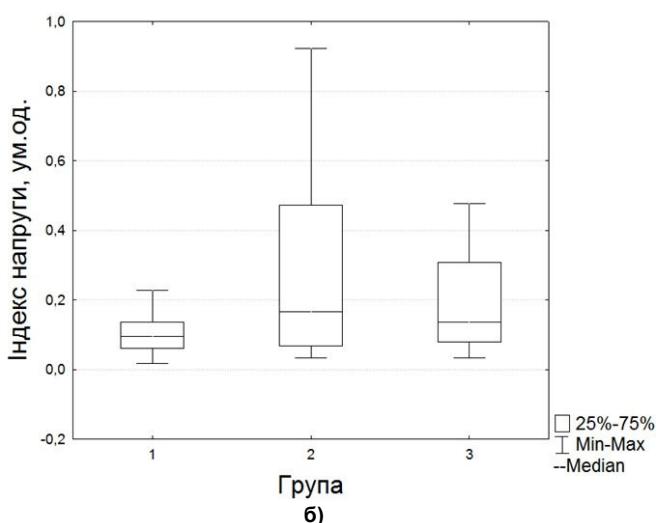
ІН при виконанні тесту на визначення ФРНП був значуще вищий для третьої групи порівняно з першою ( $p<0,01$ ) та не відрізнявся для першої і другої та другої і третьої груп ( $p=0,16$  і  $p=0,9$ , відповідно) (рис. 3а). Це співвідноситься з даними іншого дослідження, яке свідчить, що найвищі показники кровонаповнення судин різного калібру зазначені в людей з високим рівнем ФРНП. Підставою для цього слугують нижчі значення ЛП реакції, що, імовірно, пов'язано з більш високою активністю

кіркових нейронів, які входять до блоку регуляції та контролю за здійсненням довільних рухових реакцій на зоровий стимул. У свою чергу, висока активність кіркових нейронів спонукає інтенсифікацію метаболічних процесів та зміни рівня вегетативного забезпечення [21].

Під час виконання тесту на визначення ПГМ ніяких значущих відмінностей ІН між першою і другою, першою і третьою та другою і третьою групами виявлено не було ( $p=0,09$ ,  $p=0,19$ ,  $p=0,75$ , відповідно) (рис. 3б).



а)



б)

Рис. 3. Індекс напруги регуляторних систем при визначенні функціональної рухливості нервових процесів (а) та працездатності головного мозку (б) в обстежуваних різних вікових груп

Раніше було показано, що ПГМ є оптимальною для індивідів з низьким ІН у стані спокою та підвищеною при виконанні завдання [15]. Тому надалі для більш точної характеристики вікових змін ПГМ та ефективності виконання завдання необхідно здійснити порівняльний аналіз ІН у стані спокою та під час виконання завдання.

**Висновки.** Ефективність виконання простих завдань (ПСМР та РВ) не змінюється з віком, але підтримання якості їх виконання забезпечується за рахунок збільшення ІН регуляторних систем, тобто збільшення симпатичного тонусу. Значення ФРНП є показником, який

більше залежить від індивідуальних особливостей ЦНС, ніж від віку. Найвищий рівень ФРНП спостерігався в осіб старшої вікової групи, які також мали підвищений рівень ІН регуляторних систем, що може бути пов'язане з високою активністю кіркових нейронів, що спонукає інтенсифікацію метаболічних процесів і зміни рівня вегетативного забезпечення. Нижчий рівень відносної кількості помилок, тобто найвищий рівень ПГМ, було виявлено в середній віковій групі. При цьому не було виявлено відмінностей в ІН регуляторних систем між військовослужбовцями різних вікових груп.

## References

1. Briggs SD, Raz N, Marks W. Age-related deficits in generation and manipulation of mental images: I. The role of sensorimotor speed and working memory. *Psychol Aging*. 1999;14(3):427–35. doi:10.1037/0882-7974.14.3.427

2. Chaichenko GM, Tomilina LG, Filimonova NB. Some mechanisms of the human mental efficiency. *Pflugers Archiv. European J. Physiol.* 1995;Suppl.to vol.430(4):45.

3. Ermakov AV. Simple and complex sensorimotor reaction for choice when teaching protection against armed attacker. Proceedings of the First International Volga Region Conference on Economics, Humanities and Sports (FICEHS 2019). Paris, France: Atlantis Press; 2019. <https://doi.org/10.2991/aebmr.k.200114.185>.

4. Filimonova NB. [Computer express-method for determining the psycho-physiological state of human]. Proceedings of the II International scientific-methodical conference "Culture of health as a subject of education"; Kherson, Ukraine, Kherson: Kherson State University; 2000. p. 204-209. Ukrainian.

5. Gornaev BI, Dornichev VM. [Reactions of the circulatory system under psycho-emotional stress]. *Circulation*. 1986;5:7–11. Russian.

6. Gurevich KM. [Professional suitability and basic properties of the nervous system]. In: [Comprehensive assessment of health and adaptation indicators in educational institutions: scientific and methodological manual]. Novokuznetsk: IPK; 2004. 169 p. Russian

7. Harmony T, Fernández T, Silva J, Bernal J, Díaz-Comas L, Reyes A, et al. EEG delta activity: an indicator of attention to internal processing during performance of mental tasks. *Int J Psychophysiol*. 1996;24(1–2):161–71. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(96\)00053-0](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(96)00053-0).

8. Ilyin EP. [Guidelines for the workshop on psychophysiology (express methods for studying of the nervous system properties)]. Leningrad: Leningrad Pedagogical Institute. 1981. 82 p. Russian

9. Kholodnyuk TA. [Analysis of the dependence of the development of some psychophysiological indicators of students on the level of functional mobility of nervous processes]. *Bulletin of the Kemerovo State University*. 2008;4:117-118. Russian

10. Kolev V, Falkenstein M, Yordanova J. Motor-response generation as a source of aging-related behavioural slowing in choice-reaction tasks. *Neurobiol Aging*. 2006;27(11):1719–30.

11. Kovalenko SO, Kudiy LI. [Heart rate variability. Methodological aspects]. Cherkasy: Cherkasy National University. B. Khmelnytsky; 2016. Russian.

12. Leontiev AN, Krinchik EP. [Processing of information by a person in a situation of choice]. In: Engineering psychology, Leontiev AN, editor. Moscow: Publishing House of Moscow State University; 1964. p. 295-325. Russian.

13. Litvinova NA, Ivanov VI, Berezina MG, Glebov VV. [Estimation of psychophysiological potential in the process of adaptation to educational activity]. *Psychology. Psychophysiology*. 2021;14(2):108-122. DOI: 10.14529/jpps210211. Russian.

14. Litvinova NA, Kazin EM, Lurie SB, Bulatova OV. [The role of individual psychophysiological features in adaptation to mental activity]. *Bulletin of the Kemerovo State University*. 2011;45(1):141-147. Russian.

15. Loskutova TD. [Assessment of the functional state of the human central nervous system by the parameters of a simple motor response]. *Fiziol. Zhurn. USSR*. 1975;61(1):3-11. Russian.

16. Makarenko NV. [Neurodynamic characteristics of complex sensorimotor reactions in individuals with different levels of functional mobility of nervous processes]. Proceedings of the Principles and mechanisms of human brain activity: All-Union Conference; 1989; Leningrad, Russia. Leningrad: Nauka; 1989. p. 129-130. Russian

17. Makarenko NV. [Psychophysiological functions of a person and operator work]. Kyiv: Naukova Dumka; 1991. 216 p. Russian.

18. Makarenko NV. [Theoretical foundations and methods of professional selection of military specialists]. Kyiv: Scientific Research Institute of Problems of Military Medicine of the Ukrainian Military Medical Academy; 1996. 336 p. Russian.

19. Matin BV. [Differences in hemodynamic support of mobility of nervous processes in senior schoolchildren]. *Bulletin of the Nizhny Novgorod University named after N.I. Lobachevsky*. 2008;6:108-112. Russian.

20. Mikhailov VM. [Heart rate variability. Experience of practical application of the method]. Ivanovo; 2000. 200 p. Russian.

21. Nebylitsyn VD. [Comparative study of brief methods for determining of the main properties of human nervous system]. In: *Typological features of higher nervous activity of a person*. Moscow: Enlightenment; 1965. p. 60-83. Russian.

22. Nebylitsyn VD. Basic properties of the human nervous system. Moscow: Enlightenment; 1966. 383p. Russian.

23. Peisakhov NM, Kashin AP, Vagapov RG. [Methods and portable equipment for the study of individual psychological differences in humans]. Kazan: Publishing House of Kazan University. 1976. 238p. Russian.

24. Podkovka Ol, Makarchuk MY, Filimonova NB, Pampuha IV, Nikiforov MM. [Age-related neurophysiological changes in simple sensorimotor reaction performance]. *Bulletin of the Cherkasy National University*. Forthcoming 2022.

25. Rusalov VM, Kotov LN. [On the question of the neurophysiological content of the lability of the nervous system]. *Questions of psychology*. 1980;2:150-154. Russian.

26. Schubert A-L, Hagemann D, Löffler C, Frischkorn GT. Disentangling the effects of processing speed on the association between age differences and fluid intelligence. *J Intell*. 2019;8(1):1. <https://doi.org/10.3390/intelligence8010001>.

27. Shtofel D, Kostishyn S, Navrotska K, Zlepko S, Tymchyk S. Reaction parameter and modified sensorimotor reaction method for assessment of functional potential of nervous system. *Biomed inž elektron*. 2018;1(20):68-78. DOI: 10.6084/m9.figshare.5230345.

28. Smith CT, Crawford JL, Dang LC, Seaman KL, San Juan MD, Vijay A, et al. Partial-volume correction increases estimated dopamine D2-like receptor binding potential and reduces adult age differences. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2019;39(5):822–33. <https://doi.org/10.1177/0271678X17737693>.

29. Troshikhin VA, Moldavskaya SI, Kolchenko NV. [Functional mobility of nervous processes and professional selection]. Kyiv: Naukova Dumka; 1978. 226 p. Russian.

30. Yordanova J, Kolev V, Hohnsbein J, Falkenstein M. Sensorimotor slowing with ageing is mediated by a functional dysregulation of motor-generation processes: evidence from high-resolution event-related potentials. *Brain*. 2004;127(Pt 2):351–62. <https://doi.org/10.1093/brain/awh042>.

Надійшла до редколегії 16.05.22  
Отримано відповідний варіант 17.06.22  
Підписано до друку 17.06.22

Received in the editorial 16.05.22  
Received version on 17.06.22  
Signed in the press on 17.06.22

O. Podkovka<sup>1</sup>, PhD stud.,  
M. Makarchuk<sup>1</sup>, Dr. Sci.,  
N. Filimonova<sup>2</sup>, PhD in Physical and Mathematical Sciences,  
I. Pampuha<sup>2</sup>, PhD in Technology,  
M. Nikiforov<sup>2</sup>, PhD in Military Sciences  
<sup>1</sup>Educational and Scientific Centre "Institute of Biology and Medicine",  
<sup>2</sup>Military institute,  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

## STATE OF THE MAIN PSYCHOPHYSIOLOGICAL FUNCTIONS IN MILITARY SERVANTS OF DIFFERENT AGE GROUPS

*To discover age-related changes in the simple sensorimotor reaction (SSMR), choice reaction (CR), functional mobility of nervous processes (FMNP) and brain productivity (BP), as well as to determine the stress index (SI) of regulatory systems during performance of these tests. Forty-seven healthy volunteers, representatives of military professions, aged 18–54 were divided into three groups (first group – 18–23 years, n=16; second group – 24–34 years, n=19; third group – 35–54 years, n=12) and performed original computer tests to determine SSMR, CR, FMNP and BP. An electrocardiogram (ECG) was recorded in parallel. Although the rate of SSMR and CR did not differ for participants of three groups, the SI was significantly higher in the third group, compared with the first group (p<0.01) during SSMR. During CR performance it was significantly higher for the third and second groups compared with the first one (p<0.01). The FMNP index was significantly higher in the third group compared to the first one (p<0.05), and BP had the highest values for the second group compared to the first one (p<0.01). During performance of BP test, the SI did not differ in three groups, and during the test for FMNP it was significantly higher in the third group compared to the first one (p<0.01). The effectiveness of simple tasks (SSMR and CR) does not change with age, but their level is maintained due to increase of the SI of regulatory systems, i.e. increasing sympathetic tone. The FMNP value mainly depends on the individual CNS characteristics than on age. The highest level of FMNP was in the elderly. They also had elevated levels of the SI of regulatory systems. The reason of this could be associated with the high activity of cortical neurons, which leads to intensification of metabolic processes and changes in the level of autonomic supply. The lowest level of relative error, i.e. the highest level of BP was found in the middle age group. At the same time, no differences were found in the SI of regulatory systems between servicemen of different age groups during BP test performance.*

**Keywords:** simple sensorimotor reaction, choice reaction, functional mobility of nervous processes, brain productivity, stress index of regulatory systems, age-related changes.

## ANTIHERPETIC ACTION OF CERIUM SALTS *IN VITRO*

*Compounds based on cerium are highly promising objects in biotechnology regarding their high biological activities such as antiviral, antibacterial, antifungal, neuro- and radioprotective action, and antioxidant activity. On their basis it is possible to develop compositions capable of activating the systems of cellular and humoral immune defense and use them for the prevention and therapy of viral diseases, which makes it achievable to use them for the development of potential antiherpetic agents. Despite the success of their application in biotechnological fields, the mechanism of their action on biological objects requires detailed research.*

*The work aimed to verify *in vitro* anti-HSV-1/2 activity of trivalent and tetravalent cerium salts (1 mM–0.01 nM) according to the preventive and therapeutic regimen. Methods: virological, cytological, statistical. The therapeutic regime was noneffective. In the preventive regime, salt  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  *in vitro* forms antiviral resistance in the range of investigated concentrations, while the salt  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  forms a non-linear, sinusoidal-like concentration-dependent anti-HSV-1/2 response of cells. Cerium salts (III and IV) can cause the formation of a state of antiviral resistance in the model system MA-104 – HSV-1/2 during their previous 24 h of contact with test cells. Cerium salt (IV) provides 50 % inhibition of the cytopathic action of HSV-1/2 at a concentration of 1  $\mu\text{M}$ . It is assumed that the shown antiviral activity of cerium salts may be due to their effect on the interferon system and the formation of antiviral resistance in cells.*

**Keywords:** *herpes simplex virus (HSV-1/2),  $\text{Ce}^{3+}$  and  $\text{Ce}^{4+}$  salts, antiviral activity *in vitro*, preventive and treatment regimen.*

**Introduction.** Cerium is the most common rare earth element in the lanthanide series and is found in the earth's crust. It can exist in both trivalent and tetravalent states [1]. Today, compounds based on cerium are highly promising objects in biotechnology regarding their high biological activities such as antiviral, antibacterial, antifungal, neuro- and radioprotective action, and antioxidant activity, and these compounds can also increase the lifespan of micro- and macroorganisms [2–4]. On their basis it is possible to develop nanocomposites capable of activating the systems of cellular and humoral immune defense, operate as drug/gene delivery systems, and antidiabetic drugs, and use them for the prevention and therapy of viral diseases, which makes it achievable to use them for the development of potential antiherpetic agents [1, 5].

However, there are only limited reviews describing synthetic methodologies and biomedical applications of cerium salts and they do not offer complete information on their biological applications [1].

Cerium can show stability in the tetravalent state, while other lanthanides are stable only in the trivalent state [6]. The activity of tetravalent cerium is higher than trivalent [2, 7]. Cerium has several unique properties associated with the stable state of  $\text{Ce}^{4+}$ : redox activity, small ionic radius, and high charge density [2].

It should be noted that water-soluble salts of cerium  $\text{Ce}^{3+}$  in biological fluids are easily hydrolyzed to form a hydroxy compound. At pH 7–8,  $\text{Ce}^{3+}$  ions are rapidly oxidized by dissolved oxygen with the formation of  $\text{Ce}^{4+}$  ions, which are even more prone to hydrolysis, so that they immediately form insoluble  $\text{Ce}^{4+}$  hydroxide and the latter dehydrates to cerium. In other words, almost all cerium that enters the organism in the form of water-soluble salts is converted into insoluble cerium dioxide and cerium dioxide forms individual or aggregated nanoparticles in the presence of biopolymers (proteins, polysaccharides, and others) that perform stabilizing functions. That is, the biological activity of cerium compounds is largely due to  $\text{CeO}_2$  nanoparticles [8].

Cerium oxide or nano cerium can switch the oxidation state between +3 and +4 depending on the environment. It can exist as  $\text{CeO}_2$  and  $\text{Ce}_2\text{O}_3$  and exhibits catalytic activity due to the redox behavior of cerium [1].

Also, nano cerium and cerium ions have oxidoreductase-like and phosphatase-like properties and catalase and peroxidase activity [2, 9]. The beneficial biological effects of nano cerium and cerium ions are largely identical and are

observed at low concentrations. Cerium ions can cause direct oxidation (especially in acidic environments), which also depends on ligands. At high concentrations, cerium ions inactivate enzymes and inhibit biologically active molecules. At appropriate (low) concentrations, cerium ions may increase the activity of some enzymes. Many lanthanides have a similar effect on living things, although due to the properties of the tetravalent cerium ion in oxide/hydroxide compounds, it is most suitable for biomedical use [2].

**Materials and methods.** *Cerium salts.* The following compounds were investigated:  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Sigma, USA) and  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  (Sigma, USA), in which cerium has a valence of +3 and +4 respectively. Solutions of  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  were used with an initial concentration of 0.1 M and 1 M in accordance. Cerium salts were dissolved in sterile water to obtain a concentration of 10 mM.

**Cell Culture.** The cell culture used in the research is African green monkey kidney cell culture MA-104 obtained in collaboration with *GlaxoSmithKline Biologicals S.A.* (Belgium). Cells were grown in monolayer culture in glass and plastic culture vials with a bottom area of 25 and 75  $\text{cm}^2$  and 96-well plates in DMEM medium with 10 % fetal bovine serum (Sigma, USA) and incubated at 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ . Cells were established at  $2 \cdot 10^6$  cells/mL and subcultures when confluence reached 100 % every 2 to 3 days.

**Virus.** Used to determine the antiviral activity of cerium salts was herpes simplex virus (HSV-1/2) isolate "GMM" from the virus collection of D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NASU. Adsorption of HSV-1/2 on the cell occurs within 60 minutes. The appearance of the cytopathic effect of the virus was observed with an optical microscope 18–20 hours after the infection of cell cultures. The virus is characterized by high cytotoxicity, which is manifested by a characteristic cytopathic effect on cell culture after 24–72 h of cultivation. The CPE of the herpes virus develops in the form of enlarged, refractive, round cells. CPE begins focally, but spreads rapidly, affecting other parts of the monolayer [10].

The dose of the virus used in the research is equal to  $\text{TCID}_{50}$ .  $\text{TCID}_{50}$  is the dose of the virus that destroys 50 % of the cell monolayer. The  $\text{TCID}_{50}$  was calculated by determining the titer of the virus by tenfold titration in a 96-well plate on the appropriate cell line. The logarithm of the virus titer was calculated by a modified method of Reed–Muench [11]. The antiviral efficacy of the investigated compounds was

evaluated by determining the median effective dose  $ED_{50}$  – the investigated compound that protects 50 % of the cell monolayer. This indicator was determined relative to the cell control which is intact cells of the appropriate cell culture on which the study was performed. To determine the antiviral activity of cerium salts preventive and therapeutic regimens were used. According to the preventive regimen, cerium salt samples were added to the MA-104 cell culture 24 h before the infection of HSV-1/2. The antiviral effect of the researched compounds was determined in the tenfold concentration range from 100  $\mu$ M to 0.01 nM. According to the treatment regimen, salt samples were added to MA-104 cells 60 min after infection with HSV-1/2. In this regimen, the antiviral effect of cerium salts was determined in the tenfold concentration range an order of magnitude higher than in the preventive regimen from 1.0 mM to 0.1 nM. Used HSV-1/2 with the multiplicity of infection  $1 \times 10^3$  TCD<sub>50</sub> in 100  $\mu$ l of medium DMEM (Sigma, USA). Crystal violet staining was used to determine the total number of adherent viable cells [12].

**Crystal Violet Assay Procedure.** The assay is based on determining cell adhesion by staining attached cells with crystal violet, which binds to proteins and DNA. Dead cells lose the ability to attach, which leads to a decrease in the amount of dye in cell culture. The optical density of the bound dye is measured using a spectrophotometer [13]. Summary of the methodology: The culture medium was removed from 96-well cells in which cells were cultured. To each well was added 50  $\mu$ l of 0.5 % solution of Crystal violet (Sigma-Aldrich, USA) in 30 % ethanol and incubated plates at room temperature for 10 min. After 10 min, the unbound dye was removed by rinsing the wells four times with tap water. The plates were inverted on filter paper to remove excess water and then air-dried for 1-2 hours [14]. Then, the absorbance values at 540 nm were recorded using a plate reader. And all samples were analyzed in four replicates.

**Statistical Analysis.** Experimental data were processed by conventional methods of variation statistics. The obtained experimental data in the comparison groups are presented in the form of median and statistical error. All comparisons were considered with a significant level of  $P < 0.05$ . The results presented graphically were obtained using Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA).

**Results and discussion.** The addition of Ce<sup>3+</sup> and Ce<sup>4+</sup> salts to cells that were previously infected with HSV-1/2 (treatment regimen) did not protect against the development of the cytodestructive change. Only adding Ce<sup>4+</sup> salt to the cells in the maximum investigated concentration – 1 mM – showed more than 50 % survival of infected cells ( $P < 0.01$ ). However, if an order of magnitude lower concentration of Ce<sup>4+</sup> salt was added to the medium, the number of viable cells in the experimental wells did not differ from the control infected ones (Fig. 1, A).

That is, it can be argued that in the treatment regimen of cerium salts III and IV valence *in vitro* certain limited antiherpetic activity is shown only for Ce<sup>4+</sup> salt in the maximum studied concentration of 1 mM. The percentage of living cells relative to the control intact cells was 70.4 % [54.4–90.7 %] ( $P < 0.01$ ). The absence of antiviral effect manifestations of the Ce<sup>3+</sup> salt under the studied conditions is likely to be associated with its chemical properties, which are different from the Ce<sup>4+</sup> salt.

Study results of the antiviral resistance state formation in MA-104 cells after 24 h of contact with various concentrations of Ce<sup>3+</sup> and Ce<sup>4+</sup> salts (preventive regimen) are shown in Fig. 1, B.

The presence of Ce<sup>4+</sup> salt in the cell culture medium for 24 h before infection with HSV-1/2 ensured the formation of an antiviral resistance state in the entire range of studied concentrations with a maximum of ~ 50 % protection of cells from the viral cytopathic action at a concentration of 1  $\mu$ M (high concentrations did not provide better protection, which is probably due to their certain toxic effects). More than 30 % protection was found under the condition of the Ce<sup>4+</sup> salt present in the cell culture medium at concentrations of 0.1–0.01  $\mu$ M and ~25 % protection was provided by the presence of Ce<sup>4+</sup> salt at 0.1–1.0 nM concentrations ( $P < 0.01$ ). Even a 10 pM concentration of Ce<sup>4+</sup> salt provided significantly higher ( $P < 0.05$ ) than in infected control cells resistance to the cytopathic effect development under conditions of HSV-1/2 infection.

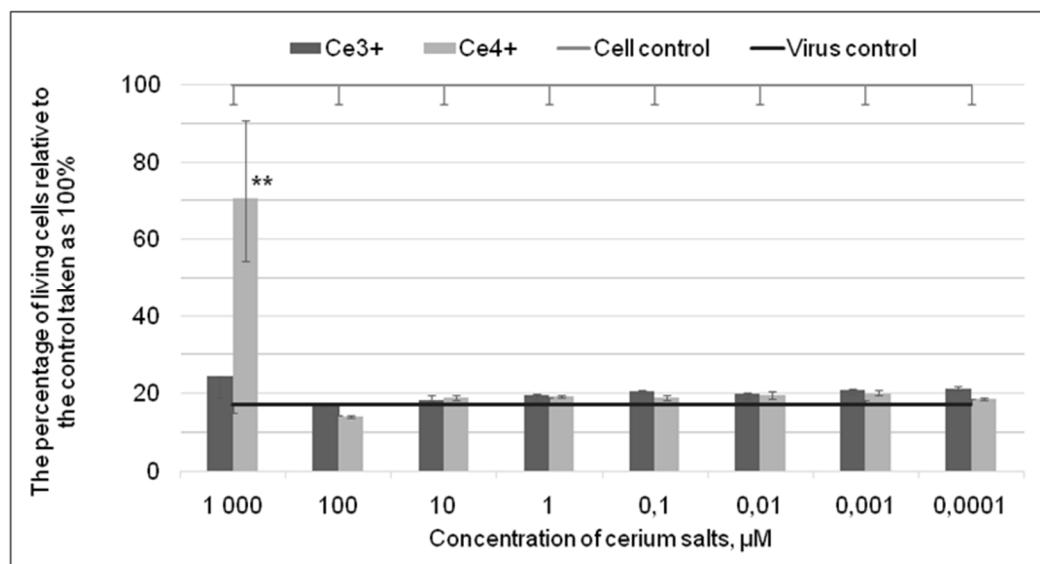
The nature of the effect of 24 h of Ce<sup>3+</sup> salt contact on the state of resistance of HSV-1/2 infected cells is ambiguous. A nonlinear, oscillating response was observed when the concentration of the Ce<sup>3+</sup> salt changed by one order of magnitude. This phenomenon could be attributed to methodological errors, but since in the experiment the change in the reaction is traced four times, in addition, it is reproduced in repeated experiments, the question arises as to the mechanism of such a reaction of cells. Most likely, the fact we discovered is due to the ability of CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O salt at different concentrations to interact differently with the components of the nutrient medium, changing their characteristics, which after 24 hours of contact with cells can affect their metabolism and reactivity.

That is, if the effect of Ce<sup>4+</sup> salt on cells is concentration-dependent and linear, then Ce<sup>3+</sup> salt affects the state of cells indirectly: we observe a series of sharp changes (jumps) in the appearance and loss of activity associated with a 10-fold change in its concentration. Interestingly, the maximum manifestation of antiviral resistance in cells is shown when nanomolar concentrations of Ce<sup>3+</sup> salt (0.1 nM and 10 nM,  $P < 0.01$ ) are introduced into the culture medium.

The absence of the effect of antiviral protection in the presence of Ce<sup>3+</sup> salt in the culture medium at intermediate concentrations of 1 nM and 0.01 nM ( $P > 0.05$ ) indicates a high sensitivity of the object to exposure to Ce<sup>3+</sup> ions or products of their reaction with environmental components. The obtained results are very interesting from the point of view of the analysis of the mechanisms of antiviral state formation in cells in the presence of microelements in their microenvironment and rare earth elements in particular. In addition, the detected fluctuation concentration dependence of the formation of antiviral resistance leads to a certain parallel regarding the similarity of the detected phenomenon to the self-oscillation reaction created by B. Belousov and studied in detail by A. Jabotinsky, where the main component that provided the self-oscillating process was the Ce<sup>3+</sup> ion [15]. The facts obtained and the parallels drawn out require a deep and thorough study.

Thus, under *in vitro* conditions, the use of III and IV valence cerium salts according to the treatment regimen does not provide antiherpetic effects. While the presence of Ce<sup>4+</sup> salts in the culture medium causes the formation of an antiviral resistance state: the effect linearly depends on the salt concentration. The CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O salt effect was found to fluctuate (disappear and appear) depending on the change in the concentration of ions in the culture medium. Table 1 shows a certain range of effective concentrations of CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> salts.

A



B

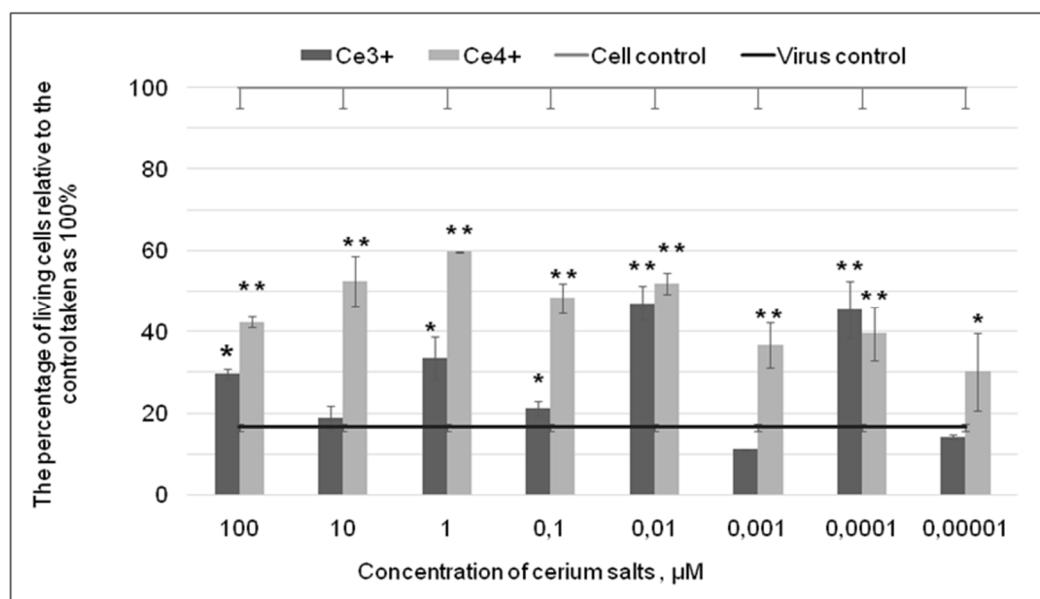


Fig. 1. Antiherpetic action of  $\text{Ce}^{3+}$  and  $\text{Ce}^{4+}$  salts. Notes:  
 A – treatment regimen, B – preventive regimen; \* –  $P < 0.05$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ,  $n=4$ ,  
 results presented as the median and the interval between the first and third quartiles [Q1–Q3]

Table 1. Indicators of effective antiherpetic concentrations of cerium salts according to the preventive regimen *in vitro*

Effective concentration, nM	$\text{EC}_{10}$	$\text{EC}_{25}$	$\text{EC}_{50}$	$\text{EC}_{75}$	$\text{EC}_{90}$
$\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05	0.08	–	–	–
$(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$	0.01	0.10	1 000	–	–

Note: “–” anti-virus protection is insufficient, and effective concentration has not been determined.

Since the experiment was conducted with a high multiplicity of infections, it can be assumed that with a lower multiplicity of infections, the effective concentrations will be lower.

We have shown that cerium salts are capable of providing the formation of a state of antiviral resistance against HSV-1/2, provided that they are present for 24 h in the culture medium. The treatment regimen in the same salt concentrations as the preventive regime (100  $\mu\text{M}$ –0.01 nM) does no antiviral effectiveness. Salt  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  *in vitro* provides the formation of an effective state of antiviral resistance, while the salt  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

forms a non-linear, sinusoidal-like concentration-dependent anti-HSV-1/2 response of cells.

It was studied *in vitro* the antiviral effect of  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  salts at various concentrations in MA-104 cell culture at a high multiplicity of HSV-1/2 infection. It has been found that cerium salts are capable of providing antiherpetic activity.

These results correlate with the previously obtained data [16] on the antiviral activity of cerium salts against vesicular stomatitis virus *in vitro*. The detected effects correlated with the shown activation of the interferon system under the

condition of their 24h contact with L929 cell culture, which can actively produce interferon. A preventive regimen of the studied salt application can affect the activation of the interferon system in MA-104 cells and, in some way, form a state of antiviral resistance, as shown in our work. It should be noted that herpes infection can interfere with the interferon system [17, 18], which may cause the ineffectiveness of salts in the treatment regimen.

**Conclusions.** Antiherpetic activity of trivalent and tetravalent cerium salts ( $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ ) was studied *in vitro* in the range of ten-fold concentrations from 1 mM to 0.01 nM.

1. It was shown that in the therapeutic regimen, the use of  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  salts in the range of studied concentrations does not protect MA-104 cells from the development of the cytopathic effect of HSV-1/2.

2. According to the preventive regimen *in vitro* (samples were added to the MA-104 cell culture 24h before the infection of HSV-1/2)  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  provides the formation of an effective state of antiviral resistance, while the salt  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  forms a non-linear, sinusoidal-like concentration-dependent anti-HSV-1/2 response of cells.

3. It has been suggested that the shown antiviral activity of cerium salts according to the preventive regimen may be due to their effect on the interferon system and the formation of antiviral resistance in cells.

#### References

- Thakur, N., Manna, P. and Das, J. (2019). Synthesis and biomedical applications of nanoceria, a redox-active nanoparticle. *Journal of Nanobiotechnology*, 17(1), 1-27, DOI:10.1186/s12951-019-0516-9.
- Shcherbakov, A. B., Zholobak, N. M., & Ivanov, V. K. (2020). Biological, biomedical and pharmaceutical applications of cerium oxide. In *Cerium oxide ( $\text{CeO}_2$ ): synthesis, properties and applications*, 279-358. Elsevier. DOI:10.1016/B978-0-12-815661-2.00008-6.
- Shydlovs'ka, O. A., Kharchenko, Y.E., Osinniy, I. M., Spivak, M. YA., Shcherbakov, O. B., & Zholobak, N. M. (2018). Nanochastynky dioksydu tseriyu-efektyvnyy antyvirusnyy zasib ta ad"yuvant biolohichno-aktyvnykh molekul. *ScienceRise. Biological science*, (1), 26-30, DOI:10.15587/2519-8025.2018.124686.
- Zholobak, N. M., Olevinskaya, Z. M., Spivak, N. YA., Shcherbakov, A. B., Ivanov, V. K., & Usatenko, A. V. (2010). Antivirusnoye deystviye nanochastits oksida tseriyu, stabilizirovannykh nizkomolekulyarnoy poliakriloyov kislotoy. *Mikrobiologichniy zhurnal*, 72 (3), 42-47, [http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol\\_2010\\_72\\_3\\_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2010_72_3_8).
- Schubert, D., Dargusch, R., Raitano, J. and Chan, S. W. (2006). Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective. *Biochemical and biophysical research communications*, 342(1), 86-91, DOI:10.1016/J.BBRC.2006.01.129
- Dahle, J. T., & Arai, Y. (2015). Environmental geochemistry of cerium: applications and toxicology of cerium oxide nanoparticles. *International journal of environmental research and public health*, 12(2), 1253-1278. DOI:10.3390/ijerph120201253.
- Zholobak, N. M. (2016). Voprosy o mekhanyzme antybakterial'noho y probyotycheskoho deystvyya kolloydnoho (nanorazmernoho) dyoksyda tseriyu. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny, 2(1), 9-15, <https://vpbm.com.ua/ua/vpbm-2016-01-2/7601>.
- Zholobak, N. M., Ivanov, V. K., Shcherbakov, A.B. (2016) Interaction of nanoceria with microorganisms. In *Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy*, 419-450. Elsevier. DOI:10.1016/B978-0-323-42864-4.00012-9.
- Shcherbakov, A. B., Zholobak, N. M., Ivanov, V. K., Tret'yakov, YU. D., & Spivak, N. YA. (2011). Nanomaterialy na osnove dioksidu tseriyu: svoystva i perspektivi ispol'zovaniya v biologii i meditsine. *Biotechnologia acta*, 4(1), 009-028. [http://biotechnology.kiev.ua/storage/2011/%231\\_2011/SherbakovNo%201.pdf](http://biotechnology.kiev.ua/storage/2011/%231_2011/SherbakovNo%201.pdf)
- Singh, A., Preiksaitis, J., Ferenczy, A., & Romanowski, B. (2005). The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology*, 16 (2), 92-98, DOI:10.1155/2005/318294.
- Lei, C., Yang, J., Hu, J., & Sun, X. (2021). On the calculation of TCID<sub>50</sub> for quantitation of virus infectivity. *Virologica Sinica*, 36(1), 141-144. DOI:10.1007/s12250-020-00230-5.
- Holland, J. J., & McLaren, L. C. (1959). Improved method for staining cell monolayers for virus plaque counts. *Journal of Bacteriology*, 78(4), 596-597. DOI:10.1128/jb.78.4.596-597.1959.
- Feoktistova, M., Geserick, P., & Leverkus, M. (2016). Crystal violet assay for determining the viability of cultured cells. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2016(4), <http://csprotocols.cshlp.org/content/2016/4/pdb.prot087379>.
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., & Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers*, 1(3), 332-349. DOI:10.1002/ffl2.44.
- Viter, V.N. (2016) Oscillating chemical reactions. Chemistry and chemists. 6. [http://chemistry-chemists.com/N6\\_2016/ChemistryAndChemists\\_6\\_2016-P8-1](http://chemistry-chemists.com/N6_2016/ChemistryAndChemists_6_2016-P8-1).
- Sherevera, Kh.P., Zholobak, N.M. (2019). Antiviral properties of cerium salts *in vitro*. IX International conference "Bioresources and viruses" September 9-11, 2019 Kyiv, Ukraine, 29-30. [https://biomed.knu.ua/images/stories/Upload/Shevchenkivska\\_vesna/2020/Shevchenkivska\\_vesna\\_2020\\_2.pdf](https://biomed.knu.ua/images/stories/Upload/Shevchenkivska_vesna/2020/Shevchenkivska_vesna_2020_2.pdf)
- Mossman, K. (2005). Analysis of Anti-Interferon Properties of the Herpes Simplex Virus Type I ICP0 Protein. In: Carr, D.J.J. (eds) Interferon Methods and Protocols. Methods in Molecular Medicine™, vol 116. Humana Press. DOI:10.1385/1-59259-939-7:195.
- Lin, R., Noyce, R. S., Collins, S. E., Everett, R. D., and Mossman, K. L. (2004) The herpes simplex virus ICP0 RING finger domain inhibits IRF3-and IRF7-mediated activation of interferon-stimulated genes. *J. Virol.* 78, 1675-1684. DOI:10.1128/jvi.78.4.1675-1684.2004.

Надійшла до редколегії 16.05.22  
Отримано виправлений варіант 17.06.22  
Підписано до друку 17.06.22

Received in the editorial 16.05.22  
Received version on 17.06.22  
Signed in the press on 17.06.22

С. Жолуденко, асп.,  
Н. Жолобак, канд. біол. наук  
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ, Україна

#### АНТИГЕРПЕТИЧНА ДІЯ СОЛЕЙ ЦЕРІЮ *IN VITRO*

Сполучки на основі церію є одними з високоперспективних об'єктів у біотехнології, що пов'язано з їхньою високою біологічною активністю: антивірусною, антибактеріальною, антифунгальною, нейро- та радіопротекторною дією, антиоксидантною активністю. На їх основі можна розробляти композиції, що здатні активувати системи клітинного та гуморального імунного захисту, і застосовувати для профілактики і терапії вірусних захворювань, що дає можливість їх використання для розроблення потенційних антигерпетичних засобів. Незважаючи на успіх використання в біотехнологічних сферах, механізм їхньої дії на біологічні об'єкти потребує детального дослідження. Мета роботи полягала в перевірці в умовах *in vitro* антигерпетичної активності солей  $\text{Ce}^{3+}$  and  $\text{Ce}^{4+}$  у діапазоні концентрацій 1 mM-0.01 nM за профілактичною і лікувальною схемами застосування. У досліджені були використані вірусологічні, цитологічні та статистичні методи. Результатами роботи: застосуванням солей за лікувальною схемою є неефективним. Внесення до клітин водного розчину солі  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  за профілактичною схемою супроводжувалось формуванням стану антивірусної резистентності в усьому діапазоні досліджуваних концентрацій, тоді як застосування солі  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – нелінійним, концентраційно-позв'язаним синусоїдоподібним формуванням у клітинах резистентності до цитопатичної дії HSV-1/2.

Висновки: у модельній системі MA-104 – HSV-1/2 солі  $\text{Ce}^{3+}$  та  $\text{Ce}^{4+}$  здатні викликати формування стану антивірусної резистентності за їхнього попереднього 24-годинного контакту із клітинами. Сіль  $\text{Ce}^{4+}$  забезпечує 50 % пригнічення цитопатичної дії HSV-1/2 у концентрації 1  $\mu\text{M}$ . Припускаємо, що показана антивірусна активність солей церію може бути зумовлена їхнім впливом на систему інтерферону та формуванням у клітинах стану антивірусної резистентності.

Ключові слова: вірус простого герпесу (HSV-1/2), солі  $\text{Ce}^{3+}$  та  $\text{Ce}^{4+}$ , антивірусна активність *in vitro*, профілактична та лікувальна схеми.

## СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕННЯ ДИСКОМІЦЕТІВ ГЕТЬМАНСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ

Досліджено видову різноманітність і поширення дискоміцетів Гетьманського національного природного парку (Гетьманський НПП). У результаті узагальнення власних даних і аналізу опублікованих літературних джерел для території парку наведено 63 види дискоміцетів, що належать до 36 родів, 19 родин, 4 порядків і 2 класів: *Leotiomycetes* – 25 видів із 17 родів, *Pezizomycetes* – 38 видів із 19 родів. Серед порядків найчисленнішими є *Pezizales* (37 видів) і *Helotiales* (13 видів). У родинному спектрі кількісно домінують *Ascobolaceae* – 11 видів, *Pezizaceae* – 6, *Helotiaceae* – 5, *Ascodesmidaceae*, *Mollisiaceae*, *Rygomataceae* та *Rhytismataceae* – по 4 види, представники яких об'єднують 62,3 % загальної кількості зареєстрованих на дослідженні території видів дискоміцетів. Наведено анатомований список відповідних видів грибів та асоційованих із ними рослин-живителів і живильних субстратів. На території Гетьманського НПП уперше в Україні був виявлений копрофільній представник *Iodophanus verrucisporus* (P.W. Graff) Kimbr., Luck-Allen & Cain. Серед зареєстрованих видів переважна більшість належать до субстратних груп копрофілів (26 видів), ксилофілів (14), едафофілів (10) і філофілів (6). Показано перспективність подальших мікологічних досліджень території Гетьманського НПП, під час яких особливу увагу доцільно зосередити на вивчені певних екологічних (бріофільних, мікофільних, пірофільних, гумусових) і таксономічних (*Pezizaceae* та *Rygomataceae*) груп дискоміцетів.

**Ключові слова:** Україна, Сумська область, заповідні території, біорізноманітність, гриби, видовий склад, *Ascomycota*.

**Вступ.** Збереження біорізноманіття як національного багатства України є одним із пріоритетів загальнодержавної екологічної політики, важливим напрямом у сфері природокористування, екологічної безпеки й охорони довкілля [1]. Першим етапом збереження біологічної різноманітності екосистем є детальне дослідження і критична інвентаризація видового складу всіх компонентів їхньої біоти. Забезпечити ефективне вивчення та надійне збереження біорізноманіття сьогодні можливо лише на територіях із установленим режимом природокористування, найбільш перспективними серед яких є заповідники та національні природні парки, визнані осередками різноманітності біоти.

Гетьманський національний природний парк (далі – Гетьманський НПП) знаходиться на території Охтирського району Сумської області, де охороняються типові й унікальні природні комплекси Лівобережного Лісостепу, що розташовані у середній течії долини р. Ворскла. Під час створення у 2009 р. до його складу ввійшли території дванадцяти вже раніше існуючих об'єктів природно-заповідного фонду (далі ПЗФ) Сумщини зі збереженням їхнього природоохоронного статусу [2]. Територія парку включає саму річку, правий корінний берег, а також ділянки заплави та надзаплавної тераси. Більше половини площи парку займають лісові фітоценози, переважно зосереджені на боровій терасі та вододільних пласти. Луки (сіножаті й пасовища), що займають майже 20 %, і болота, на які припадає 22 %, найбільше представлені у заплаві р. Ворскла [3].

Гетьманський НПП є частиною Смарагдової мережі України [4] і Поліського широтного та Дніпровського меридіонального екологічних коридорів Національної екологічної мережі [5]. Сьогодні він є основним моніторинговим полігоном для зоологічних і ботанічних досліджень на Сумщині, історія яких нараховує тут понад 140 років [3]. Щодо мікологічних досліджень, вивчення мікобіоти регіону розташування парку було розпочате значно пізніше – лише у 60-х рр. ХХ ст. [6]. За цей

період найбільша увага приділялась вивченню базідієвих макроміцетів різних систематичних груп [7], а також облігатнопаразитичних мікроміцетів, зокрема іржастих і борошнистосячих грибів [8]. Гриби з інших систематичних, морфологічних та екологічних груп досліджувались на цій території спорадично або зовсім лишилися поза увагою дослідників. Це стосується і такої великої та різноманітної морфологічної групи сумчастих грибів як дискоміцети.

Отже, метою пропонованої роботи є узагальнити дані щодо видової різноманітності дискоміцетів наземних екосистем Гетьманського НПП та оцінити перспективи і напрями подальших досліджень цієї групи грибів на території парку.

**Матеріали та методи.** Матеріалами для статті стали оригінальні мікологічні колекції, зібрані під час експедиційних виїздів 2012–2019 рр., а також результати критичного аналізу опублікованих раніше відомостей про види дискоміцетів, зібрані у регіоні розташування парку [7, 9, 10–13].

Збирання матеріалу відбулося в околицях таких населених пунктів Охтирського району Сумської області: сім'ї Велика Писарівка, села Климентове, Олександровка, Стрілецька Пушкарка, Хухра та Ямне. Були обстежені території чотирьох об'єктів ПЗФ, що ввійшли до складу Гетьманського НПП. Серед них гідрологічні заказники загальнодержавного значення – "Климентівський" і "Хуhrянський", місцевого – "Ямний", заповідного урочища "Литовський бір", природоохоронний статус якого було скасовано у 2015 р. [4], а також лісових урочищ "Доброплавська дача" і "Юсупове". Перелік і характеристика локалітетів, а також дати збирання зразків подані нижче. Назви біотопів подані згідно з Національним каталогом біотопів України [21]. Їхня характеристика та визначення типів базувалися на основі власних досліджень, а також опублікованих даних [3, 23].

Місця й дати збирання мікологічних зразків і характеристика основних обстежених біотопів:

- (1) смт Велика Писарівка, мезофітні луки пасовищного використання, 29.06.2015;
- (2) смт Велика Писарівка, антропогенний хвойний ліс, 27-28.06.2015;
- (3) с. Климентове, "Климентівський", вербові чагарникові зарості піщаних і суглінкових берегів, 29.09.2012;
- (4) с. Климентове, "Климентівський", рівнинний незаболочений ліс вільхи чорної, 29.09.2012, 05.11.2012;
- (5) с. Климентове, "Климентівський", мезофітні луки пасовищного використання, 09.08.2012, 29.09.2012, 05.11.2012;
- (6) с. Климентове, "Климентівський", заплавні вербові й тополеві ліси, 05.11.2012;
- (7) с. Климентове, синантропні біотопи, 09.08.2012;
- (8) с. Климентове, "Литовський бір", сирий олігомезотрофний березовий ліс, 16.07.1982, 26.07.1982, 15.07.2004, 02.11.2004 [7];
- (9) с. Климентове, "Литовський бір", сирий олігомезотрофний березовий ліс, 05.11.2012;
- (10) с. Климентове, "Литовський бір", ацидофільний сосново-дубовий ліс, 29.09.2012, 05.11.2012, 05.05.2016;
- (11) с. Климентове, "Литовський бір", еколого-пізnavальна стежка, рудеральні біотопи, 09.08.2012, 21.05.2015, 25.05.2019;
- (12) с. Климентове, "Литовський бір", ацидофільний свіжий ліс сосни звичайної, 09.08.2012, 29.09.2012, 05.11.2012, 05.05.2016;
- (13) с. Климентове, "Литовський бір", ацидофільний свіжий ліс сосни звичайної, 15.07.2004 [7];
- (14) с. Климентове, "Литовський бір", вологі та періодично вологі ліси з домінуванням дуба звичайного, 04.05.2004, 23.04.2011 [7];
- (15) с. Климентове, "Литовський бір", ацидофільні дубові й сосново-дубові ліси, 19.09.1981, 16.07.1982, 26.07.1982 [7];
- (16) с. Климентове, вересень-жовтень 2019 [13];
- (17) с. Олександрівка, мезофітні луки пасовищного та сінокісного використання, 28.06.2015;
- (18) с. Олександрівка, рудеральні біотопи, 21.05.2015, 28.06.2015;
- (19) м. Охтирка, "Доброславська дача", остеопнений сосновий ліс, 28.06.2013.08.2011 [7];
- (20) с. Стрілецька Пушкарка, вологі луки пасовищного і сінокісного використання, 28-29.06.2015;
- (21) с. Стрілецька Пушкарка, остеопнений сосновий ліс, 28.06.2015;
- (22) с. Хуhra, "Хуhrянський", вологі луки пасовищного і сінокісного використання, 20.09.2015;
- (23) с. Хуhra, "Хуhrянський", мезофітні луки пасовищного та сінокісного використання, 28.06.2015;
- (24) с. Хуhra, "Хуhrянський", трав'яне узлісся вільхового лісу, 20.09.2015;
- (25) с. Ямне, "Юсупове", трав'яне узлісся та галевини дубового лісу, 27.06.2015;
- (26) с. Ямне, "Юсупове", еколого-пізnavальна стежка, рудеральні біотопи, 27.06.2015;
- (27) по всій території парку, лісові біотопи [7].

Визначення мікологічних зразків проводили за загальноприйнятими методиками [14]. Мікроморфометричні ознаки досліджували методом світлової мікроскопії. Для одержання аском копрофільних дискоміцетів використано метод вологих камер [15, 16]. Зібрана мікологічна колекція зберігається у науковому гербарії кафедри біології та методики навчання біології Сумського державного педагогічного університету імені А. С. Макаренка.

Систематичне положення видів дискоміцетів, назви й автори таксонів рангом вищих за вид, подані згідно з роботами Wijayawardene et al. [17, 18]. Таксони найвищого рангу (субдомен, надцарство, царство та підцарство) наведені згідно із системою Adl et al [19]. Сучасні назви видів грибів, їхні більш відомі синоніми та прізвища авторів видів узгоджені з номенклатурною базою даних Index Fungorum [20]. В анатованому списку видів усі таксони наведені за алфавітним порядком, для кожного виду грибів представлено дані про рослини-живителі та по-живінні субстрати. Латинські назви та скорочення авторів видів судинних рослин подані за довідником "Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist" [21].

**Результати та їх обговорення.** Перші згадки про 11 видів дискоміцетів із території парку були наведені К. К. Карленко у двох виданнях монографії "Макроміцети заповідних територій Сумської області" [7, 9]. Це представники гумусових і ксилофільних сапротрофів, а також паразити на коренях рослин, які переважно були зібрані в лісовому урочищі Литовський бір.

У 2012 р. нами були розпочаті планомірні дослідження з вивчення сумчастих грибів Гетьманського НПП, під час яких окрема увага приділялась дискоміцетам. Попередні дані про 10 видів копрофільних дискомі-

цетів парку були частково висвітлені у нашій статті [10], після виходу якої дослідження були продовжені.

В авторефераті дисертаційної роботи І. І. Яцюк, присвяченій дискоміцетам Харківського Лісостепу, повідомляється, що дослідження охоплювали й територію Гетьманського НПП [11]. У 2017 р. було опубліковано узагальнювальний список видів дискоміцетів Харківського Лісостепу [12]. Однак у вищезгаданих двох публікаціях конкретні дані про те, скільки і які саме види дискоміцетів були зареєстровані дослідницею у Гетьманському НПП, на жаль, відсутні.

У вересні – жовтні 2019 р. студентами та викладачами Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна проводилися мікологічні дослідження на території Гетьманського НПП (в околицях с. Климентове). У результаті опрацювання зборів О. Ю. Акуловим разом із Д. І. Гарбузом було ідентифіковано 18 видів фітотрофних мікроміцетів, серед яких був 1 вид дискоміцетів – *Ciboria batschiana* (Zopf) N. F. Buchw. [13].

У цій статті ми вперше наводимо узагальнений список дискоміцетів Гетьманського НПП, складений на основі вивчення власних мікологічних зразків, а також опублікованих літературних джерел. У статті представлено узагальнений список видів дискоміцетів території Гетьманського НПП за всі роки його обстеження. Він включає 63 види, які наведені у систематичному порядку. Для кожного виду наведено субстратну приуроченість і місцевознаходження (номери локалітетів відповідають нумерації, наведеній у "Матеріалах і методах", та подані у круглих дужках). Біля видів, відомості про знаходження яких на території Гетьманського НПП були опубліковані раніше, наведені посилання на відповідні літературні джерела [7, 10, 13].

AMORPHEA Adl et al.  
OPISTHOKONTA Cavalier-Smith, emend. Adl et al.  
FUNGI R. T. MOORE  
DIKARYA Hibbett et al.  
Ascomycota Cavalier-Smith

**Pezizomycotina O.E. Erikss. & Winka**  
**Leotiomycetes O.E. Erikss. & Winka**  
Helotiales Nannf. ex Korf & Lizoň  
**Cenangiaceae Rehm**

***Cenangium* Fr.**

*Cenangium acuum* Cooke & Peck – на хвої *Pinus sylvestris* L. (13)  
**Gelatinodiscaceae S.E. Carp**  
***Ascocoryne* J.W. Groves & D.E. Wilson**  
*Ascocoryne sarcoides* (Jacq.) J.W. Groves & D.E. Wilson – на гнилій деревині (8) [7]  
**Helotiaceae Rehm**

***Hymenoscyphus* Gray**

*Hymenoscyphus caudatus* (P. Karst.) Dennis – на листовому опаді (3)  
*Hymenoscyphus herbarum* (Pers.) Dennis – на сухих стеблах *Urtica dioica* L. (4)  
*Hymenoscyphus fructigenus* (Bull.) Gray – на опалих жолудях *Quercus robur* L. (10)  
*Hymenoscyphus cutula* (Pers.) W. Phillips – на залишках трав'янистих рослин (4)  
*Hymenoscyphus phyllophilus* (Desm.) Kuntze – на жилках і черешках опалих листків *Alnus glutinosa* (L.) P. Gaertn. (4)  
**Hyaloscyphaceae Nannf.**

***Hyaloscypha* Boud.**

*Hyaloscypha hyalina* (Pers.) Boud. – на гнилому стовбури *Quercus robur* L. (10)  
**Lachnaceae (Nannf.) Raity.**

***Dasyscyphella* Tranzschel**

*Dasyscyphella nivea* (R. Hedw.) Raity. – на гнилій деревині (12)

***Lachnum* Retz.**

*Lachnum virgineum* (Batsch) P. Karst. – на опалому стовбури листяної породи під корою (12); на гнилій деревині (9)  
**Mollisiaceae Rehm**

***Mollisia* (Fr.) P. Karst.**

*Mollisia cinerea* (Batsch) P. Karst. – на опалій гілці *Pinus sylvestris* L. (12); на трухлявому стовбури листяної породи під корою (12)

*Mollisia ligni* (Desm.) P. Karst. – на трухлявому стовбури (12)

*Mollisia melaleuca* (Fr.) Brunaud – на гнилій деревині (12)

***Tapesia* (Pers.) Fuckel**

*Tapesia fusca* (Pers.) Fuckel – на гілці *Alnus glutinosa* (L.) P. Gaertn. (4); на гнилій деревині (9)  
**Pezizellaceae Velen.**

***Calycina* Neesex Gray**

*Calycina citrina* (Hedw.) Gray (= *Bisporella citrina* (Batsch) Korf & S.E. Carp.) – на гнилому стовбури (12)  
*Calycina cf. parilis* (P. Karst.) Kuntze – на гнилій деревині (12)

**Sclerotiniaceae Whetzel ex Whetzel**

***Ciboria* Fuckel**

*Ciboria batschiana* (Zopf) N. F. Buchw. – поживний субстрат не вказано (16) [13]

***Dumontinia* L.M. Kohn**

*Dumontinia tuberosa* (Bull.) L. M. Kohn. – на кореневищах *Anemone ranunculoides* L. (14) [7]

***Monilinia* Honey**

*Monilinia fructigena* (Aderh. & Ruhland) Honey у стадії анаморфи *Monilia fructigena* (Pers.) Pers. – на опалих плодах *Malus domestica* Borkh. (7)

Rhytidomatales M.E. Barr ex Minter

**Rhytidomataceae Chevall.**

***Coccomyces* De Not.**

*Coccomyces coronatus* (Schumach.) De Not. – на опалих листках *Quercus robur* L. (10, 12)

***Colpoma* Wallr.**

*Colpoma quercinum* (Pers.) Wallr. – на сухих гілках *Quercus robur* L. (10)

***Lophodermium* Chevall.**

*Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chevall. – на хвої *Pinus sylvestris* L. (10, 12)

***Rhytisma* Fr.**

*Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr. у стадії анаморфи *Melasmia acerina* Lév. – на листках *Acer platanoides* L. (10, 12, 23); на листках *Acer tataricum* L. (12)

Thelebolales P.F. Cannon

**Thelebolaceae (Brumm.) Eckblad**

***Thelebolus* Tode**

*Thelebolus crustaceus* (Fuckel) Kimbr. – на екскрементах кози (1); на екскрементах корови (23)

*Thelebolus stercoreus* Tode – на екскрементах козулі (11)

Pezizomycetes O.E. Erikss. & Winka  
**Ascobolaceae Boud. ex Sacc.**

**Ascobolus Pers.**

*Ascobolus aglaosporus* Heimerl – на екскрементах корови (19) [9]

*Ascobolus furfuraceus* Pers. – на екскрементах зайця (11, 19)

*Ascobolus immersus* Pers. – на екскрементах вівці (18); на екскрементах козулі (11); на екскрементах коня (20); на екскрементах корови (2, 5, 10, 16, 17, 20–22) [10]

*Ascobolus sacchariferus* Brumm. – на екскрементах козулі (11)

**Saccobolus Boud.**

*Saccobolus citrinus* Boud. & Torrend – на екскрементах корови (5, 16, 18–21) [10]

*Saccobolus depauperatus* (Berk. & Broome) E.C. Hansen – на екскрементах козулі (11)

*Saccobolus glaber* (Pers.) Lambotte – на екскрементах коня (20); на екскрементах корови (17, 18) [10]

*Saccobolus minimus* Velen. – на екскрементах вівці (18)

*Saccobolus saccoboloides* (Seaver) Brumm. – на екскрементах вівці (18, 22)

*Saccobolus truncatus* Velen. – на екскрементах корови (16, 19) [10]

*Saccobolus versicolor* (P. Karst.) P. Karst. – на екскрементах вівці (18)

**Ascodesmidaceae J. Schröt.**

**Lasiobolus Sacc.**

*Lasiobolus intermedius* J.L. Bezerra & Kimbr. – на екскрементах корови (5)

*Lasiobolus lasioboloides* Marchal – на екскрементах вівці (18); на екскрементах козулі (12); на екскрементах корови (5)

*Lasiobolus microsporus* J.L. Bezerra & Kimbr. – на екскрементах кози (1)

**Trichobolus (Sacc.) Kimbr. & Cain**

*Trichobolus sphaerosporus* Kimbr., in Kimbrough & Korf – на екскрементах козулі (11)

**Helvellaceae Fr.**

**Helvella L.**

*Helvella crispa* (Scop.) Fr. – на ґрунті (8) [7]

*Helvella elastica* Bull. – на ґрунті (8) [7]

*Helvella macropus* Bull. – на ґрунті (19) [7]

**Morchellaceae H.G.L. Reichenbach**

**Morchella Dill. ex Pers.**

*Morchella esculenta* (L.) Pers. (= *Morchella conica* Pers.) – на ґрунті (25) [7]

**Verpa Sw.**

*Verpa bohemica* (Krombh.) J. Schröt. – на ґрунті (25) [7]

**Pezizaceae Dumort.**

**Iodophanus Korf**

*Iodophanus carneus* (Pers.) Korf – на екскрементах вівці (22); на екскрементах кози (1); на екскрементах козулі (12); на екскрементах коня (20); на екскрементах корови (5, 7, 11, 16, 17, 19–21, 24) [10]

*Iodophanus difformis* (P. Karst.) Kimbr., Luck-Allen & Cain – на екскрементах вівці (18); на екскрементах козулі (12); на екскрементах корови (10, 19) [10]

*Iodophanus verrucisporus* (P.W. Graff) Kimbr., Luck-Allen & Cain – на екскрементах корови (19) [10]

**Legaliana Van Vooren**

*Legaliana badia* (Pers.) Van Vooren (= *Peziza badia* Pers.) – на ґрунті (8) [7]

**Peziza Dill. ex Fr.**

*Peziza fimeti* (Fuckel) E.C. Hansen – на екскрементах коня (2)

**Plicaria Fuckel**

*Plicaria trachycarpa* (Curr.) Boud. – на старому кострищі (6).

**Pyronemataceae Corda**

**Aleuria Fuckel**

*Aleuria aurantia* (Pers.) Fuckel – на ґрунті (15) [7]

**Anthracobia Boud.**

*Anthracobia melaloma* (Alb. & Schwein.) Arnould – на старому кострищі (6)

**Humaria Fuckel**

*Humaria hemisphaerica* (F.H. Wigg.) Fuckel – на ґрунті (12)

**Scutellinia (Cooke) Lambotte**

*Scutellinia crinita* (Bulliard) Lambotte – на трухлявій деревині (11)

**Rhizinaceae Bonord.**

**Rhizina Fr.**

*Rhizina undulata* Fr. (= *Rhizina inflata* Schaeff.) – на ґрунті (13) [7]

**Sarcoscyphaceae LeGal ex Eckblad**

**Sarcoscypha (Fr.) Boud.**

*Sarcoscypha coccinea* (Gray) Boud. – на опалих гілках листяних дерев (25) [7]

**Sarcosomataceae Kobayasi**

**Urnula Fr.**

*Urnula craterium* (Schwein.) Fr. – на гнилій, зануреній у ґрунт деревині (12)

Pezizales genera incertae sedis  
**Coprotus Korfex Korf & Kimbr.**

*Coprotus disculus* Kimbr. – на екскрементах вівці (18); на екскрементах корови (23)

*Coprotus lacteus* (Cooke & W. Phillips) Kimbr., Luck-Allen & Cain – на екскрементах корови (20) [10]

*Coprotus luteus* Kimbr. – на екскрементах коня (2)

*Coprotus niveus* (Fuckel) Kimbr., Luck-Allen & Cain – на екскрементах коня (20)

*Coprotus sexdecimsporus* (P. Crouan & H. Crouan) Kimbr. & Korf – на екскрементах вівці (20); на екскрементах зайця (12); на екскрементах козулі (11); на екскрементах корови (2, 17, 19) [10]

Згідно із проведеними власними дослідженнями та аналізом опублікованих літературних джерел для території Гетьманського НПП наразі відомо 63 види дискоміцетів із 36 родів, 19 родин, 4 порядків. Ці види належать до двох класів дискоміцетів: *Leotiomycetes* (25 видів із 17 родів) та *Pezizomycetes* (38 видів із 19 родів). Розподіл видів дискоміцетів Гетьманського НПП за таксонами високих рангів (включаючи родини) подано у табл. 1.

Види *Pezizomycetes* домінують у таксономічному спектрі дискоміцетів Гетьманського НПП та представлені тут єдиним порядком *Pezizales*. Серед родин за кількістю видів та їхніх знахідок найчисленнішою є *Ascobolaceae*, яка включає 11 видів. Це представники двох із трьох найбільших родів родини [18]: *Ascobolus* (4 види) і *Saccobolus* (7). Слід зазначити, що із представників *Thecophtheus*, поширеного в Україні роду аскоболових [24], у парку наразі не було зареєстровано жодного виду. Ще дві найбільші родини оперкулятних дискоміцетів – *Pezizaceae* та *Pyronemataceae* – репрезентовані 6 та 4 видами, відповідно. Найбільші за кількістю видів та розповсюджені у світі роди із цих двох родин – *Peziza* та *Scutellinia* [25] – представлені у парку лише поодинокими

знахідками. Родина *Ascodesmidaceae* нараховує чотири види із двох родів – *Lasiobolus* і *Trichobolus*. З таких родин, як *Helvellaceae* та *Morchellaceae*, які представлені значною кількістю видів у світовій мікобіоті [25], виявлено лише три та два види, відповідно. Інші родини реалізовані у парку одиничними видами.

Клас *Leotiomycetes* представлений на території Гетьманського НПП трьома порядками: *Helotiales* – 19 видів, *Rhytismatales* – 4 і *Thelebolales* – 2. Серед родин леотіоміцетів кількісно переважають *Helotiaceae*, *Mollisiaceae* та *Rhytismataceae*. Родина *Helotiaceae*, яка у світовому масштабі включає понад 500 видів із 33 родів [18], у Гетьманському НПП наразі нараховує 5 видів лише одного найбільшого роду родини – *Hymenoscyphus*. З родини *Mollisiaceae* у парку виявлено чотири види із двох численних родів: *Mollisia* і *Tapesia*. З родини *Rhytismataceae* зареєстровано чотири види із чотирьох родів. Лише поодинокими знахідками реалізовані на території національного парку такі великі родини леотіоміцетів, як *Hyaloscyphaceae*, *Lachnaceae* та *Pezizellaceae*. Наразі на території парку вони реалізовані одним–двома видами.

**Таблиця 1. Таксономічна структура видового складу та розподіл видів дискоміцетів Гетьманського НПП**

Таксон	Кількість	
	родів	видів
<b>LEOTIOMYCETES</b>		
<i>Helotiales</i>		
<i>Cenangiaceae</i>	1	1
<i>Gelatinodiscaceae</i>	1	1
<i>Helotiaceae</i>	1	5
<i>Hyaloscyphaceae</i>	1	1
<i>Lachnaceae</i>	2	2
<i>Mollisiaceae</i>	2	4
<i>Pezizellaceae</i>	1	2
<i>Sclerotiniaceae</i>	3	3
<i>Rhytismatales</i>		
<i>Rhytismataceae</i>	4	4
<i>Thelebolales</i>		
<i>Thelebolaceae</i>	1	2
<b>PEZIZOMYCETES</b>		
<i>Pezizales</i>		
<i>Ascobolaceae</i>	2	11
<i>Ascodesmidaceae</i>	2	4
<i>Helvellaceae</i>	1	3
<i>Morchellaceae</i>	2	2
<i>Pezizaceae</i>	4	6
<i>Pyronemataceae</i>	4	4
<i>Rhizinaceae</i>	1	1
<i>Sarcoscyphaceae</i>	1	1
<i>Sarcosomataceae</i>	1	1
<i>Incertae sedis</i>	1	5

Еколо-трофічна структура встановленого видового складу грибів є досить різноманітною. На території Гетьманського НПП виявлено види дискоміцетів із різною топічною приуроченістю та трофічною спеціалізацією (сапротрофною, гемібіотрофною, біотрофною). Слід зазначити, що традиційний поділ грибів на трофічні групи, який

ґрунтуються на способі їхнього живлення, має низку складнощів і недоліків. Застосування трофічного підходу до класифікації грибів часто передбачає розв'язання низки проблемних питань, серед яких: реалізація різних стратегій живлення для різних стадій у плеоморфних видів грибів; зміна способу живлення на різних етапах

життевого циклу; відкриття у деяких видів грибів нових, раніше не відомих для них трофічних ознак. З огляду на це у нашій роботі ми вирішили обмежитися лише топічним підходом і проаналізувати розподіл видів дискоміцетів виключно за їхньою субстратною приуроченістю.

Отже, на території Гетьманського НПП наразі виявлено представників семи субстратних груп: ксилофіли, філофіли, гербофіли, карпофіли, едафофіли, пірофіли та копрофіли (табл. 2).

Найчисленнішою субстратною групою є копрофільні дискоміцети, які налічують у парку 26 видів. Це передусім обумовлено цілеспрямованим вивченням цієї групи грибів, яке проводилось у Гетьманському НПП протягом кількох років [10]. Виявлені види є переважно космополітними копрофільними дискоміцетами із широкою субстратною приуроченістю. Малопоширені та рідкісні види практично не зафіксовані. Виключення становить *Iodophanus verrucisporus*, який уперше був зареєстрований саме на території Гетьманського НПП [10] і поки що не відомий з інших регіонів України. Слід також зазначити, що головним осередком поширення копрофільних дискоміцетів у парку є послід свійських випасних копитних тварин. Їхні копроми у значній кількості трапляються у лісових і лучних біотопах парку, які активно використовуються місцевим населенням для випасання та переганяння худоби. У лісових фітоценозах,

крім того, поширенню копрофілів сприяють дики трав'ядні тварини (козулі та зайці).

Із ксилофілів у регіоні досліджені зареєстровані 14 видів дискоміцетів. Зважаючи на лісистий характер рослинного покриву парку зі значною кількістю придатного для розвитку дискоміцетів деревного субстрату, цей показник є дуже невисоким і свідчить про недостатню вивченість зазначеної групи дискоміцетів.

Лише 10 видів включає група едафофілів, куди належать представники, плодові тіла яких були виявлені на ґрунті. За трофічними ознаками ця група не є однорідною та включає як представників із сапротрофною стратегією живлення (*Helvella crispa*, *H. elastica*, *H. macropus*, *Legaliana (Peziza) badia*, *Aleuria aurantica*, *Humaria hemisphaerica*), так і види із біотрофним способом живлення – паразитичним (*Dumontinia tuberosa*, *Rhizina undulata*) або, імовірно, мікоризним (*Morchella esculenta*, *Verpa bohemica*).

Серед філофільних дискоміцетів найчисленнішими є сапротрофні види (*Hymenoscyphus caudatus*, *H. phyllophilus*, *Cenangium acuum*, *Coccomyces coronatus*) і два представники з гемібіотрофною стратегією живлення (*Lophodermium pinastri*, *Rhytisma acerinum*). З інших субстратних груп дискоміцетів виявлено лише по два–три види.

Таблиця 2. Розподіл видів дискоміцетів Гетьманського НПП за субстратними групами

Родина	Ксилофіли	Філофіли	Гербофіли	Карпофіли	Едафофіли	Пірофіли	Копрофіли
Ascobolaceae							11
Ascodesmidaceae							4
<b>Cenangiaceae</b>		1					
Gelatinodiscaceae	1						
Helotiaceae			2				
Helvellaceae				1			
Hyaloscyphaceae	1				3		
Lachnaceae	2						
Mollisiaceae	4						
<b>Morchellaceae</b>					2		
Pezizaceae					1	1	
Pezizellaceae	2					1	4
Pyronemataceae	1				2		
Rhizinaceae					1		
Rhytismataceae	1		3				
Sarcoscyphaceae	1						
Sarcosomataceae	1						
Sclerotiniaceae					1	1	
Thelebolaceae							2
Genera incertae sedis							5

**Висновки.** Отримані результати вказують на те, що на сьогодні біота дискоміцетів Гетьманського НПП досліджені неповно та нерівномірно. Наведений у статті список видів репрезентує лише частину їхнього можливого видового різноманіття. Недостатньо вивченіми тут залишаються такі великі родини дискоміцетів, як *Helvellaceae*, *Hyaloscyphaceae*, *Morchellaceae*, *Pezizaceae*, *Pezizellaceae* та *Pyronemataceae*. Недостатньо вивчені також роди *Ascobolus*, *Helvella*, *Hymenoscyphus*, *Lachnum*, *Mollisia*, *Morchella*, *Peziza*, *Scutellinia*, *Tapesia*. Бракує відомостей щодо групи іноперкулятних дискоміцетів. На території парку на сьогодні не було зареєстровано жодного представника таких поширеніших в Україні родів, як *Chlorociboria*, *Ombrophila*, *Orbilia*, *Pezizella*, *Rutstroemia*.

Серед екологічних груп найкраще дослідженими у парку наразі є копрофільні дискоміцети. Недостатньо вивченіми залишаються наґрунтові та пірофільні дискоміцети, відсутні дані про брюофільні та мікофільні види.

Повністю відсутні дані про групу гіпогейних грибів, зокрема про види родини *Tuberaceae* (*Pezizales*), або трюфелі, із властивими їм вторинно замкненими підземними аскомаами з різким специфічним запахом. Гіпогейні гриби вважаються рідкісними, знахідки їхніх плодових тіл переважно є випадковими, проте як ектомікоризні асоціанті деревних порід і чагарників вони є важливим фактором функціонування екосистем та основним об'єктом у програмах лісовідновлення [26]. У майбутньому також особливу увагу слід зосередити на вивченні фіtotрофних представників дискоміцетів із різних субстратних груп.

Отже, дослідження мікобіоти території Гетьманського НПП залишається актуальним. Завдяки різноманіттю біотопів і ступеню їхньої збереженості національний парк є перспективною модельною територією для проведення подальших спеціалізованих мікологічних досліджень.

## References

1. Pro skhvalennia Kontseptsi Zahalnoderzhavnoi prohramy zberezhenia bioriznomannitia na 2005–2025 rr.: Rozporiadzhennia Kabinetu Ministriv Ukrayini vid 22.09.2004 r. №675-r. – Rezhym dostupu: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/675-2004>.
2. Hetmanskyi National Nature Park.– 2021. – URL: <http://www.getmanski.info/index.php/ukr>
3. Panchenko S. M., Karpenko K. K., Vakal A. P. NPP Hetmanskyi // Fitoriznomannitia zapovidnykh i natsionalnykh pryrodnykh parkiv Ukrayini. Ch. 2. Natsionalni pryrodni parky / Kolektiv avtoriv pid red. V. A. Onyshchenka i T. L. Andriienko. – K.: Fitotsotsiotsentr, 2012. – S. 124–138.
4. Pryrodno-zapovidnyi fond Sumskoi oblasti: Atlas-dovidnyk. / R.V. Boichenko, V.V. Vertel, O.Yu. Karliukova et al. 2<sup>nd</sup>ed. Kyiv: Ukrainian Cartographic Group, 2019. 96 pp.
5. Pro Zahalnoderzhavnu prohramu formuvannia natsionalnoi ekolo-hichnoi merezhi Ukrayini na 2000–2015 roky : Zakon Ukrayini // Uriadovyi kurier. – 2000. – № 37; Orientyr. – 2000. – № 207. – S. 3–16.
6. Lytvynenko Yu. I., Karpenko K. K. Istoryia mikolohichnykh doslidzhen na terytorii Hetmanskoho natsionalnoho pryrodnoho parku // Aktualni problemy doslidzhenia dovklilia. Zbirnyk naukovykh prats. Mat. VIII Mizhnar. nauk. konf., prysviachenoi 10-ricchchiu stvorennya Hetmanskoho natsionalnoho pryrodnoho parku (24–26 travnya 2019 r., m. Sumy) / Red. kol.: Sheiko V. I., Kasianenko H. Ya., Lytvynenko Yu. I. ta in.; Sumskyi derzhavnyi pedahohichnyi universytet imeni A. S. Makarenka. – Sumy : SumDPU imeni A.S. Makarenka, 2019. – S. 26–31.
7. Karpenko K. K. Macromycetes of protected areas of Sumy region. Sumy: PP Vinnychenko M. D., 2009. 356 p.
8. Lytvynenko Yu. I., Akulov O.Yu. Oblihatno parazytni fitotrofoni mikromitsy Hetmanskoho natsionalnoho pryrodnoho parku // Heohrafia Sumskoi oblasti: osobylyvosti pryrody, sotsialno-ekonomichnoho rozvitu ka ratsionalnoho pryrodokorystuvannia : kolektyna monohrafia / Za zah. red. A. O. Kornusa. – Sumy: Sum DPU imeni A.S. Makarenka, 2021. – S. 85–95. – Rezhym dostupu: <http://repository.sspu.edu.ua/handle/123456789/11531>
9. Karpenko K. K. Macromycetes of protected areas of Sumy region: monograph (2rd ed.). Sumy: PP Vinnychenko M. D., 2011. 200 p.
10. Lytvynenko Yu. I., Stepanovska S. V. Succession changes of species richness in coprophilous ascomycetes. – Prirodnichnauky. – 2017. – 14: 32–40.
11. Iatsiuk I. I. Dyskomitsy Kharkivskoho Lisostepu. Avtoref. dys. ... kand. biol. n. (doktora filosofii) za spetsialnistiu 03.00.21 "Mikolohii" / Kharkivskyi natsionalnyi universytet imeni V. N. Karazina; Instytut botaniky imeni M. H. Kholodnoho NAN Ukrayini, Kyiv, 2018. – 22 s.
12. Yatsiuk I. I. Discomycetes of Kharkiv Forest-Steppe (Ukraine): the annotated checklist // Chornomorski Botanical Journal. – 2017. – 13(3): 333–344. – doi: 10.14255/2308-9628/17.133/8
13. Harbusz D. Novi znakhidky fitotrofnykh hrybiv z Natsionalnoho pryrodnoho parku "Hetzanskyi" // Molod i postup biolohii: Mat. XVI Mizhnar. nauk. konf. studentiv i aspirantiv (27–29 kvitnia 2020 r., m. Lviv). – Lviv: LNU im. Ivana Franka. S. 52–53. – Rezhym dostupu: [http://dspace.univer.kharkov.ua/bitstream/123456789/15760/2/Harbusz\\_Hetmanskyi.pdf](http://dspace.univer.kharkov.ua/bitstream/123456789/15760/2/Harbusz_Hetmanskyi.pdf)
14. Bilay V. I. Methods of experimental mycology. Kiev: Naukova Dumka, 1982. 550 pp.
15. Keyworth W. S. A Petridish moist chamber // Transactions of the British Mycological Society. – 1951. – Vol. 34. – P. 291–292.
16. Richardson M. J. Diversity and occurrence of coprophilous fungi // Mycological Research. – 2001. – Vol. 105, №4. – P. 387–402. – doi: 10.1017/S0953756201003884
17. Wijayawardene N. N., Hyde K. D., Lumbsch H. T., Liu J. K. [et al.] Outline of Ascomycota: 2017 // Fungal Diversity. – 2018. – Vol. 88(2). – P. 167–263. – doi: 10.1007/s13225-018-0394-8
18. Wijayawardene N. N., Hyde K. D., Al-Ani L. K. T., Tedersoo L. [et al.] Outline of Fungi and fungi-like taxa // Mycosphere. – 2020. – Vol. 11(1). P. 1060–1456. – doi: 10.5943/mycosphere/11/1/8
19. Adl S. M., Bass D., Lane C. E., Lukeš J. [et al.] Revisions to the classification nomenclature and diversity of Eukaryotes // Journal of Eukaryotic Microbiology. – 2019. – Vol. 66, №1. P. 4–119. – doi: 10.1111/jeu.12691
20. Index Fungorum. CABI Bioscience data bases. – 2021. – Режим доступу: <http://www.indexfungorum.org>
21. Mosyakin S.L., Fedorochuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclature checklist. – Kyiv: National Academy of Sciences of Ukraine, M.G. Kholodny Institute of Botany, 1999. – 346 p.
22. National habitat catalogue of Ukraine / Eds. A. A. Kuzemko, Ya. P. Didukh, V. A. Onyshchenko, Ya. Sheffer. Kyiv: FOP Klymenko Yu. Ya., 2018. – 442 p.
23. Panchenko S. Vegetation of Lytovsky Bir forest in the Hetmansky National Park // Visnyk of the Lviv University. Series Biology. 2016. Issue 74. P. 29–39 – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/VLNU\\_biol\\_2016\\_74\\_6](http://nbuv.gov.ua/UJRN/VLNU_biol_2016_74_6)
24. Shcherbakova Yu. V., Dzhagan V. V., Zykova M. O., Boromenskiy D. O., Kolomoyets O. S. First records of *Thecotheus rivicola* (Ascobolaceae) in Ukraine. Ukrainian Botanical Journal. – 2017. – 74(3): 288–292. doi: 10.15407/ukrbotj74.03.288
25. Jaklitsch W., Baral H. O., Lücking R., Lumbsch H. T. Syllabus of Plant Families. A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. Vol. 1, part 2: Ascomycota / Ed. W. Frey. – Borntraeger: Stuttgart, 2016. – 324 p.
26. Trappe J.M. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries// Annual Review of Phytopathology. – 1977. – Vol. 15. – P. 203–222. – doi: 10.1146/annurev.py.15.090177.001223

Надійшла до редколегії 16.05.22  
Отримано відправлений варіант 17.06.22  
Підписано до друку 17.06.22

Received in the editorial 16.05.22  
Received version on 17.06.22  
Signed in the press on 17.06.22

Yu. Lytvynenko, PhD,  
A. S. Makarenko Sumy State Pedagogical University, Sumy, Ukraine,  
V. Dzhagan, PhD  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,  
A. Vakal, PhD  
A. S. Makarenko Sumy State Pedagogical University, Sumy, Ukraine

## CURRENT STATUS AND PROSPECTS OF RESEARCH ON DISCOMYCETES OF THE HETMANSKYI NATIONAL NATURE PARK

*The species diversity and distribution of discomycetes of the Hetmanskyi National Nature Park (Hetzanskyi NNP) (Okhtyrskyi district, Sumy region) have been studied. As a result of generalization of own data and analysis of published literature sources 63 species of discomycetes belonging to 36 genera, 19 families, 4 orders and two classes are given: Leotiomycetes – 25 species from 17 genera, Pezizomycetes – 38 species from 19 genera. Among the most numerous orders are Pezizales – 37 species and Helotiales – 13. The family spectrum is dominated by Ascobolaceae – 11 species, Pezizaceae – 6 species, Helotiaceae – 5 species, Ascodesmidaceae, Mollisiaceae, Pyronemataceae and Rhytismataceae. These dominating species make 62.3 % of the total number of discomycetes registered in the study area. The article provides an annotated list of relevant species of fungi and associated host plants and nutrient substrates. On the territory of the Hetmanskyi NNP the coprophilous discomycete *Iodophanus verrucisporus* (P.W. Graff) Kimbr., Luck-Allen & Cain was discovered for the first time in Ukraine. Among the registered species, the vast majority belong to the substrate groups of dung-inhabiting ascomycetes (26 species), xylophiles (14), edaphophiles (10) and phyllophiles (6). The prospects of further mycological research on the territory of the Hetmanskyi NNP are shown, during which special attention should be paid to the study of certain ecological (bryophilic, pyrophilic, mycophilic, humic) and taxonomic (Helvellaceae, Hyaloscypheaceae, Morchellaceae, Orbiliaceae, Pezizaceae, Pyronemataceae, Tuberaceae) groups of discomycetes.*

**Keywords:** Ukraine, Sumy region, protected areas, biodiversity, fungi, species composition, Ascomycota.

**PATTERNS OF THE INFLUENCE OF VACCINATION ON THE DYNAMICS  
OF DIFFERENT SARS-COV-2 VARIANTS SPREAD. TWO-YEAR ANALYSIS**

*The new coronavirus, now known as SARS-CoV-2, has attracted the attention of thousands of scientists around the world. This attention is primarily due to the significant impact of this pathogen on the economic and social aspects of the existence of a large number of people. Rapid and powerful anti-epidemic measures in most countries have led to a slowdown in the pandemic. And with the creation of a number of effective vaccines against SARS-CoV-2, we have learned to counteract its spread in the field of resistance of each individual. Which obviously created an additional selection factor. And according to the classical concept of the host-parasite system, human impact on SARS-CoV-2 theoretically requires appropriate adaptive changes of the latter.*

*In this work, by analyzing the statistical data available in open sources, we try to identify and study the existing patterns of the impact of vaccination on the dynamics of the spread of different SARS-CoV-2 variants for the period from the beginning of the pandemic to November 2021.*

**Keywords:** SARS-CoV-2, variant Delta, coronavirus, vaccination.

**Introduction.** SARS-CoV-2 is a new coronavirus believed to have originated in late 2019 in Wuhan (People's Republic of China). The virus spread rapidly around the world and on March 11, 2020, the World Health Organization (WHO) officially declared a pandemic [1]. As of November 29, 2021, the number of reported cases of COVID19 exceeds 261 million (of which 5.2 million died) worldwide [2]. Ukraine ranks 6th in the world in terms of the number of registered cases of this disease (3,595,410 cases and 90,673 deaths). Just for comparison, the SARS-CoV virus in 2002–2003 infected about 8,500 people in 27 countries and caused 866 deaths [3].

Due to the rapid and steady spread of this pathogen, there is a need for effective means to combat it. Accordingly, effective vaccines were developed fairly quickly [4]. The mechanism of action of which is to modulate the immune response of each vaccinated person, which gradually leads to an increase in resistance to SARS-CoV-2 in the entire population, although, in most cases, immunity is short-lived. However, along with the obvious advantages of this approach (especially over inactivity), such as the gradual reduction of morbidity and mortality, vaccination is an additional potent positive selection factor for this virus that can potentially further stimulate SARS-CoV-2 to evolve toward counteracting the immune response [5, 6]. At the same time, we observe different rates of increase in the level of vaccination of the population for different countries. There may be populations with a low level of group immunity along with highly resistant populations. And given the degree of development of the modern transport system, even distant populations are, to some extent, close [7]. Thus, SARS-CoV-2 faces a very heterogeneous host population. In such conditions, the formation of new strains of the already known virus is a logical and probable phenomenon [8]. However, the further direction of the development of such variants remains unpredictable, due to the huge number of factors that may affect this process.

Moreover, analysis of available statistics has the potential to improve our understanding of the prevailing evolutionary developments to which SARS-CoV-2 is exposed as it expands in the human population.

As of November 2021, the Delta is the most common variant of SARS-CoV-2, which in most cases completely

supplanted other variants of this virus, which was not typical for other strains [9]. This behavior of the Delta strain indicates a qualitatively new step in the process of adaptation of this virus to the human population.

Thus, in this study, the regularities of the influence of vaccination on the dynamics of the spread of different SARS-CoV-2 variants are studied by means of a comparative analysis of information on changes in the epidemic situation and the peculiarities of the dynamics of detection of the Delta variant along with other strains from the beginning of the pandemic to November 2021.

**Approach.** The following resources were used as the main source of statistically significant information: CoVariants, The Johns Hopkins Coronavirus Resource Center and Our World in Data [10, 2, 11]. Each selected country was analyzed according to four parameters: the dynamics of the spread of different variants of SARS-CoV-2 and their interaction, the dynamics of the epidemic situation in the country, the speed and features of vaccination of the population and anti-disease measures, which were followed by changes in population mobility. Google COVID-19 Community Mobility Reports was used to evaluate the latter [12].

**Results and discussion.** Three countries were selected as the object of the study: India, Germany and Ukraine. Each of them was chosen based on their socio-economic characteristics. Germany is a representative of economically developed countries. Its economy is the most powerful among the countries of the European Union [13]. Ukraine and India are developing countries. However, they differ greatly in demographic, cultural and social parameters. In addition, India was one of the first countries where the Delta strain was discovered [14].

Analysis of the dynamics of the spread of SARS-CoV-2 strains in India, showed that the Delta variant was registered for the first time in India in August 2020. However, its appearance in that period did not lead to the displacement of other strains. On the contrary, he was ousted. Further, in October-November there was a slight increase in the share of sequences of this variant (Fig. 1).

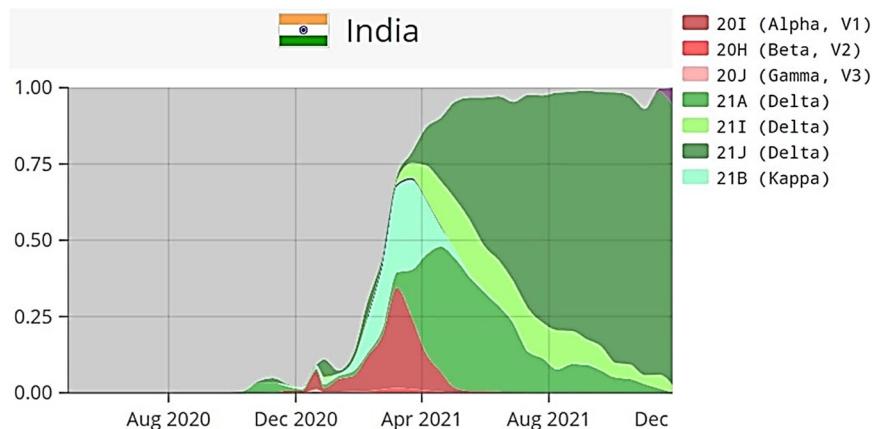


Fig. 1. Changes in the proportion of sequences of different variants of SARS-CoV-2 in India [10]

This rise lasted for a relatively short period of time and was quickly replaced by another rise in December 2020 – January 2021. Here, along with the Delta variant, the Alpha variant began to spread. You can see how both of these variants coexist in one period of time. A similar situation is observed in the next rise, which lasted from the end of the

previous one to May 2021. The only difference is in the scale – dominant strains almost completely supplanted the other variants, as well as the Kappa variant, which for some time was more represented in the SARS-CoV-2 population than the Delta variant. However, as early as mid-March, the latter began to displace other strains – first Alpha, and then Kappa.

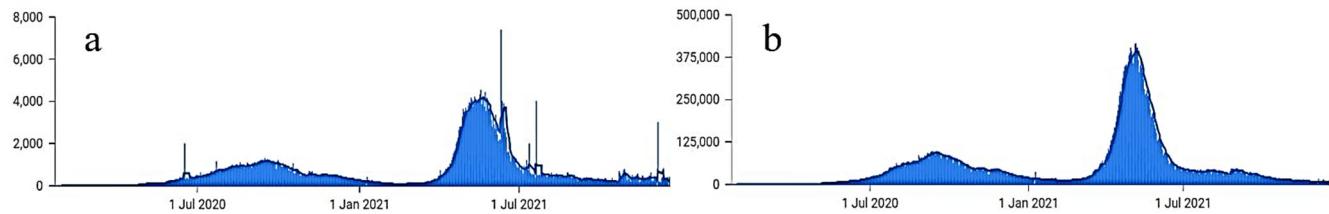


Fig. 2. Dependence of mortality (a) and morbidity (b) on time in India [2]

As can be seen from Fig. 2 at the time of the research, India has experienced two waves of aggravation of the epidemic situation. The first lasted from June to January 2020 and was caused by the original variant of SARS-CoV-2. The second wave was characterized by a much higher level of morbidity and mortality and lasted from late March to June 2021. It was during this period that the Delta strain began to displace other variants. Its spread has led to such an exacerbation of the epidemic situation in this country.

Vaccination in India began in early March (Fig. 3) (the first dose was received by >1 % of the population) and from the beginning was characterized by a significant gap in the number of people who received two doses of vaccine and those who received one. At the time of the study, the gap between the two numbers is a quarter of the country's population. Actually, the dynamics of vaccination is characterized by a fairly low rate of increase in population resistance.

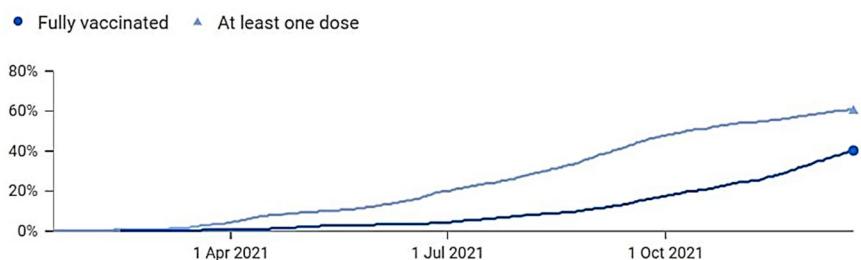


Fig. 3. Increasing the share of vaccinated population over time in India [11]

Almost from the beginning of the pandemic, India introduced powerful anti-COVID measures (Fig. 4), which during the first wave led to almost complete immobilization of the population at the time of active spread of the pathogen.

In the future, these measures were apparently weakened and starting from October 2021 population movements have reached baseline.

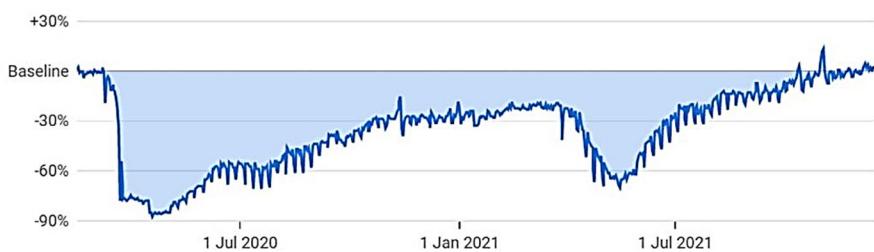


Fig. 4. Changes in population mobility over time in India [12]

Thus, two waves of exacerbation of the epidemic situation in India were caused by different variants of SARS-CoV-2. In addition, they differed in the degree of danger – the first was characterized by a relatively slow increase in morbidity and mortality and the same slow decline, the second progressed rapidly and was several times more powerful, although also shorter. The behavior of the first wave can be explained by a sharp decrease in the effectiveness of the spread of the pathogen in the host population. This was caused by powerful anti-COVID measures introduced before the mass distribution of SARS-CoV-2 among the population [15]. In some respects a different situation is observed in the case of the second wave. In the months leading up to its inception, anti-epidemic measures were significantly weakened, leading to the rapid spread of Alpha, Kappa and Delta variants among the population, which, however, did not cause an increase in morbidity [15]. Only from March 2021 a sharp rise in morbidity can be seen. It was during this period that the Delta strain began to actively displace other variants. However, another interesting fact is that a few weeks before the aggravation of the situation, the population of India started vaccination. After the start of the second wave, tougher anti-COVID measures were returned to the country, as well as accelerated vaccination of the

population. That together with the gradual increase in population resistance due to the rapid natural transmission of the infection resulted in a rapid attenuation of the outbreak [16].

Therefore, taking into account the peculiarities of the spread of the Delta variant, the epidemic situation and vaccination, it is possible to observe a certain coincidence between the dominance of the mentioned variant and the beginning of vaccination. A scenario in which variants more vulnerable to a vaccine-induced immune response pave the way to a less vulnerable one seems likely [17].

Analysis of the dynamics of the spread of strains in Germany (Fig. 5), showed that the Delta variant in this country was sequenced in late April 2020 for the first time. Like in India, this strain did not displace all other variants immediately after invasion. And, to some extent, it was replaced by other, obviously more successful in specific conditions, variants [17]. Moreover, in this case, the Delta strain was almost not observed in the host population for a long period of time. Between October 2020 and May 2021, strains Alpha, EU1 and EU2, as well as variants 98F and 439K dominated. Then, starting from June 2021 the Delta variant very quickly, literally at one point, supplanted the Alpha strain main at the time and became dominant.

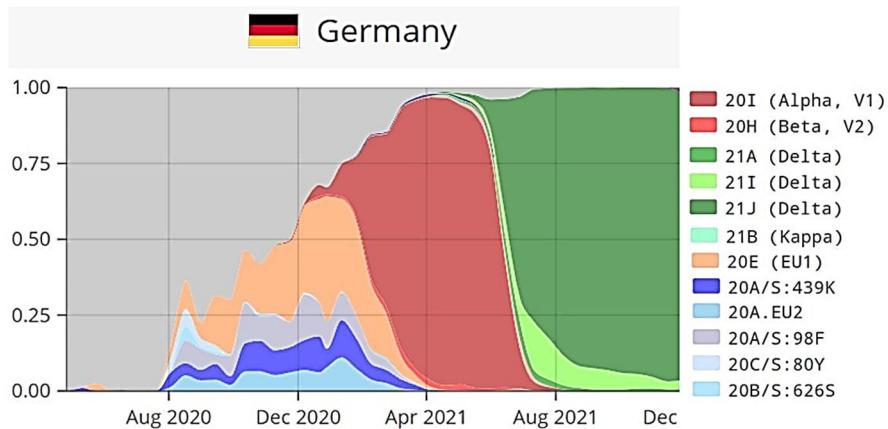


Fig. 5. Changes in the proportion of sequences of different variants of SARS-CoV-2 in Germany [10]

As can be seen in Fig. 6 the first wave of morbidity in Germany was short-lived and mild, with mortality disproportionately high during this period. This wave lasted from March to April 2020. The next rise in morbidity began in October 2020 and lasted with varying intensity until June 2021. Despite the similar level of morbidity in the two sub-peaks that make up this wave, the mortality rate

differed several times – the first part was much more intense. At the time of the study, Germany is experiencing the third wave, which began in August 2021 and in terms of morbidity, it several times exceeded all previous outbreaks. However, the mortality rate has not experienced such a serious increase and is generally at the level of the second part of the second wave.

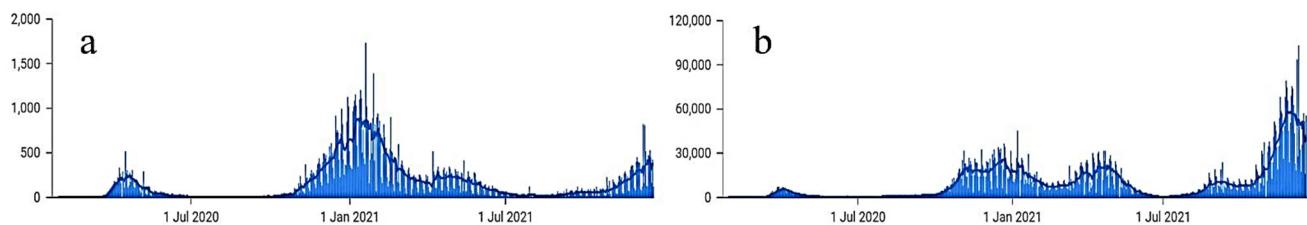


Fig. 6. Dependence of mortality (a) and morbidity (b) on time in Germany [2]

Vaccination in Germany began in February 2021 and was characterized by a rapid increase in the number of vaccinated persons. From April to August, both doses were

given to 50 % of the population. After that, this indicator began to grow more slowly and at the time of the research was 70 % (Fig. 7).

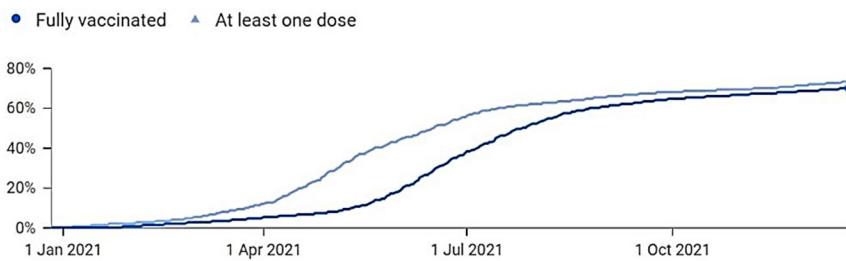


Fig. 7. Increasing the share of vaccinated population over time in Germany [11]

Similar to India, Germany has imposed strong anti-epidemic measures from the beginning (Fig. 8). Which led to a significant reduction in population movements. After the first lockdown, which occurred in the first wave of the disease and lasted from March to July 2020 for three months,

population mobility has reached close to baseline levels. With the beginning of the second wave began the second lockdown, which lasted until June 2021. Closer to the time of the research Germany no longer imposed significant restrictions on movement.

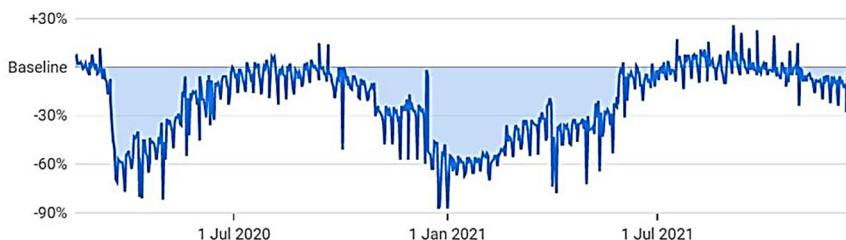


Fig. 8. Changes in population mobility over time in Germany [12]

Thus, in Germany, as in India, all waves of disease were caused by different variants of SARS-CoV-2. The first, short one, was observed during the initial penetration of the virus into the human population and was relatively insignificant due to powerful and effective anti-COVID measures introduced in the country since the beginning of the pandemic [15]. The second wave was much larger and at the same time heterogeneous. The first powerful and dangerous rise was caused by EU1, EU2, 98F and 439K variants. After that, there was some reduction in morbidity with subsequent rise. During this period the Alpha variant became widespread. In addition, this period marks the beginning of an active vaccination program in Germany. Therefore, it is clear that there is a significant difference in the duration and danger of the end of the second wave compared to its beginning. The massive increase in population resistance has mitigated the effects of each individual's infection and has led to the cessation of the spread of the pathogen [16]. In the process of extinguishing this outbreak, the Delta variant quickly supplanted the Alpha variant and remained the only strain circulating in Germany. A few months later, after a significant easing of anti-epidemic measures, this option

caused the third, most powerful wave of morbidity, which, however, is characterized by a relatively low mortality rate. What can be explained by analogy with the Alpha variant by the presence of a significant level of individual resistance obtained as a result of vaccination.

In this case, the Delta variant, like in India, also did not dominate the population immediately after its appearance. Moreover, it was completely displaced for a long time. Until the beginning of the growth of group immunity accelerated by the use of vaccines. The high immunity of the population despite the spread of the Delta variant led to the suppression of the spread of SARS-CoV-2 in general [16]. However, over time, the weakening of post-infectious immunity, increasing mobility of the population and the approach of the winter period in which the pattern of human contact changes, the Delta strain has aggravated the epidemic situation [18].

According to Fig. 9 until December 2020 Ukraine has not encountered any of the variants that require special supervision. Since the beginning of winter, when in Europe and, in particular, in Germany, variants EU1, 98F and 439K have become widespread. In our country, they were represented by a very small proportion and were short-lived.

Starting from January 2021 the Alpha variant rapidly supplanted other strains and became dominant until June. When, in turn, was replaced by the Delta variant. At the same time, in the summer months of 2021 after the complete displacement of the Alpha variant, there is a short-

term increase in its share in the pool of sequences of Ukrainian origin in GISAID [19]. What can be attributed to the seasonal increase in labor and tourist migration of the population of our country [20].



Fig. 9. Changes in the proportion of sequences of different variants of SARS-CoV-2 in Ukraine [10]

In terms of the dynamics of the epidemic situation, the first wave of morbidity in Ukraine began in September and ended in January 2020. It was characterized by a significant increase in both morbidity and mortality. Without reducing to baseline, it moved to the second one, which in turn lasted from February to May 2021. Mortality

parameters were corresponding. After a long period of significant reduction in morbidity in the summer months, the third wave began – more powerful and dangerous than in the past. It continues at the time of the study, although it is clearly on the decline (Fig. 10).

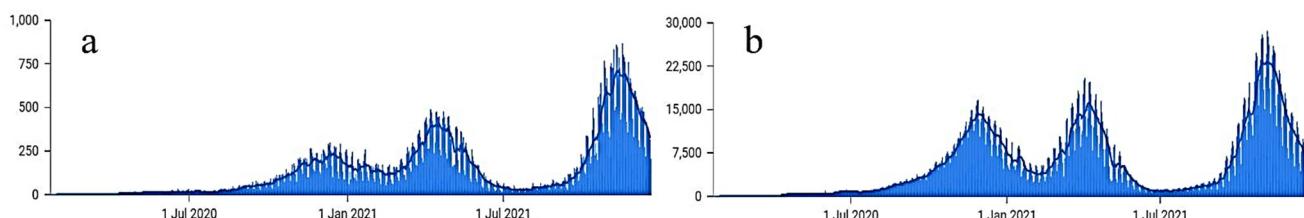


Fig. 10. Dependence of mortality (a) and morbidity (b) on time in Ukraine [2]

Active vaccination in Ukraine began in late June 2021 (Fig. 11). It is characterized by a slow increase in the number of vaccinated persons, a relatively small gap between those who received one dose of vaccine and those who received

two. In general, at the time of the research, only a quarter of the population of our country has received full vaccination, which is quite low compared to European countries.

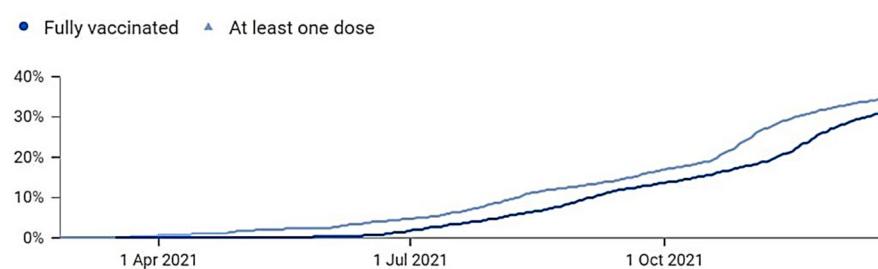


Fig. 11. Increasing the share of vaccinated population over time in Ukraine [11]

Even before the active spread of SARS-CoV-2 on the territory of the country, Ukraine introduced powerful anti-COVID measures. This is confirmed by the dynamics of changes in population mobility (Fig. 12). However, after the pandemic escalated, these measures were almost

completely lifted. And renewed only after the increase in morbidity during the first and second waves. The situation was repeated and quarantine was suspended again until the incidence of the third SARS-CoV-2 outbreak in the country increased.

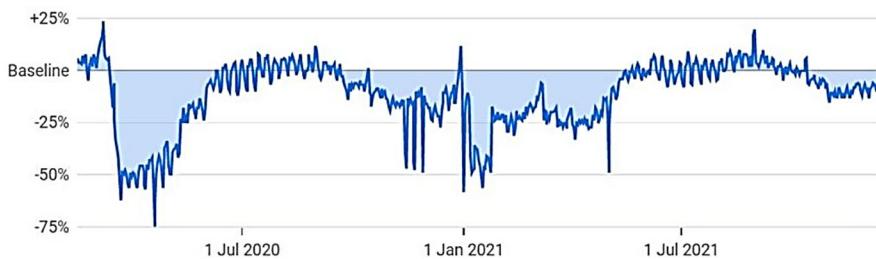


Fig. 12. Changes in population mobility over time in Ukraine [12]

Thus, due to timely and powerful anti-epidemic measures introduced in Ukraine at the beginning of the pandemic, it was possible to avoid a significant increase in the incidence of SARS-CoV-2, similar to that observed in Germany. Nevertheless, the original strain caused an outbreak a little later – in the fall of 2020. It was preceded by a long period of lack of control over population movements, which was probably the cause of high rates of both morbidity and mortality [15]. Without a significant improvement in the epidemic situation, the first wave passed into the second. The second wave, however, was caused by another strain – the Alpha, which very quickly supplanted the original version. Anti-COVID measures introduced at the beginning of the first wave, the increase in collective immunity and the approach of the summer period led to a significant reduction in the morbidity. As the epidemic situation improved, the Delta strain began to displace the Alpha variant. It should also be noted that, although this variant (Delta) was not registered in Ukraine long before the appearance of other strains (as in the case of India and Germany), for the first time it was sequenced in May 2021 – one month before the active displacement of other variants. Which, however, coincides with the beginning of the strengthening of collective immunity due to vaccination. The third wave began rapidly, after several summer months of high mobility of the country's population. There were no significant restrictions on the movement of citizens in the past, which is probably one of the reasons for the higher morbidity that we can observe at the time of the study [15]. In addition, the contribution of a relatively low level of vaccination of the population seems likely – the low level of resilience of each individual is a probable cause of high mortality in this case [15].

**Generalization.** In the case of each of the countries considered, the Delta strain was present in their territory before the beginning of its active dominance. It did not displace other variants immediately. And in the case of Germany, it disappeared from the population of circulating variants for more than half a year, giving way to other strains. However, with increasing population resistance due to vaccination, we have been able to observe a consistently rapid and confident displacement of all other SARS-CoV-2 strains by the Delta variant. This behavior, in our opinion, indicates the emergence of a significant advantage in this variant over others in the presence of a certain proportion of the vaccinated population in the country. This is highly likely to be due to the lower suppressive effect of post-vaccination immunity on this particular strain compared to others, which is primarily manifested in a greater number of so-called breakthrough infections [21]. At a more fundamental level, this may be related to the distinct, possibly unique, antigenic profile characteristic of the Delta variant. The one that allows avoiding the effect of vaccination-induced individual resistance on a qualitatively new level. In parallel, in the case of Germany

and Ukraine, with an increase in the share of the Delta variant, we can observe an overall decrease in morbidity. Consistent with the proposed hypothesis – the Delta variant, due to less vulnerability to post-vaccination immunity is able to circulate for a longer time in the host population. In the case of India, the displacement of all other strains by the Delta variant was accompanied by an increase in morbidity, which can be explained by cultural characteristics and high population density [22]. In addition, the low level of morbidity during the first wave (and consequently post-infection immunity) and vaccination multiplied by the increase in population mobility, in our opinion, were crucial.

The situation in the case of Germany is interesting. The first and second parts of the second wave, in addition to being caused by different variants of SARS-CoV-2 and having relatively similar morbidity rates, differed significantly in mortality. Relatively low mortality rates are observed in this country in the third wave as well. This feature of the dynamics of the epidemic situation can be explained by a sharp increase in the number of vaccinated people. Thus, despite perhaps not so significant effects on morbidity in general, vaccination can reduce the mortality several times – significantly reduce the manifestation of life-threatening consequences of COVID19.

However, this effect is observed only at a high level of vaccination of the population. In the case of its low level, as in the case of Ukraine and India, we can observe a comparable proportion of deaths. Thus, in our opinion, depending on the cultural, economic, demographic and other characteristics of the country, there is a certain state of the population when vaccination is sufficient to give preference to the Delta along with other variants and not enough to effectively reduce mortality from this strain.

**Conclusions.** The studying of the dynamics of the spread of different variants of SARS-CoV-2 and comparative analysis of the data with the dynamics of the epidemic situation in the country, the peculiarities of vaccination and changes in mobility allowed to identify the following patterns:

1. The rapid displacement of all other variants of SARS-CoV-2 by the Delta strain in all cases was accompanied by the beginning of active vaccination of the population.
2. The high level of vaccination has had little effect on the spread of SARS-CoV-2, but has been accompanied by a significant reduction in mortality.
3. There is a certain level of post-vaccination resistance of the population, which is sufficient to displace of other variants by the Delta strain and at the same time insufficient to seriously reduce the likelihood of death.

#### Reference

1. Syed A, Khan A, Gosai F, Asif A, Dhillon S. Gastrointestinal pathophysiology of SARS-CoV2 – a literature review. Journal of community hospital internal medicine perspectives. 2020; 10(6):523–28.
2. Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. Lancet Infect Dis. 2020; 20(5):533–34.

3. Chan-Yeung M, Xu RH. SARS: epidemiology. *Respirology*. 2003; 8(1):9–14.

4. Jain S, Venkataraman A, Wechsler ME, Peppas NA. Messenger RNA-based vaccines: Past, present, and future directions in the context of the COVID-19 pandemic. *Advanced drug delivery reviews*. 2021; 179:114000.

5. Safari I, Elahi E. Evolution of the SARS-CoV-2 genome and emergence of variants of concern. *Archives of virology*. 2021; 1–13.

6. Mengist HM, Kombe Kombe AJ, Mekonnen D, Abebaw A, Getachew M, Jin T. Mutations of SARS-CoV-2 spike protein: Implications on immune evasion and vaccine-induced immunity. *Seminars in immunology*. 2021; 55:101533.

7. Kleine-Kamppmann S, Schöll M, Ehlers L, Hewelt E, Göbels K, Ippisch S, Seidel J, Thanheiser M, Schindler B, Kalkowski M, Boldt M, Dirksen-Fischer M, von Münster T, Jeglitz M, Chmielewska J, Sangs A, Mouchtouri B, Rexroth U, An der Heiden M. Flug- und Schiffsverkehr während der COVID-19-Pandemie in Deutschland: Herausforderungen für den Öffentlichen Gesundheitsdienst [Air and maritime transport during the COVID-19 pandemic in Germany: challenges for the public health service]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2021; 64(4):454–462.

8. Vazquez-Prokopec GM, Perkins TA, Waller LA, Lloyd AL, Reiner RC, Jr, Scott TW, Kitron U. Coupled Heterogeneities and Their Impact on Parasite Transmission and Control. *Trends in parasitology*. 2016; 32(5):356–367.

9. Shiehzadegan S, Alaghemand N, Fox M, Venketaraman V. Analysis of the Delta Variant B.1.617.2 COVID-19. *Clinics and practice*. 2021; 11(4):778–784.

10. Emma B. H. "CoVariants: SARS-CoV-2 Mutations and Variants of Interest." 2021; Available at: <https://covariants.org/> [Online Resource]

11. Roser M, Ortiz-Ospina E. "Coronavirus (COVID-19) Vaccinations". 2019; Available at: [https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=\[Online Resource\]](https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=[Online%20Resource])

12. Google LLC "Google COVID-19 Community Mobility Reports". Available at: <https://www.google.com/covid19/mobility/> [Online Resource]

13. Boytchev H. How Germany retains one of the world's strongest research reputations. *Nature*. 2020; 585:S105.

14. Tao K, Tzou PL, Nouhin J, Gupta RK, de Oliveira T, Kosakovsky Pond SL, Fera D, Shafer RW. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nature reviews. Genetics*. 2021; 22(12):757–773.

15. Zhang Y, Olufadewa II, Adesina MA, Ekpo MD, Akinloye SJ, Iyanda TO, Nwachukwu P, Kodzo LD. Lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic response in China, Italy, and the U.S.: a guide for Africa and low- and middle-income countries. *Global health journal (Amsterdam, Netherlands)*. 2021; 5(1):56–61.

16. Machado B, Hodel K, Fonseca L, Mascarenhas L, Andrade L, Rocha V, Soares M, Berglund P, Duthie MS, Reed SG, Badaró R. The Importance of RNA-Based Vaccines in the Fight against COVID-19: An Overview. *Vaccines*. 2021; 9(11):1345.

17. Baptiste E, Huneman P. Towards a Dynamic Interaction Network of Life to unify and expand the evolutionary theory. *BMC biology*. 2018; 16(1):56.

18. Icard P, Simula L, Rei J, Fournel L, De Pauw V, Alifano M. On the footsteps of Hippocrates, Sanctorius and Harvey to better understand the influence of cold on the occurrence of COVID-19 in European countries in 2020. *Biochimie*. 2021; 191:164–171.

19. Khare S, et al. GISAID's Role in Pandemic Response. *China CDC Weekly*. 2021; 3(49):1049–1051.

20. Malynovska O. [The impact of the covid-19 pandemic on labor migration citizens of ukraine and possible directions state response]. 2020. Available at: <https://niss.gov.ua/doslidzhennya/socialna-politika/vpliv-pandemii-sovid-19-na-trudovo-migraciyu-gromadyan-ukraini-ta>. Ukrainian.

21. Ahmad L. Implication of SARS-CoV-2 Immune Escape Spike Variants on Secondary and Vaccine Breakthrough Infections. *Frontiers in immunology*. 2021; 12:742167.

22. Mourya DT, Yadav PD, Ullas PT, Bhardwaj SD, Sahay RR, Chadha MS, Shete AM, Jadhav S, Gupta N, Gangakhedkar RR, Khasnobis P, Singh SK. Emerging/re-emerging viral diseases & new viruses on the Indian horizon. *The Indian journal of medical research*. 2019; 149(4):447–467.

Надійшла до редколегії 16.05.22  
Отримано відправлений варіант 17.06.22  
Підписано до друку 17.06.22

Received in the editorial 16.05.22  
Received version on 17.06.22  
Signed in the press on 17.06.22

А. Заремба<sup>1</sup>, магістр,

П. Заремба<sup>1</sup>, магістр,

І. Буданівська<sup>2</sup>, д-р біол. наук,

С. Загородня<sup>1</sup>, канд. біол. наук

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ, Україна,

<sup>2</sup>Навчально-науковий центр "Інститут біології та медицини", Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ЗАКОНОМІРНОСТІ ВПЛИВУ ВАКЦИНАЦІЇ НА ДИНАМІКУ ПОШИРЕННЯ РІЗНИХ ВАРІАНТІВ SARS-COV-2. ДВОРІЧНИЙ АНАЛІЗ

Новий коронавірус, нині відомий як SARS-CoV-2, привернув до себе увагу тисяч науковців по всьому світу. Передусім така увага пов'язана зі значним впливом цього патогену на економічні та соціальні аспекти існування великої кількості людей. Швидкі та потужні антиепідемічні заходи більшості країн уповільнили темпи пандемії, а зі створенням пулу ефективних вакцин проти SARS-CoV-2 людство навчилося протидіяти його поширенню і у сфері резистентності кожної окремої людини, тим самим, очевидно, створивши додатковий фактор добору. За класичною концепцією системи господар – паразит впливе людини на SARS-CoV-2 теоретично потребує відповідних пристосувальних змін останнього. Шляхом аналізу наявних у відкритих джерелах статистичних даних автори пропонованої статті намагалися ідентифікувати й вивчити закономірності впливу вакцинації на динаміку поширення різних варіантів вірусу SARS-CoV-2 за період від початку пандемії до листопада 2021 р.

Ключові слова: SARS-CoV-2, варіант Дельта, коронавірус, вакцинація.

Наукове видання



# ВІСНИК

КІЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

## БІОЛОГІЯ

Випуск 2 (89)

Редактор *Н. Земляна*

Оригінал-макет виготовлено ВПЦ "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, статистичних даних, відповідної галузевої термінології, імен власних та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали.



Формат 60x84<sup>1/8</sup>. Ум. друк. арк. 5,34. Наклад 300. Зам. № 222-10485.  
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № 5 2.

Підписано до друку 30.06.22

Видавець і виготовлювач

ВПЦ "Київський університет"

Б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна

т (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; тел./факс (38044) 239 31 28

е-mail:vpc\_div.chief@univ.net.ua; redaktor@univ.net.ua

http: vpc.univ.kiev.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02