

Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка

Природничо-географічний факультет

Кафедра біології та методики навчання біології

Біда Тетяна Миколаївна

**МОРФОГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ *TRIFOLIUM REPENS* L. ЗА
МАЛЮНКОМ «СИВОЇ» ПЛЯМИ НА ЛИСТКУ НА ПАСОВИЩАХ СЕЛА
ЖИТНЕ РОМЕНСЬКОГО РАЙОНУ СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

Спеціальність: 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Галузь знань: 01 Освіта

Кваліфікаційна робота

на здобуття освітнього ступеню магістра

Науковий керівник:

_____ В.М. Горяник

кандидат біологічних наук, доцент

кафедри біології та методики

навчання біології

« ____ » _____ 2021 року

Виконавець:

_____ Т.М. Біда

« ____ » _____ 2021 року

Суми 2021

ЗМІСТ

ВСТУП		4
РОЗДІЛ 1	АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ПЕРШОДЖЕРЕЛ	11
	1.1 Особливості <i>Trifolium repens</i> L. як типового для фітоценозів пасовищ виду	11
	1.2 Поліморфізм популяцій <i>Trifolium repens</i> L. за ознакою малюнок «сивої» плями на листку	13
	1.3 Акумуляція з ґрунту феруму, мангану, купруму, цинку як можливих чинників клітинно-організменної мінливості <i>Trifolium repens</i> L.	19
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ	28
	2.1. Фізико-географічна характеристика села Житне Роменського району Сумської області	28
	2.2. Еколого-географічна характеристика пасовищ села Житне Роменського району Сумської області	29
	2.3. Методика збору рослинного матеріалу, ідентифікації фенотипів і генотипів, розрахунку статистичних показників морфогенетичної мінливості <i>Trifolium repens</i> L.	31
	2.4. Методика визначення умісту феруму, мангану, купруму та цинку у ґрунті пасовищ та листках <i>Trifolium repens</i> L.	34
	2.5. Методика вивчення біогенної міграції феруму, мангану, купруму, цинку та біогеохімічних особливостей різних фенотипів <i>Trifolium repens</i> L.	35
РОЗДІЛ 3	РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	37

		3
3.1.	Різноманітність фенотипів та генотипів <i>Trifolium repens</i> L. за малюнком «сивої» плями на листку на пасовищах села Житне Роменського району Сумської області	37
3.2.	Біогеохімічні особливості різних фенотипів <i>Trifolium repens</i> L., виявлених на пасовищах села Житне Роменського району Сумської області	42
РОЗДІЛ 4	ВИКОРИСТАННЯ МАТЕРІАЛІВ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ В КУРСІ БІОЛОГІЇ У ЗАКЛАДАХ ЗАГАЛЬНОЇ СЕРЕДНЬОЇ ОСВІТИ	54
ВИСНОВКИ		64
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		66

ВСТУП

Актуальність дослідження. В останні десятиліття активно проводиться виявлення пов'язаної з добром мінливості всередині невеликих локальних популяцій. Така мінливість відома як поліморфізм. Термін «поліморфізм» (наявність кількох морфологічних типів) позначає мінливість всередині будь-якої популяції. Термін «поліморфізм» може стосуватися будь-якої фенотипічної ознаки за умови, що ця ознака контролюється генами і є більш-менш дискретною у своєму прояві [64].

Далеко не всі прояви такого роду мінливості відображають відповідності між організмами і середовищем; навпаки, буває так, що за деякими з них стоять явні невідповідності. Ці невідповідності можуть виникати через те, що стадії розселення однієї спеціалізованої форми проникають в місце існування іншої. Вони можуть виникати і тоді, коли при зміні умов одна форма витісняється іншою, краще пристосованою до змінених умов. Такий поліморфізм називається скороминущим. Оскільки всі угруповання постійно змінюються, значна кількість явищ поліморфізму, що спостерігаються у природі, ймовірно, мають саме такий скороминущий характер – тією мірою, якою жодна популяція ніколи не встигне за змінами умов існування і ніколи не зможе ці зміни передбачити. Та все ж у багатьох випадках внутрішньопопуляційний поліморфізм активно підтримується природним добром, і при цьому найрізноманітнішими способами. В деяких випадках гетерозиготи мають підвищену пристосованість, але через розщеплювання Менделя вони постійно поповнюють популяцію породжуваними менш життєздатними гомозиготами. Інтенсивність добору може змінюватись в межах певного діапазону, причому на одній з його меж добір може сприяти одній формі (морфі), а на іншій межі – іншій. При проміжній інтенсивності добору можуть виникати поліморфні популяції. Вражаючий приклад поліморфізму природної популяції виявлений в ряді досліджень, присвячених вивченню конюшини повзучої, що росте на довгоіснуючому (не молодше 80 років) пасовищі в

Північному Уельсі. Встановлено, що мінливість конюшини на цій маленькій території хоч би частково обумовлена генетично і відображає відповідності між організмами і середовищем [33, 61].

Говорячи про фенотипічну мінливість у природі, ніколи не можна знати (якщо не проводити експериментів по схрещуванню), яка частина її обумовлена генетичними змінами, а яка частина – екологічними факторами. Разом з тим, мінливість фенотипів будь-якої вибірки певного виду визначається різноманіттям генотипів і різноманіттям впливу довкілля на організми.

Одним з сучасних напрямків популяційної генетики є дослідження поліморфної структури популяцій в умовах природних і антропогенно змінених територій. Ці дослідження є необхідною частиною моніторингу популяцій. Всі показники, що характеризують популяцію, досить мінливі й повинні вивчатися в динаміці. Особливості морфогенезу особин до певної міри є також популяційною характеристикою, оскільки кожній популяції властиві свої особливості морфогенетичного розвитку. Вивчення впливу абіотичних факторів (температурного, світлового режиму, вологості, складу та особливостей ґрунту тощо) на динаміку популяційних показників дає змогу визначити шляхи зміни ценопопуляцій, прогнозувати можливі зміни в їх розвитку [7, 10, 21, 37, 50].

Trifolium repens L. є типовою рослиною у фітоценозах Лісостепу України, в тому числі, й антропогенно змінених, має високу чисельність, швидко змінює фенофази. Характерною екологічною особливістю *Trifolium repens* L. є широкі можливості адаптації до значного діапазону абіотичних умов, зокрема й екстремальних, що сприяє його широкому поширенню на порушених територіях. Для *Trifolium repens* L. характерна вегетативно рухлива життєва форма, представлена особинами насінневого походження (генетами) та нащадками вегетативного розмноження різного ступеня розгалуження. У старих ценозах, що не зазнали антропогенного впливу, рослини *Trifolium repens* L. представлені подовженими плагіотропними пагонами, що наростають за рахунок верхівкової меристеми і активно утворюють пазушні бічні пагони.

Вегетативне розмноження сприяє підтриманню і поширенню виду по території, а генеративне – за рахунок потужного банку насіння, служить для захоплення нових територій при порушенні там рослинного покриву [26, 30].

Характерною фенотипічною особливістю природних популяцій *Trifolium repens* L. є поліморфізм за малюнком «сивої» плями на листку. Малюнок «сивої» плями може відрізнятися розташуванням, забарвленням, інтенсивністю прояву, розміром. Доведено, що різноманітність рослин *Trifolium repens* L. за цією ознакою визначається серією множинних алелів гену *V*. Наявність «сивої» плями на листку – ознака домінантна (*V*), відсутність – рецесивна (*v*). Усі алелі гену *V*, а їх налічується 11 або більше, порушують нормальний розвиток хлорофілу в палісадних клітинах світлої зони листка. Для більшості комбінацій алелів характерним є їх прояв з утворенням різних варіантів фенотипів [43].

Вивченню природних популяцій *Trifolium repens* L. присвячені дослідження J.L. Brewbaker, A. Cresswell, R.S. Hamilton, P.P. Валієва, Н.В. Глотова, Л.Н. Денисової, І. Е. Камчатової, М. Ю. Купріянової, С.Н. Левицького, В. І. Нахаєвої, Д. Б. Орлинського, Г. Г. Соколової, Н. Хох, Н. Н. Шаригіної, П. Я. Шварцмана та ін., в яких наводиться аналіз просторової та вікової структури популяцій даного виду, характеризується еколого-генетична та міжпопуляційна мінливість за ознакою «сивої» плями на листку, вказується на наявність залежності ступеня фенотипічної та генотипічної різноманітності популяцій *Trifolium repens* L. за даною ознакою від рівня антропогенного навантаження на навколишнє середовище [11, 12, 19, 30, 34, 43, 49, 51, 55, 57, 65, 75, 78, 79, 80].

Зокрема, білоруськими науковцями А. Н. Хох, О. В. Лозинською та С. Б. Мельновим [75] встановлений різного рівня позитивний і негативний зв'язок між певними генотипами та умістом у ґрунті і листках ряду важких металів – плумбуму, феруму, цинку та купруму. Останні три є для *Trifolium repens* L. есенціальними мікроелементами, що беруть участь в утворенні органічних сполук, регулюють ріст вегетативної маси, беруть участь у процесах фотосинтезу та синтезу хлорофілу, активують ріст кореневої системи, прискорюють протікання усіх процесів, підвищують зимостійкість, а також

стійкість до хвороб, шкідників чи стресових умов існування, сприяють регуляції водного балансу, забезпечують транспорт цукрів у рослині, впливають на окисно-відновлювальні процеси, активізують ферменти та ферментативні процеси, підсилюють обмін речовин, зміцнюють клітинні стінки, беруть участь в азотному та білковому обміні речовин, входять до складу амінокислот, вітамінів та рослинних олій, регулюють процеси дихання та біосинтезу. В той же час, якщо концентрація їх доступних форм перевищує певну межу, дані мікроелементи можуть виявляти токсичний і мутагенний ефекти на рослини [75].

Зважаючи на актуальність питання хімічного забруднення ґрунтів на територіях різного сільськогосподарського призначення, дослідження поліморфної структури популяцій *T. repens* L. за ознакою «малюнок «сивої» плями на листку» залежно від умісту у ґрунті важких металів є одним з перспективних напрямків для опису внутрішньовидових генетично зумовлених локальних відповідностей між організмами і середовищем.

Об’єкт дослідження: мінливість популяцій *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку.

Предмет дослідження: мінливість локальних популяцій *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на пасовищах.

Мета дослідження: здійснити дослідження морфогенетичної мінливості локальних популяцій *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на пасовищах села Житне Роменського району Сумської області з різним екологічним режимом.

Завдання дослідження:

1. Здійснити аналітичний огляд першоджерел з теми дослідження.
2. Вивчити зустрічальність *Trifolium repens* L. у фітоценозах пасовищ.
3. Визначити частоту фенотипів та генотипів *Trifolium repens* L. за ознакою «малюнок «сивої» плями на листку» на пасовищах.
4. Проаналізувати співвідношення частоти диких та мутантних фенотипів *Trifolium repens* L. на пасовищах.

5. Визначити уміст феруму, мангану, купруму та цинку у ґрунті пасовищ.
6. Визначити уміст феруму, мангану, купруму та цинку у листках різних фенотипів *Trifolium repens* L., виявлених на пасовищах.
7. Проаналізувати біогенну міграцію феруму, мангану, купруму, цинку та біогеохімічні особливості різних фенотипів *Trifolium repens* L., виявлених на пасовищах.
8. Розглянути можливість використання матеріалів кваліфікаційного дослідження у шкільному курсі біології.

Методи дослідження: теоретичні – бібліографічний аналіз літератури; емпіричні (спостереження, опис, обговорення даних); експериментальні (вибір пробних ділянок, здійснення вибірки листків з ділянок, визначення фенотипів та генотипів, визначення умісту хімічних елементів у ґрунті та рослинному матеріалі); статистичні (математичні методи обробки експериментальних даних); графічні (створення наукової графіки для представлення результатів дослідження).

Методика дослідження. Кваліфікаційна робота виконана на основі власних досліджень, проведених у 2021 році. Для дослідження були обрані пасовища села Житне Роменського району Сумської області, що знаходяться на значній відстані один від одного та відрізняються рядом екологічних умов. На кожній території обстежувалися рандомізовані ділянки розміром 2х3 м з покриттям *Trifolium repens* L. до 100%.

Збір рослинного матеріалу (листоків *Trifolium repens* L.) для дослідження проводився у червні-вересні 2021 р., у період масового цвітіння рослини. Для ідентифікації малюнків «сивої» плями на листках *Trifolium repens* L. (фенотипів і генотипів) використовували методику І.Т. Папонової (1982) та П.Я. Шварцмана (1986) [81], порівнюючи малюнки плям на зібраних листках з малюнками, зображеними у таблиці Дж. Л. Брюбейкера [11].

Відбір зразків ґрунту проводили згідно із рекомендованими методиками [20, 22, 32]. Уміст феруму, мангану, купруму та цинку визначали у середній пробі у лабораторії Центру сучасних досліджень ґрунту ТОВ «СІЕЙТІ» за

«Методикою ДСТУ ISO 14870-2005 Якість ґрунту. Екстрагування слідів елементів буферним розчином ДТПО (ISO 14870-2001, IDT) (вилучення)» та «Методикою ДСТУ ISO 22036-2014 Якість ґрунту» з використанням атомно-емісійної спектрометрії індуктивно-зв'язаної плазми (ICP-AES) (визначення)» [52].

Відбір рослинних зразків (листіків) проводився паралельно з відбором проб ґрунту у поліетиленові зіп-пакети з відповідними етикетками по 40–50 листків. У такому вигляді зразки доставлялися до лабораторії, де висушувалися до повітряно-сухого стану. Потім здійснювали їх пробопідготовку для визначення вмісту важких металів із використанням методичних вказівок [32]. Уміст феруму, мангану, купруму та цинку у листках визначали атомно-абсорбційним методом за допомогою ICP-AES аналізатора у лабораторії Центру сучасних досліджень ґрунту ТОВ «СІЕЙТІ».

Наукова новизна одержаних результатів. У локальних популяціях пасовищ вперше проведено вивчення біогенної міграції феруму, мангану, купруму, цинку та здійснено аналіз біогеохімічних особливостей різних фенотипів *Trifolium repens* L. за ознакою «малюнок «сивої» плями на листку».

Практичне значення результатів дослідження. Результати дослідження розширюють знання про морфогенетичний поліморфізм природних популяцій *Trifolium repens* L. за ознакою «малюнок «сивої» плями на листку» у різних еколого-географічних умовах. Результати дослідження надають конкретну інформацію: про мінливість фенотипів та генотипів *Trifolium repens* L. за ознакою «малюнок «сивої» плями на листку» у локальних популяціях територій, змінених господарською діяльністю людини; про можливий вплив на цю мінливість біогенної міграції ряду есенціальних мікроелементів, що належать до «важких» металів, та біогеохімічних особливостей різних фенотипів. Результати дослідження можуть знайти відображення в обґрунтуваннях можливості використання ознаки «малюнок «сивої» плями на листку» *Trifolium repens* L. для біоіндикації якості довкілля.

Апробація результатів дослідження.

Матеріали дослідження оприлюднені на IX Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми дослідження довкілля» (25-27 травня 2021 р., м. Суми) та II Всеукраїнській заочній науковій конференції «Освітні та наукові виміри природничих наук» (8 грудня 2021 р., м. Суми) та опубліковані у збірниках наукових праць конференцій:

Біда Т.М., Торяник В.М. Особливості фенотипічного поліморфізму *Trifolium repens* L. за рисунком сивої плями на листку у фітоценозах пасовищ з різним екологічним режимом //Актуальні проблеми дослідження довкілля: Матеріали IX Міжнародної наукової конференції, 25-27 травня 2021 р., м. Суми – Суми : СумДПУ імені А.С. Макаренка, 2021. – С. 207–209 [9].

Торяник В. М., Біда Т. М. Біогеохімічні особливості різних фенотипів *Trifolium repens* L. на пасовищах села Житне Роменського району Сумської області// Освітні та наукові виміри природничих наук: матеріали II Всеукраїнської заочної наукової конференції, м. Суми, 8 грудня 2021 р. – Суми: СумДПУ імені А.С. Макаренка, 2021. С. 31–33 [67].

За результатами виконаного дослідження опублікована наукова стаття:

Торяник В.М., Біда Т.М. Внутрішньопопуляційний поліморфізм *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на антропогенно змінених територіях села Житне Роменського району Сумської області // Природничі науки: Збірник наукових праць. – Суми: Вид-во Сумського державного педагогічного університету ім. А.С. Макаренка, – 2021. – Вип. 18. – С. 58-64 [69].

Структура роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків та списку використаних джерел (81 од.). Загальний обсяг кваліфікаційної роботи становить 74 сторінки, основна частина кваліфікаційної роботи викладена на 74 сторінках.

РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ПЕРШОДЖЕРЕЛ

1.1. Особливості *Trifolium repens* L. як типового для фітоценозів пасовищ виду

Конюшина біла або повзуча (*Trifolium repens* L.) – багаторічна трав'яниста рослина, що належить до роду Конюшина (*Trifolium*) підродини Метеликові (*Faboideae*) родини Бобові (*Fabaceae*) підкласу Розиди (*Rosids*) класу Дводольні (*Dicotyledoneae*) відділу Покритонасінні (*Angiospermae*) або Квіткові (*Magnoliophyta*). Має кореневу систему мичкуватого типу із розгалуженими бічними коренями та укороченим головним коренем. Стебла голі, повзучі, часто порожнисті, 10-35 см заввишки, стеляться по землі і можуть вкорінюватися у вузлах. Листки трійчасті, довгочерешкові, 1-3 см завдовжки. Квітки дрібні, неправильні, білі, блідо-рожеві або блідо-жовті, у головчастих кулястих, близько 2 см шириною, суцвіттях (30-80 квіток) на довгих квітконосах. Плід – дво-, тринасінний біб довгастої пласкої форми, 3-4 см завдовжки. Насіння дрібне, серцеподібної або ниркоподібної форми, яскраво-жовте. Період цвітіння – з кінця весни до глибокої осені. Розмножується насінням і вегетативно [59, 75].

Trifolium repens L. росте по всій Україні, крім високогір'я Карпат, на луках, схилах, у степах, переважно в западинах і на подах, на узліссях і у світлих лісах, по берегах річок та струмків, часто як бур'ян обабіч доріг, на пустирях. Добре росте на різних ґрунтах з достатньою кількістю поживних речовин та води, але погано переносить надлишок вологи в ґрунті, сухі та сильно кислі ґрунти. Це світлолюбна рослина, яка за сприятливих умов швидко розростається і утворює зімкнутий покрив, витісняючи з травостою злаки та різнотрав'я [54].

Конюшина повзуча характеризується відносно хорошою стійкістю до низьких температур, але в безсніжні зими рослини можуть значно

пошкоджуватися, особливо під шаром льоду. Конюшина сильніше ушкоджується зазвичай на місцях посиленої пащі худоби. Так як коренева система рослини розташована переважно у верхньому шарі ґрунту (0-10 см), то вона є чутливою до літніх посух. Коли влітку випадає мало дощів, питома вага конюшини повзучої в травостої зменшується в декілька разів.

Trifolium repens L. відмінно поїдається великою рогатою худобою і має високу поживну цінність. У сухій речовині міститься 20-35% сирого протеїну. Конюшина має дуже велике значення для культурних пасовищ, тому що є головним джерелом азоту. Залежно від питомої ваги даної рослини в травостої, умов зростання, тривалості вегетаційного періоду та ряду інших факторів (вмісту поживних речовин у ґрунті, способу випасання тощо) кількість зв'язаного ним на культурних пасовищах азоту коливається від 80 до 200 кг на 1 га [46].

У конюшини повзучої чітко виражені фітосанітарні якості. Вона оздоровлює ґрунт, зменшує забур'яненість наступної культури в сівозміні, що призводить до зменшення захворювань рослин, підвищення родючості ґрунту та продуктивності сівозміни.

Trifolium repens L. є типовою рослиною у флорі середовища існування, пов'язаного з діяльністю людини, має високу чисельність в антропогенно навантажених фітоценозах, швидко змінює фенофази. Характерною екологічною особливістю *Trifolium repens L.* є значний потенціал адаптації до широкого діапазону абіотичних умов, зокрема й екстремальних, що сприяє його широкому поширенню на порушених територіях. Даний вид є відносно стійким до механічних пошкоджень, перш за все до витоπτування. *Trifolium repens L.* є цінною кормовою пасовищною культурою. Оскільки точка росту розміщується майже біля поверхні ґрунту, вона легко пошкоджується при випасанні, а відірвані пагони за сприятливих умов укорінюються [28].

1.2. Поліморфізм популяцій *Trifolium repens* L. за ознакою «сивої» плями на листку»

В популяціях *Trifolium repens* L. (так само, як і у інших видів конюшини) зустрічаються дві групи рослин: у одних листки повністю зелені, у інших – з «сивими» плямами, що характеризуються певною формою та розміщенням на листку. Гістологічні дослідження показали, що ці плями пов'язані з особливою групою палісадних клітин, в яких пластиди або відсутні або присутні але в меншій кількості. Палісадні клітини в районі плями зменшені в розмірах, менш витягнуті, часто неправильної форми, між ними існує більший проміжок, ніж у тканинах зелених ділянок листка. На думку дослідників, «сиві» плями на листку *Trifolium repens* L. можуть бути результатом різної швидкості росту епідермальних клітин відносно палісадних, в результаті чого палісадні клітини піддаються більш сильній дії світла з наступним руйнуванням частини хлорофілу [22].

«Сива» плямистість листків *Trifolium repens* L. є генетично обумовленою ознакою. Наявність «сивої» плями – ознака домінантна, а її відсутність – рецесивна. Наявність плями, різноманітність її форм та положення на листку зумовлюється серією алелів одного гену, позначеного літерою V. Усі алелі гену V порушують нормальний розвиток хлорофілу в клітинах листкової пластинки, призводячи до скорочення в них кількості хлоропластів аж до їх повної відсутності. За даними ряду робіт, зокрема Дж. Брюбейкера, налічується 11 (або більше) алелів цього гену [11]. Поміж них, за даними П.Я. Шварцмана, найчастіше зустрічаються 8 алелів, що виявляються у 8-ми варіантах фенів (варіантах «сивої» плями як дискретної ознаки) [80, 81].

Різні рівні розташування «сивої» плями на листку відповідають часу дії відповідних алелів гену V, що порушують нормальний розвиток хлорофілу в онтогенезі листка. Для більшості комбінацій алелів характерний їх спільний прояв з утворенням різних варіантів фенотипів.

Окремі дослідники вказують на те, що існують труднощі при ідентифікації фенотипів ряду плям. Приміром, між низькими і високими Λ-подібними плямами можуть бути перехідні форми, розірваними та подвійними плямами. Дані випадки пояснюються тим, що на характер прояву плям у гетерозигот впливає рівень розміщення плями на листку, форма, вік, відносний розмір листків [57, 65].

В останні десять років досліджуванню морфогенетичного поліморфізму природних популяцій *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку присвячено чимало досліджень (Соколова Г.Г., Камалтдинова Г.Т., Опекунова М.Г., 2004; Купріянова М.Ю., 2014; Семенова І.І., 2014; Валієв Р.Р., Яковлева О.М., Мочалов О.С., 2008; Денисова Л.Н., Шаригіна Н.Н., 2011; Левицький С.М., 2013; Хох А.Н., Лозинська О.В., Мельнов С.Б., 2011; Торяник В.М., Біда Т.М., 2021; Торяник В.М., Міронець Л.П., 2020) [8, 9, 12, 30, 49, 51, 56, 63, 67, 68, 69, 70, 75, 78, 79].

Російськими дослідниками – Р.Р. Валієвим, О.М. Яковлевою та О.С. Мочаловим, був здійснений порівняльний аналіз внутрішньопопуляційної та міжпопуляційної мінливості *Trifolium repens* L. за наявністю та різноманітністю форми «сивої» плями на листку рослин, зібраних на територіях ряду районів Республіки Башкортостан, що характеризуються різними екологічними умовами [12]. Результати цього дослідження показали залежність ступеня поліморфізму *Trifolium repens* L. за даною ознакою від віку популяції та впливу екологічних факторів, зокрема й антропогенних. Так, у пасовищних популяціях Дуванського та Нуріманівського районів, що вважалися відносно екологічно чистими, ними було виявлено 5-7 генотипів з різним рисунком «сивої» плями на листках рослин. На думку Р.Р. Валієва у природних популяціях *Trifolium repens* L. діє рушійний добір, спрямований на підвищення частоти виникнення окремих генотипів, причиною чого можуть бути антропогенний тиск на середовище або відхилення від норми екологічних чинників: режиму освітлення, відкритості простору для запилювачів, режиму вологості та температури повітря під час росту листків тощо [12].

На думку іншої дослідниці – Л.Н. Денисової, ступінь гетерогенності популяцій *Trifolium repens* L. пов'язаний з віком популяції [28]. Старі, сталі популяції (до таких належать пасовищні) є більше однорідними, більш стабілізованими і, тому, характеризуються однорідністю генотипів. Якщо в них зустрічаються рослини з рідкісними генотипами, то в незначній кількості ($V^{BH}V^{BH}$, V^FV^F , $V^{BH}v$ та ін.) і, в основному, на периферії популяцій. Молоді ж популяції, навпаки, є гетерогенними.

Дослідження Н.Н. Шаригіної внутрішньо- та міжпопуляційної мінливості за ознакою «сивої» плями на листках рослин *Trifolium repens* L. на території міста Архангельська у трьох популяціях показало те, що зустрічальність фенотипів, детермінованих серією множинних алелів гену *V*, визначається природнім доббором та мутаційним процесом, спрямованими на збільшення частоти окремих комбінацій мутантних алелів.

Дослідження генетичного поліморфізму за рисунком «сивої» плями на листку в популяціях *Trifolium repens* L. на ділянках з високим антропогенним навантаженням і на умовно чистих територіях Європейської Півночі (на прикладі Архангельської області) у 2009-2012 рр. провів С.М. Левицький [51]. Ним у місті Архангельську (64° пн.ш., 40° східної довготи) і селі Шангали, Устьянського району (61° пн.ш., 43° східної довготи) було обстежено 5 пробних майданчиків з однорідними для *Trifolium repens* L. умовами зростання, але різним ступенем антропогенного навантаження.

За результатами дослідження всього було виявлено 12 фенотипічних класів, причому мінімальна кількість різноманітних фенів склала – 3, а максимальна – 11, що вказує на різний ступінь морфогенетичного поліморфізму у популяціях *Trifolium repens* L., що знаходяться на територіях з різним ступенем антропогенного навантаження. Встановлено, що у всіх досліджених популяціях найбільш часто зустрічаються рослини з генотипами: vv , $V^H V^B$, $V^P V^P$. У популяціях *Trifolium repens* L. на територіях з підвищеним антропогенним навантаженням було встановлено переважання за частотою фенотипу *O*, наступними за частотою були фенотипи *A* та *C*.

У міських популяціях, які знаходяться у безпосередній близькості до автомагістралей, відмічено більш високе розмаїття фенів (по 11 в кожній). Окрім того, в них фігурують фенотипи, що не зустрічалися в першій популяції – *D*, *E*, *CE*, *A^HE*, які характеризуються генотипічним поліморфізмом як гомо-, так і гетерозигот: *V^SV^H*, *V^SV^P*. Популяції *Trifolium repens* L. в умовах територій з низьким ступенем антропогенного навантаження характеризуються більшою морфогенетичною однорідністю. Так, в популяції на березі річки Устя було виявлено лише 5 фенотипічних класів, а в лучні популяції – всього 3. Причому, в даних популяціях переважають ті ж фени, що і в міських популяціях. На думку авторів даного дослідження, зниження частоти виникнення різних генотипів, як результат, гетерогенності популяцій *Trifolium repens* L. в сільських (пасовищних) популяціях, найімовірніше, пов'язане з низьким ступенем антропогенного впливу на ці території. На думку ряду науковців [38, 71, 76, 77], видове різноманіття трав'янистих рослин, високий рівень адаптації видів та конкуренція між ними призводять до придушення домінування *Trifolium repens* L. в даних угрупованнях, що і спричинює зниження генетичного поліморфізму у межах виду.

Ґрунтовні дослідження генетичного поліморфізму популяцій *Trifolium repens* L. за ознакою «рисунком «сивої» плями на листку» здійснені білоруськими науковцями А.Н. Хох, О.В. Лозинською та С.Б. Мельновим [75]. Зокрема, проведений науковцями рентгенофлуоресцентний аналіз ґрунту та рослинного матеріалу показав підвищений уміст плумбуму та інших важких металів, більшість з яких концентруються в листках та в корінні *Trifolium repens* L.. Також, встановлений середнього рівня позитивний зв'язок між умістом цинку і генотипом *vv* ($r = +0,44$), феруму і генотипом *VV* ($r = +0,42$), феруму і генотипом *Vv* ($r = +0,41$), феруму і генотипом *V^HV^H* ($r = +0,39$), цинку і генотипом *V^HV^H* ($r = +0,37$), купруму і генотипом *V^HV^H* ($r = +0,36$), цинку і генотипом *VV* ($r = +0,34$) та середнього рівня негативний зв'язок між умістом купруму і генотипом *V^{BH}V^P* ($r = -0,35$).

У 2019 р. дослідження особливостей морфогенетичного поліморфізму *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на антропогенно змінених територіях села Житне Роменського району Сумської області проведене на кафедрі загальної біології та екології Сумського державного педагогічного університету імені Макаренка.

Для дослідження були обрані антропогенно змінені території села Житне, що знаходяться на значній відстані одна від одної, з однорідними умовами для росту *Trifolium repens* L.: прибудинкова територія, пасовище, сіножать, старий яблуневий сад, сміттєзвалище.

Дослідження показало, що локальні популяції *Trifolium repens* L. на різних антропогенно змінених територіях села Житне відрізняються за кількістю фенотипів і генотипів, що вказує на різний ступінь їх внутрішньопопуляційного поліморфізму за ознакою «сива» пляма на листку».

Найвищим ступенем внутрішньопопуляційного поліморфізму *Trifolium repens* L. за ознакою «сива» пляма на листку» характеризувалася локальна популяція пасовища, найменшим – локальна популяція старого яблуневого саду.

За різноманітністю фенотипів у вибірці з популяції території розподілилися наступним чином: пасовище (8 фенотипів) > прибудинкова територія і сіножать (по 7 фенотипів) > сміттєзвалище (5 фенотипів) > старий яблуневий сад (4 фенотипи).

Морфогенетична гетерогенність локальних популяцій *Trifolium repens* L. за ознакою «сива» пляма на листку» на різних антропогенно змінених територіях села Житне визначалася комбінаціями серії 8 алелів: v , V , V^H , V^B , V^{Bh} , V^P , V^F , V^S .

За середньою частотою перша п'ятірка фенотипів *Trifolium repens* L. за рисунком «сивої» плями на листку на досліджених територіях села уцілому утворювала такий ранжований ряд: $O (vv) > A (VV, Vv) > C (V^P V^P, V^P v) > A^H (V^H V^H, V^H V^B) > B^H C (V^{Bh} V^P)$.

За частотою у 4-х з 5-ти досліджених локальних популяцій *Trifolium repens* L., що знаходяться на антропогенно змінених територіях села Житне, за ознакою «сива» пляма на листку» переважали «дикі» фенотипи, серед яких у 3х значно частіше зустрічався фенотип *O*. У локальній популяції пасовища у 2 рази частіше зустрічалися «мутантні» фенотипи.

У загальній вибірці рослин *Trifolium repens* L., зібраних з території сіножаті та пасовища, виявлено 8 фенотипів, генотипи яких, сформовані серією з 7-ми алелів гену *V*. У вибірці з території сіножаті найчастіше зустрічався фенотип *O*, у вибірці з території пасовища – фенотипи A^H та *C*, значно частіше, ніж на території сіножаті, – фенотип $B^H C$. На території сіножаті вищою була зустрічальність «диких» фенотипів, на території пасовища – «мутантних». На кожній з досліджених територій виявлені фенотипи, що не зустрічалися на іншій території: на території сіножаті – фенотип *C* у формі чотирилистника, на території пасовища – фенотипи $B^H B$ та *E*.

Отже, було встановлено, що особливості фенотипічної мінливості *Trifolium repens* L. за ознакою «сива» пляма на листку» у локальних популяціях різних антропогенно змінених територій села Житне є результатом адаптації рослин до особливого режиму екологічних факторів (освітленості, вологості та кислотності ґрунту, температури повітря та ґрунту), обумовленого особливостями антропогенних змін кожної території (інтенсивністю витопування, викошування, забруднення тощо).

Таким чином, аналітичний огляд першоджерел, в яких наводиться огляд результатів досліджень просторової і вікової структури популяцій *Trifolium repens* L. в сільській місцевості різних еколого-географічних регіонів Росії, Білорусі, України, вказує на існування їх еколого-генетичної та міжпопуляційної мінливості за ознакою «рисунок «сивої» плями на листку», а також на те, що частота окремих фенотипів та генотипів *Trifolium repens* L. за даною ознакою на територіях різного сільськогосподарського призначення пов'язана з різним ступенем їх антропогенних змін.

1.3. Акумуляція з ґрунту феруму, мангану, купруму, цинку, як можливих чинників клітинно-організменної мінливості *Trifolium repens* L.

Елементи ферум, манган, купрум, цинк належать до 8-ми мікроелементів, які є есенціальними, тобто життєво важливими для рослин: беруть участь в утворенні органічних сполук, регулюють ріст вегетативної маси, беруть участь у процесах фотосинтезу та синтезу хлорофілу, активують ріст кореневої системи, прискорюють протікання усіх процесів, підвищують зимостійкість, а також стійкість до хвороб, шкідників чи стресових умов існування, сприяють регуляції водного балансу, забезпечують транспорт цукрів у рослині, впливають на окисно-відновлювальні процеси, активізують ферменти та ферментативні процеси, підсилюють обмін речовин, зміцнюють клітинні стінки, беруть участь в азотному та білковому обміні речовин, входять до складу амінокислот, вітамінів та рослинних олій, регулюють процеси дихання та біосинтезу.

Мікроелементи у живленні рослин дозволяють більш повноцінно використовувати воду, світло та первинні елементи живлення (азот, фосфор, калій), що у свою чергу призводить до підвищення кількісних та якісних характеристик врожаю. Мікроелементи та їх ферменти сприяють кращому відновленню тканин, та відчутно зменшують ризик ураження рослин хворобами. Ще один вагомий фактор користі мікроелементів дещо впливає з попереднього – вони підвищують загальний імунітет рослини, не допускають виникнення стресових або депресивних ситуацій, що є вісниками захворювань.

В той же час, усі мікроелементи можуть негативно впливати на рослини, якщо концентрація їх доступних форм перевищує певну межу. Це залежить: від виду рослин, форм хімічних сполук в ґрунті, наявності елементів, що протидіють їх впливу і речовин, які утворюють з ними комплексні сполуки, адсорбції і десорбції, кількості доступних форм в ґрунті та ґрунтово-кліматичних умов [31, 60].

Мікроелементи можуть бути антагоністами (надлишок одного сприяє дефіциту іншого елементу) та синергістами (покращують взаємні властивості один одного).

Крім того, ряд мікроелементів належить до так званих «важких металів», що у високих концентраціях у довкіллі мають екотоксичний та мутагенний вплив, в тому числі й на рослини. Не дивлячись на те, що термін «важкі метали» широко використовується в науковій літературі, чіткого його визначення немає. В якості критеріїв належності хімічних елементів до важких металів використовують багаточисельні характеристики: атомну вагу, густину, токсичність, розповсюдженість в природному середовищі, ступінь залучення в природні і техногенні цикли. При цьому не менш важливим показником при характеристиці важких металів є їх висока токсичність для живих організмів навіть у відносно низьких концентраціях. За класифікацією М.Ф. Реймерса (1980), вважати слід вважати хімічні елементи з густиною більше 8 г/см³: *Pb, Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Sb, Sn, Bi, Hg*. За Д.С. Орловим (1985, 2005) до важких металів належать хімічні елементи з атомною масою більше 50 (*V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Hg, Pb, Bi* та ін.) [58, 59].

Ґрунти є основним середовищем, у яке потрапляють важкі метали, у тому числі із атмосфери, з поверхневим стоком, з підґрунтових порід і підземних вод. Із ґрунтів важкі метали засвоюються рослинами, які потім потрапляють у їжу тваринам і людині.

Хімічний склад рослин, як відомо, відображає елементний склад ґрунтів. Тому, надмірне накопичення важких металів рослинами обумовлено, перш за все, їх високими концентраціями у ґрунтах. У своїй життєдіяльності рослини контактують тільки з доступними формами важких металів, кількість яких, в свою чергу, тісно пов'язано з буферністю ґрунтів. Однак, здатність ґрунтів зв'язувати та інактивувати важкі метали має свої межі, і коли вони вже не справляються з потоком металів що надходять, важливе значення набуває наявність у самих рослин фізіологобіохімічних механізмів, які перешкоджають

їх надходженню. Під впливом токсичних концентрацій (надлишку або нестачі) важких металів у рослинах відбуваються фізіологічні порушення.

Механізми стійкості рослин до надлишку важких металів можуть проявлятися у різних напрямках: одні види здатні накопичувати високі концентрації важких металів, але виявляти до них толерантність; інші прагнуть знизити їх надходження шляхом максимального використання своїх бар'єрних функцій. Для більшості рослин першим бар'єрним рівнем є корені, де затримується найбільша кількість важких металів, наступний – стебла і листя, і, нарешті, останній – органи і частини рослин, що відповідають за відтворювальні функції (найчастіше насіння і плоди, а також корені і бульбоплоди та ін.) [4, 18, 38, 39, 40, 44].

Незважаючи на суттєву мінливість різних рослин до накопичення важких металів, біоаккумуляція хімічних елементів має певну тенденцію, що дозволяє впорядкувати їх у кілька груп [44]:

- *Cd, Cs, Rb* – елементи інтенсивного поглинання;
- *Zn, Mo, Cu, Pb, As, Co* – середнього ступеня поглинання;
- *Mn, Ni, Cr* – слабкого поглинання;
- *Se, Fe, Ba, Te* – елементи, важкодоступні рослинам.

По мірі росту рослин хімічні елементи перерозподіляються по їх органам. При цьому для *Cu* і *Zn* встановлюється наступна закономірність у їх вмісті: коріння > насіння > пагони. Для *Pb, Cd* та *Sr* вона має інший вигляд: коріння > пагони > насіння [44].

Вплив важких металів на рослини може призвести до віддалених ефектів, зокрема мутагенних.

Джерелом важких металів у ґрунтах є: а) материнська порода; б) атмосферні опади (пил, дощі); в) біологічний матеріал - органічні речовини. Залежно від роду джерела і властивостей важких металів у ґрунті розрізняють два типи важких металів: 1) літогенні, тобто пов'язані з матеріалом материнської породи; 2) антропогенні, тобто такі, що потрапляють до ґрунту внаслідок діяльності людини.

Ферум (*Fe*) – життєво необхідний біомікропервень. Він бере участь в окисно-відновних процесах, що протікають у рослинах, оскільки здатний переходити з окисненої форми в закисну і навпаки. Ці властивості займають центральне місце в біологічних властивостях цього мінералу. У ґрунтах ферум присутній, головним чином, у вигляді оксидів та гідроксидів, що знаходяться у формі невеликих часточок або зв'язаних з поверхнею певних мінералів. Загальний вміст у ґрунті Fe_2O_3 коливається в дуже широких межах: від 0,5–1,0 мас. % у кварцево-піщаних ґрунтах і 3–5 мас. % у ґрунтах на лесах, до 8–10 мас. % у ґрунтах на елювії щільних феромагnezіальних порід та до 20–50 мас. % у фералітних ґрунтах і латеритах тропіків [3]. ГДК для валового вмісту феруму та його рухомих форм у ґрунті не регламентується [5].

Кількість розчинного феруму складає лише незначну частину від його загального вмісту в ґрунтах. За вірогідними міграційними формами ферум належить до катйонних первнів, що у водних розчинах створюють вільні катйони [3]. Розчинні неорганічні форми феруму включають: Fe^{3+} , $Fe(OH)^{2+}$, Fe^{2+} , $Fe(OH)_3$, $Fe(OH)_4$. Рухомість феруму у ґрунтах в основному визначається розчинністю аморфних водних оксидів Fe^{3+} та Fe^{2+} . Однак, у горизонтах, що багаті на органічну речовину, ферум знаходиться переважно у хелатній формі. Як правило, концентрація феруму у ґрунтових розчинах за звичайних рівнів рН змінюється від 30 до 550 мкг/л, а в дуже кислих ґрунтах вона може досягати 2000 мкг/л. Мінімальний вміст розчинного феруму формується за лужних значень рН. Саме тому кислі ґрунти більш збагачені розчинними неорганічними сполуками феруму, ніж нейтральні та лужні. Було встановлено, що концентрація Fe^{2+} більше за 500 мг/кг у ґрунтовому розчині являлася токсичною для проростків рису. Вважається, що критичний окисаційно-відновний потенціал для надходження в рослини Fe^{2+} лежить між 300 мВ і 100 мВ за рН 6 і 7, і –100 мВ за рН 8 [73]. У чорноземі звичайному малоґумусному феруму рухомих сполук виявляли на рівні 27,6 мг/кг ґрунту [30]. За умов даного дослідження феруму рухомих сполук у чорноземі опідзоленому виявлено

нарівні 19,7 мг/кг ґрунту. В даний час оптимальні татоксичні рівні феруму рухомих сполук у чорноземних ґрунтах у цілому мало вивчені [62].

Кількість мангану (*Mn*) в земній корі складає 0,1 %. Внаслідок кристалохімічної близькості мангану до трьох найважливіших петрогенних первнів (*Fe*, *Mg*, *Ca*), він широко представлений як ізоморфна домішка в породотвірних мінералах (олівіах, гранітах, слюді, карбонатах). Значну кількість мангану містять ферум-манганові конкреції. Поведінка мангану в ґрунтах досить складна і залежить від багатьох чинників головними з яких є: рівень кислотності та оксидаційно-відновний потенціал. Підвищення кислотності ґрунту та обмежений доступ у ґрунтові шари атмосферного кисню, висока вологість сприяють швидкій розчинності ґрунтового мангану, в результаті чого він стає рухливим. Водночас оксидаційний манган стає недоступним для багатьох культур [23].

Манган – мікроелемент, який є необхідним для живлення рослин, після заліза, кількісний вміст у рослині складає – 0,001%, має здатність рослиною швидко засвоюватися, переміщуватися по органам та регулювати надходження інших елементів, впливає на ростові процеси, змінення мікробіологічної активності, вмісту органічної речовини у сільськогосподарських культурах, збільшує стійкість до несприятливих факторів, покращує плодоношення. Манган бере активну участь у процесах фотосинтезу (перенесення електронів – завдяки здатності зміни валентності, накопичення хлорофілу, утворення цукрі, вітамінів – аскорбінової кислоти); дихання (зниження транспірації та підвищення водорегулюючої здатності, переміщення фосфору з нижніх вегетативних органів на верхні репродуктивні органи); обміну речовин (обмін вуглеводів, біосинтез білків – амінокислот, поліпептидів, багатофракційних білків і ін.); в окислювально-відновлювальних реакціях, входить до складу 10 груп активних ферментів (аргінази, фосфотрансферази та ін.) [31, 60].

Дефіцит мангану: при недостатній кількості відбувається вплив на формування пластид та проходження процесу фотосинтезу, рослини пошкоджуються сірою плямистістю при цьому листки стають світло-зеленого

забарвлення, порушується співвідношення елементів при живленні, що призводить до хлорозів, некрозів (на листках виникають дрібні жовтуваті плями, які з часом призводять до відмирання їх частин), потемніння коренів, сприяє зниженню морозостійкості сільськогосподарських рослин. В більшості випадків (для рослин, якщо мангану менше ніж 10–25 мг/кг сухої маси) призводить до дефіциту і виявляється на ґрунтах після вапнування, при рН 6,0–6,5, при низьких температурах, недостатній інтенсивності освітлення, високому вмісту органічної речовини, зокрема фосфору та кальцію.

Надлишок рухомого мангану може вплинути негативно на загальний стан рослин. Відома токсична дія даного мікропервня на культури, які ростуть на сильнокислих ґрунтах [62]. Манган – антагоніст *Fe* та *Zn*. У ґрунтах України знаходили валового мангану 450-953 мг/кг ґрунту [16, 23]. У чорноземах звичайних малогумусних важкосуглинкових на лесі Степу України науковці виявляли мангану рухомих сполук у межах 42–90 мг/кг ґрунту.

Відносна атомна маса купруму (*Cu*) – 63,5. Маса купруму в земній корі за О.П. Виноградовим [14] складає 47 мг/кг. У хімічному відношенні купрум – малоактивний метал, відповідно в ґрунтах є слабкоміграційним елементом. Кількість рухливого купруму залежить від багатьох чинників: хімічного й мінералогічного складу материнської породи, рН ґрунтового розчину, вмісту органічної речовини та ін. [14]. Вміст купруму в ґрунті коливається від 0,5 до 20,0 мг/кг ґрунту. Найбільша його кількість в ґрунті пов'язана з оксидами феруму, мангану, гідроксидами феруму та алюмінію. Гумінові й фульвокислоти здатні утворювати стійкі комплекси купруму. При рН 7-8 розчинність купруму найменша [27].

Купрум – є одним з найважливіших незамінних елементів, необхідних для живих організмів. У рослинах Купрум, як мікроелемент, входить до складу цілого ряду ферментів-оксидаз й бере участь у біохімічних процесах відновлення й фіксації азоту; як складова частина ферментів здійснює реакції окислення субстратів молекулярним киснем у процесах фотосинтезу та дихання, оскільки вона входить до складу компонентів електрон-транспортного

ланцюга мітохондрій і хлоропластів, в основному у вигляді пластоціаніну. Надлишок Купруму також шкідливий, як і його нестача, а сполуки токсичні для ґрунтових мікроорганізмів, теплокровних тварин і людини [15, 74]. Солі купруму належать до II класу небезпеки. Купрум та його сполуки дуже токсичні для ґрунтової мікрофлори, високі концентрації знижують ферментативну активність ґрунтів, рівень азотфіксації і дихання ґрунтів, а також ведуть до перебудов у мікробних угрупованнях, що проявляється в домінуванні 51 резистентних видів [27].

Цинк (*Zn*) – дуже поширений у природі й зустрічається у невеликій кількості майже в усіх породах вулканічного походження, його вміст у земній корі становить 1,5·10⁻³%. Загальний вміст цинку в ґрунтах світу становить від 10 до 300 мг/кг, в середньому близько 50 мг/кг і залежить від материнської породи, на якій він сформувався [45].

Рухомість цинку та його надходження в рослини залежить від кислотності ґрунту, вмісту і рухомості сполук інших елементів, інтенсивності мікробіологічних процесів. Так, рухомість сполук цинку підвищується зі збільшенням вмісту гумусу і кислотності, а знижується – за наявності в ґрунті розчинних фосфатів, карбонатів кальцію і лужної реакції середовища. Вміст рухомих сполук цинку в ґрунтах України становить 0,2-2 мг/кг ґрунту. Майже 60% орних ґрунтів України мають низький його вміст – в середньому 0,2 мг/кг ґрунту, а цього не достатньо для формування високих урожаїв багатьох сільськогосподарських культур. Кислі деревно-підзолисті ґрунти характеризуються досить високим вмістом цинку і майже не потребують застосування цинкових добрив. Найчастіше нестача цинку для рослин виявляється на піщаних слабколужних або близьких до нейтральних і карбонатних ґрунтах, де вміст рухомих форм цього елемента у зв'язку з осадженням його у вигляді карбонатів досить незначний. На рухомість цинку і засвоюваність його рослинами впливають високі норми фосфорних добрив і вапна, низькі температури, низький вміст органічних речовин, кислотність

грунту на рівні рН 5,0-6,5 та оптимальний вміст іонів-синергістів – калію і молібдену.

Цинк має великий вплив на окислювально-відновні процеси в рослинному організмі, бере участь у синтезі гормону росту (ауксину), в утворенні АТФ, хлорофілу, елементів мінерального живлення, в поділі клітин, формуванні мітохондрій, прискорює проходження біосинтезу білка (амінокислот), виступає компонентом 40 дихальних ферментів, збільшує вміст аскорбінової кислоти, сухої речовини, впливає на процеси (живлення, транспортування речовин), на проникність мембран, прискорює темпи росту і розвитку, посилює процеси в репродуктивних органах (під час запліднення), підвищує стійкість до захворювань, посухо-, жаро-, морозостійкість у рослин. Цинк сприяє засвоєнню купруму, бору, зменшенню у ґрунтіферуму, калію, мангану, плумбуму, кадмію та регулює обмін фосфору [45, 66].

Недостатня кількість цинку часто спостерігається на нейтральних, і слаболужних карбонатних ґрунтах. Дефіцит цинку: недостатня кількості цинку в ґрунті – це найбільш поширене явище серед сільськогосподарських рослин в результаті порушується проникність мембран, знижується стійкість до хвороб, зменшуються кількісні показники урожайності та може призвести до загибелі культур. Показником цинкового голодування у бобових (квасоля, соя) є наявність хлорозу на листках, іноді асиметричний розвиток листкової пластинки. Надмірне живлення цинком призводить до змін структури листка.

Геохімічним особливостям поглинання важких металів із ґрунту рослинністю присвячені праці В. В. Ковальського, О. Л. Ковалевського, А. Кабати-Пендіас, В. В. Іванова, В. Б. Ільїна та ін. [39, 40, 41]. Особлива увага до такого роду досліджень викликана тим, що рослинний покрив є проміжною ланкою міграції важких металів із ґрунту в організм людини по трофічних ланцюгах.

Під час вивчення геохімічної екології рослин основна увага зосереджується на характері акумулювання хімічних елементів, зв'язках у системі: ґрунт–рослина, встановленні коефіцієнта біологічного

накопичення/поглинання (КБН/КБП), видовому різноманітті, морфологічних змінах рослин, питаннях резистентності рослин до хімічних сполук та токсикантів, а також на антагоністичних взаємодіях між макро- та мікроелементами. Поглинання поживних елементів залежить від ряду факторів: вмісту органічної речовини, механічного і мінералогічного складу ґрунту, температури, вологи, аерації, реакції і концентрації ґрунтового розчину, освітлення тощо. На поглинання поживних елементів впливає співвідношення їх у поживному середовищі. Для кожної рослини потрібно властиве їй співвідношення поживних елементів. У разі надлишку одного із потрібних рослині елементів, можливе підсилене поглинання інших (захисна реакція рослини). Іноколи навіть незначний надлишок одного із елементів призводить до різкого гальмування надходження інших елементів. Саме на цьому етапі живлення найбільш яскраво виявляється антагонізм і синергізм йонів. Явище синергізму і антагонізму у поглинанні елементів живлення може визначатися реакцією середовища, концентрацією і співвідношенням елементів у ґрунтовому розчині, температурою та іншими факторами. Залежно від вказаних умов, явища синергізму і антагонізму можуть переходити одне в інше [53, 72].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Фізико-географічна характеристика села Житне Роменського району Сумської області

Житне – село Роменського району Сумської області України. Населення становить 638 осіб. Орган місцевого самоврядування – Миколаївська сільська рада.

Село Житне розташоване в Лісостеповій зоні Лівобережної України, на правому березі річки Ромен. Вище за течією на відстані 1 км розташоване село Погреби, нижче за течією на відстані 2 км розташоване місто Ромни, на протилежному березі – село Миколаївка. На відстані 1 км розташовані села Овлаші і Москівщина. Поруч проходить залізниця, станція Житне.

Рельєф території села має хвилястий характер з розвиненою системою неглибоких ярків і байраків. Клімат села – помірно континентальний з теплим і вологим літом та м'якою і хмарною зимою. За даними багаторічних спостережень Роменської метеостанції, середньорічна температура повітря в Житному складає $6,7^{\circ}\text{C}$, з максимумом у липні ($+19,1^{\circ}\text{C}$), і мінімумом у січні ($-7,3^{\circ}\text{C}$). Глибина промерзання ґрунту досягає 1 м. Середньорічна кількість опадів перевищує 600 мм. Найчастіше рясні дощі випадають в червні – липні. Вологість повітря в середньому протягом року складає 78%.

Через село протікає річка Великий Ромен, яка впадає в Сулу. Направленість течії р. Ромен – з північного заходу на південний схід. Довжина річки – 111 км. Середня ширина русла – до 6 м. Глибина змінюється від 0,6 до 1,5 м. Русло заростає очеретом, особливо на території села. Дно річки глинисте, замулене. Навесні, під час повені рівень води в річці піднімається і деякі прилеглі території, на відстані до 100 метрів, затоплюються водою [29].

В селі Житному переважають мало-, середньогумусні та опідзолені чорноземи, що є одними з найпотужніших в Європі.

Мало- і середньогумусні ґрунти добре оструктурені, насичені гідроксидами кальцію і магнію. Реакція ґрунтового розчину нейтральна або слабокисла. Гумусовий шар досягає близько 85-100 см.

Опідзолені чорноземи розташовуються на водороздільних пониженнях, на пологих схилах і плоских вершинах низьких вододілів.

Відрізняються вони ясно вираженим сивим відтінком у забарвленні кремнеземистої присипки. Карбонати в опідзолених чорноземах вилужені глибоко, зазвичай знаходяться на глибині нижче 100 см. У них виражений шар вимивання - щільний, бурий, дрібногоріхуватої структури, розташований між нижньою межею перегнійного шару і верхньою межею карбонатного, що закипає від кислоти.

Механічний склад опідзолених чорноземів характеризується важкими суглинками. Вміст гумусу в горизонті опідзоленого чорнозему становить 11,6%. Вміст валового азоту пропорційний кількості гумусу і коливається в межах від 0,27% до 0,55% у гумусовому горизонті. Сума поглинених основ у верхньому горизонті висока. Донизу її величина поступово падає. Серед поглинених основ на частку кальцію припадає 85-89%. Реакція ґрунтового розчину близька до нейтральної, рН = 5,8–6.

Розміщення таких типів ґрунтів має добре виражений зональний характер. Вони мають досить гарну структурну будову [29].

2.2. Еколого-географічна характеристика пасовищ села Житне Роменського району Сумської області

Дослідження проведене на двох пасовищах села Житне, що знаходяться на відстані 1,4 км одне від одного, пасовище №1 – на західному боці села, пасовище №2 – на східному (див. рис. 2.1).

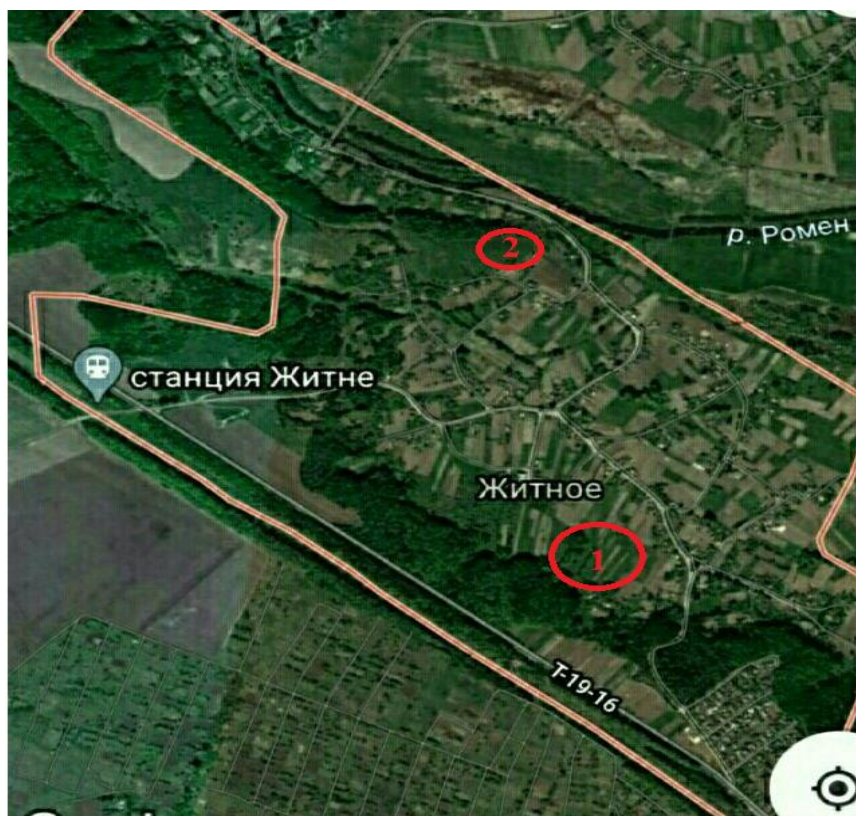


Рис. 2.1 Картосхема села Житне (червоним позначено місцезнаходження пасовищ)

Площа пасовища №1 – 6 га, площа пасовища №2 – 2 га.

Пасовище №1 – це рівнинні суходільні луки, що утворилася на місці колишньої лісової вирубки. Освітленість території пасовища – достатньо висока, вологість ґрунту помірна.

Територія пасовища характеризується відносно слабким травостоем. Видами-домінантами у фітоценозі пасовища є: молочай польовий (*Euphorbia agraria*), осот польовий (*Cirsium arvense*), подорожник великий (*Plantago major*), лопух великий (*Arctium lappa*), спориш звичайний (*Polygonum aviculare*), конюшина лучна (*Trifolium pratense*), перстач гусячий (*Argentina anserine*), вероніка лікарська (*Veronica officinalis*), деревій звичайний (*Achillea millefolium*) та стоколос польовий (*Bromus arvensis*).

На значній площі території пасовища вже багато років випасається велика рогата худоба.

Пасовище №2 – заплавні луки, що знаходяться в долині річки Великий Ромен. Освітленість території менша через наявність дерев та кущів. Вологість ґрунту пасовища – висока.

Територія пасовища характеризується високим травостоем з чітко помітною ярусністю. Рослинами-домінантами у фітоценозі пасовища є рихлокущові злаки тимофіївка лучна (*Phleum pratense*) та лисохвіст лучний (*Alopecurus pratensis*). У фітоценозі пасовища також присутні: осока низька (*Carex humilis*), цикорій дикий (*Cichorium intybus*), перстач гусячий (*Argentina anserine*), деревій звичайний (*Achillea millefolium*), стенактис однорічний (*Erigeron annuus*), чебрець повзучий (*Thymus serpyllum*), стоколос польовий (*Bromus arvensis*), парило звичайне (*Agrimonia eupatoria*), королиця звичайна (*Leucanthemum vulgare*), конюшина звичайна (*Trifolium pratense*), жовтець їдкий (*Ranunculus acris*), лопух великий (*Arctium lappa*).

2.3. Методика збору рослинного матеріалу, ідентифікації фенотипів і генотипів, розрахунку статистичних показників морфогенетичної мінливості *Trifolium repens* L.

На території кожного пасовища обстежувалися рандомізовані ділянки розміром 2х3 м з покриттям *Trifolium repens* L. до 100% . На території пасовища № 1 обстежено 19 ділянок, на території пасовища № 2 – 14 ділянок.

Збір рослинного матеріалу (листоків) для дослідження проводився у другій декаді червня 2021 року, у період максимального розвитку вегетативної частини та масового цвітіння рослин. Збирання листків здійснювати так, щоб з однієї рослини (або куртини, що може бути клоном, тобто потомством однієї рослини, що розмножилася вегетативно), брати лише 1 листок. Для цього збирали листки на відстані не менше 5-ти кроків від місця попереднього збору [61].

Загальний об'єм вибірки з усіх рандомізованих ділянок кожної території дослідження становив 500 листків, загалом у ході дослідження було зібрано і

вивчено 1000 листків.

Для ідентифікації малюнків «сивої» плями на листках *Trifolium repens* L. (фенотипів і генотипів) використовували методику І.Т. Папонової (1982) та П.Я. Шварцмана (1986) (див. табл. 2.1), порівнюючи малюнки плям на зібраних листках з малюнками, зображеними у табл. Дж. Л. Брюбейкера [11, 80] (див.рис. 2.1). У ній представлені 8 алелів гену *V* та 36 варіантів їх взаємодії у генотипі (компаунді). Як видно, різні алелі у компаунді виявляють повне домінування, але, частіше, кодомінування. Окремо фіксувалися рослини з атипичною кількістю листків та з атипичною формою листкової пластинки.

Зустрічальність різних фенотипів та генотипів розраховували як частку листків певного фенотипу/генотипу у вибірці, зробленій з певної досліджуваної території, що виражалася у відсотках [1].

Похибка репрезентативності (m) розраховувалася за формулою (2.1):

$$m = \sqrt{\frac{pq}{n}} \quad (2.1)$$

де p – зустрічальність фенотипу/генотипу, $q = 100 - p$.

Таблиця 2.1

Генетична детермінація різноманітних форм «сивої» плями на листку *Trifolium repens* L. (за П.Я. Шварцманом, 1996)

Алель	Фенотип	Позначення фена
v	Пляма відсутня	O
V	Повна пляма	A
V^H	Повна пляма, висока	A^H
V^B	Розірвана пляма	B
V^{BH}	Розірвана пляма, висока	B^H
V^P	Центральна верхня точка	C
V^F	Велика суцільна пляма в основі	D
V^S	Низька трикутна пляма в основі	E




































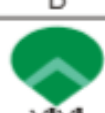
	1 v	2 V	3 V ^m	4 V ^e	5 V ^h	6 V ^r	7 V ^s	8 V ^z
1 v	 vv 0	 Vv A	 V ^m v A ^m	 V ^e v B	 V ^h v B ^h	 V ^r v C	 V ^s v D	 V ^z v E
2 V		 VV A	 V ^m V A ^m A	 V ^e V A(B)	 V ^h V AB ^h	 V ^r V A(C)	 V ^s V (A)D	 V ^z V AE
3 V ^m			 V ^m V ^m A ^m	 V ^m V ^e A ^m	 V ^m V ^h A ^m (B ^h)	 V ^m V ^r A ^m C	 V ^m V ^s A ^m D	 V ^m V ^z A ^m E
4 V ^e				 V ^e V ^e B	 V ^e V ^h BB ^h	 V ^e V ^r B	 V ^e V ^s BD	 V ^e V ^z BE
5 V ^h					 V ^h V ^h B ^h	 V ^h V ^r B ^h C	 V ^h V ^s B ^h D	 V ^h V ^z B ^h E
6 V ^r						 V ^r V ^r C	 V ^r V ^s D	 V ^r V ^z CE
7 V ^s							 V ^s V ^s D	 V ^s V ^z D
8 V ^z								 V ^z V ^z E

Рис. 2.2. Фенотипи і генотипи за алелями гену *V*, що визначає малюнок «сивої» плями на листку *Trifolium repens* L. (за Дж. Л. Брюбейкером, 1955 р.) [11]

Індекс співвідношення фенів (ІСФ) – сумарну частоту зустрічальності всіх фенотипів з малюнком у відсотках, розраховували за формулою (2.2):

$$\text{ІСФ} = 100 \times (n_2 + n_3 + nn) / N (\%) \quad (2.2)$$

де n_1 – число рослин без малюнку, n_2 , n_3 , n_p – число рослин з певним малюнком, N – загальна кількість всіх обстежених куртин конюшини на пробній ділянці.

2.4. Методика визначення умісту феруму, мангану, купруму та цинку у ґрунті пасовищ та листках *Trifolium repens* L.

Дослідження ґрунту та листків *Trifolium repens* L. на уміст феруму, мангану, купруму та цинку проводили згідно із рекомендованими методиками [20, 22, 32].

Ґрунтозразки відбирали у другій декаді червня 2021 року вранці в один і той самий час за сонячної сухої погоди (щоб вони були максимально сухими) з рандомізованих площадок кожного пасовища у поліетиленові пакети по 800-900 г з глибини 20 см відповідно до методики, рекомендованої нормативними документами [20, 22, 32, 52]. З відібраних зразків готували середню пробу масою 1 кг, видаляли залишки рослин, подрібнювали вручну, висушували до повітряно-сухого стану у приміщенні, яке добре провітрювалося, зберігали у паперовому пакеті.

Уміст феруму, мангану, купруму та цинку визначали у середній пробі у лабораторії Центру сучасних досліджень ґрунту ТОВ «СІЕЙТІ». Масову частку феруму, мангану, купруму та цинку визначали за «Методикою ДСТУ ISO 14870-2005 Якість ґрунту. Екстрагування слідів елементів буферним розчином ДТПО (ISO 14870-2001, IDT) (вилучення)» та «Методикою ДСТУ ISO 22036-2014 Якість ґрунту» з використанням атомно-емісійної спектрометрії індуктивно-зв'язаної плазми (ICP-AES) (визначення)» [52]. Метод полягає у вилученні рухомої форми йонів феруму, мангану, купруму та цинку з ґрунту ацетатно-амонійним буферним розчином з рН = 4,8. До розчину, при цьому, переходить частина обмінних катйонів, відбувається гідроліз сполук, утворюються ацетатні або амонійні комплексні сполуки. Завдяки високій буферній ємності цього розчину реакція середовища під час вилучення важких

металів із різних ґрунтів залишається стабільною. Визначення на спектрофотометрі після атомізації проби в повітряно-ацетиленовому полум'ї ґрунтується на властивості атомів у основному стані поглинати світло визначених і специфічних для кожного типу атомів довжин хвиль.

Відбір рослинних зразків (листіків) проводився паралельно з відбором проб ґрунту у поліетиленові зіп-пакети з відповідними етикетками по 20 листків. У такому вигляді зразки доставлялися до лабораторії, де висушувалися до повітряно-сухого стану. Повітряно-сухі зразки озолювалися за температури 450°C, з дотриманням технології спалювання з метою попередження втрат елементів. Одержана зола після зважування розчинялася розведеною HNO₃. Уміст феруму, мангану, купруму та цинку у листках визначали атомно-абсорбційним методом за допомогою ICP-AES аналізатора.

2.5. Методика вивчення біогенної міграції феруму, мангану, купруму, цинку та біогеохімічних особливостей різних фенотипів *Trifolium repens* L.

Для характеристики біогенної міграції феруму, мангану, купруму, цинку та біогеохімічних особливостей різних фенотипів *Trifolium repens* L. застосовували методики розроблені І. А. Авессаломовою [2].

Кількісну оцінку надходження елементів з ґрунту в листки проводили розраховуючи коефіцієнт біологічного накопичення (КБН), який визначається співвідношенням вмісту металу в одиниці маси акцептора (листіків в перерахунку на їх суху масу) і донора (ґрунту) за формулою (2.3):

$$\text{КБН} = \text{СР} / \text{СГ}, \quad (2.3)$$

де КБН – коефіцієнт біологічного накопичення; СР – уміст металу в листках, мг/кг; СГ – уміст металу в ґрунтовому покриві, мг/кг.

Для групування важких металів у рядах за інтенсивністю біологічного поглинання використовується п'ять градацій [2]:

1. Елементи біологічного накопичення (КБН > 1):

- I група – КБН – 10n і більше – елементи енергійного накопичення;
- II група – КБН – 10 – n – елементи сильного накопичення.

2. Елементи біологічного захвату (КБН < 1):

- III група – КБН – 0, n – елементи слабкого накопичення і середнього захвату;
- IV група – КБН – 0, 0n – елементи слабкого захвату;
- V група – КБН – 0, 00n і менше – елементи дуже слабкого захвату.

На підставі отриманих даних про коефіцієнти біологічного накопичення для кількісного вираження загальної здатності різних фенотипів до концентрації рухомих форм важких металів (*Fe*, *Mn*, *Cu*, *Zn*) розраховували показник біогеохімічної активності (БХА) досліджуваних фенотипів, який характеризує сумарний ступінь накопичення вказаних металів листками фенотипу, тобто на скільки активно листки фенотипу поглинають рухомі форми вказаних металів з ґрунту (2.4):

$$\text{БХА (фенотипу)} = \text{КБН } Fe + \text{КБН } Mn + \text{КБН } Cu + \text{КБН } Zn, \quad (2.4)$$

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили із застосуванням пакету програм MS Excel 2010 та програмних пакетів Statistica: Basis Statistic and Tables.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Різноманітність фенотипів та генотипів *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на пасовищах села Житне Роменського району Сумської області

Всього у загальній вибірці рослин *Trifolium repens* L., зібраних у фітоценозах двох пасовищ села Житне, виявлено 16 фенотипів, зокрема 7 – з атипичною формою листкової пластинки у формі «чотирилистника» та «п'ятилистника» (див. рис. 3.1).



O



A

A^HB^H

C

B^HD

E

B^HCA^HA

Продовження рис. 3.1



Атипічна форма
листкової пластинки
(чотирилистник)
фенотипу O



Атипічна форма
листкової пластинки
(чотирилистник)
фенотипу A



Атипічна форма
листкової пластинки
(чотирилистник)
фенотипу A^H



Атипічна форма
листкової пластинки
(чотирилистник)
фенотипу B^H



Атипічна форма
листкової пластинки
(п'ятилистник)
фенотипу O



Атипічна форма
листкової пластинки
(п'ятилистник)
фенотипу A^H



Атипічна форма
листкової пластинки
(п'ятилистник)
фенотипу B^H

Рис. 3.1. Фенотипи *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої плями» на листку, виявлені на пасовищах села Житне

У загальній вибірці рослин *Trifolium repens* L., зібраних у фітоценозі Пасовища №1, присутні 16 фенотипів, у фітоценозі Пасовища №2 – 7 фенотипів (див. табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Частота різних фенотипів і генотипів *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на пасовищах села Житне

Фенотип	Генотип	Пасовище №1	Пасовище №2
<i>O</i>	Vv	19± 0,70	22,6± 0,74
<i>A</i>	VV, Vv	17,4± 0,69	18,2± 0,70
A^H	$V^H V^H, V^H V^B$	23,8± 0,74	11,8± 0,60
B^H	$V^{Bh} V^{Bh}$	21,2± 0,73	25,2± 0,75
<i>C</i>	$V^P V^P, V^P v$	8,4± 0,53	21,2± 0,73
$B^H D$	$V^F V^F$	0,8± 0,18	–
<i>E</i>	$V^S V^S$	1,4± 0,28	–
$B^H C$	$V^h V^h$	2,8± 0,33	–
Атипічна форма <i>O</i> (чотирилистник)	Vv	1,6± 0,25	0,6± 0,15
Атипічна форма <i>A</i> (чотирилистник)	VV, Vv	1,2± 0,22	0,4± 0,13
Атипічна форма A^H (чотирилистник)	$V^H V^H, V^H V^B$	0,4± 0,13	–
Атипічна форма B^H (чотирилистник)	$V^{Bh} V^{Bh}$	0,2± 0,09	–
Атипічна форма <i>O</i> (п'ятилистник)	Vv	0,4± 0,13	–
Атипічна форма A^H (п'ятилистник)	$V^H V^H, V^H V^B$	0,2± 0,09	–
Атипічна форма B^H (п'ятилистник)	$V^{Bh} V^{Bh}$	0,6± 0,15	–
$A^H A$	$V^H V$	0,6± 0,15	–

Чотири фенотипи (O , A , A^H , B^H) на Пасовищі №1 мали як нормальну, так і атипічну форму листка (чотирилистник та п'ятилистник). На Пасовищі №2 атипічна форма листка (чотирилистник) виявлена лише серед рослин двох фенотипів (O та A).

Фенотипи Пасовища №1 відповідали 11-ти генотипам, сформованим серією з 9-ти алелів гену, що контролює наявність та форму «сивої» плями на листку: v , V , V^H , V^B , V^{Bh} , V^P , V^F , V^S , V^h . Фенотипи Пасовища №2 були результатом дії 6-ти алелів: v , V , V^H , V^B , V^{Bh} , V^P , та 7-ми генотипів.

На території Пасовища №1 серед 16-ти фенотипів найчастіше зустрічався фенотип A^H , на другому місці за частотою був фенотип B^H , на третьому – O , четверте та п'яте місце займали фенотипи A та C відповідно. Рідше за інші зустрічалися фенотипи B^HC , E та B^HD .

З найменшою частотою на Пасовищі №1 зустрічалась атипічна форма B^H (чотирилистник) та атипічна форма A^H (п'ятилистник).

На Пасовищі №2 серед 7-ми фенотипів найчастіше зустрічалися рослини *Trifolium repens* L. з фенотипом B^H , друге місце за частотою займав дикий фенотип O , третє – C , четверте – A , п'яте – A^H . Найменшою серед усіх фенотипів, виявлених на території даного пасовища, була частка атипічних форм листкової пластинки фенотипу O (чотирилистник) та фенотипу A (чотирилистник).

Частота інших фенотипів дещо відрізнялася для обох територій. Значною була відмінність за частотою фенотипів C та A^H . На Пасовищі №2 фенотипу було більше, ніж на Пасовищі №1 майже у 2,5 рази, на Пасовищі №1 фенотипу A^H було більше, ніж на Пасовищі №2 у 2 рази.

На території Пасовища №1 виявлені оригінальні фенотипи, тобто такі, що не зустрічалися на Пасовищі №2, серед них: атипічна форма листкової пластинки з фенотипами A^H та B^H (чотирилистники), фенотип E , B^HD , B^HC , A^HA , атипічна форма листкової пластинки з фенотипами O , A^H , та B^H (п'ятилистники).

У фітоценозах обох пасовищ виявлені «дикі» фенотипи: *O* (без плями) та *A* (повна Λ -подібна пляма) (див. табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Частка (%) «диких» і «мутантних» фенотипів *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на пасовищах села Житне

№	Територія	«Дикі» фенотипи			«Мутантні» фенотипи
		O	A	Разом	
1	Пасовище №1	19	17,4	36,4	63,6
2	Пасовище №2	22,6	18,2	40,8	59,2

За частотою у вибірці з фітоценозу Пасовища №1 частка фенотипу *O* перевищувала частку фенотипу *A*. У вибірці з фітоценозу Пасовища №2 за частотою також переважав дикий фенотип *O*. Зустрічальність обох диких фенотипів на Пасовищі №2 була дещо вищою, ніж на Пасовищі №1.

У вибірках з обох пасовищ частота «мутантних» фенотипів була у більш, ніж у 1,5 рази вищою за частоту «диких».

Сумарна зустрічальність всіх фенотипів *Trifolium repens* L. з малюнком була в 1,3 рази вищою на Пасовищі №1 (див. рис. 3.2).

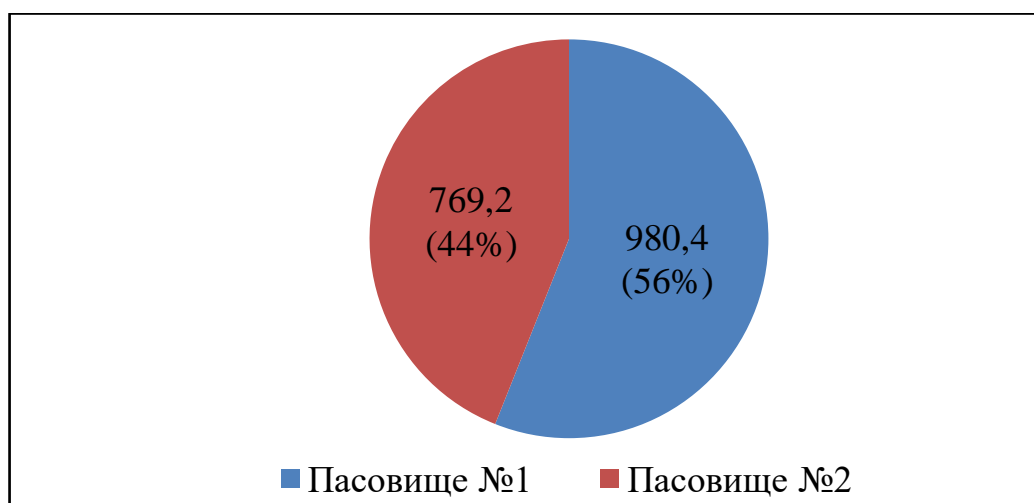


Рис. 3.2 Індеси співвідношення фенотипів з малюнком на пасовищах села Житне

3.2. Біогеохімічні особливості різних фенотипів *Trifolium repens* L., виявлених на пасовищах села Житне

З метою вивчення акумуляції з ґрунту есенціальних мікроелементів, що вважаються «важкими металами», як можливих чинників клітинно-організменної мінливості *Trifolium repens* L., нами було визначено та проаналізовано уміст феруму, мангану, купруму та цинку у ґрунті пасовищ та листках фенотипів *Trifolium repens* L., що були спільними для фенотипічної структури локальних популяцій обох пасовищ. Результати представлені у табл. 3.3–3.4.

Дослідження умісту рухомих форм зазначених елементів у зразках ґрунту, відібраних на обох пасовищах, показали, що їх уміст значно нижчий за уміст за Виноградським (для феруму – не існує, для мангану – 850 мг/кг, для цинку – 50 мг/кг, для купруму – 20 мг/кг), за регіональним умістом для Лісостепу України (для феруму – не існує, для мангану – 735, 240–3000 мг/кг, для цинку – 52, 20–90 мг/кг, для купруму – 20, 10–48 мг/кг), за ГДК (для феруму – не існує, для мангану – 700 мг/кг, для цинку – 23 мг/кг, для купруму – 3 мг/кг) (див. табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Уміст рухомих форм (мг/кг) феруму (*Fe*), мангану (*Mn*), цинку (*Zn*) та купруму (*Cu*) у ґрунті пасовищ села Житне

Елемент	Пасовище №1	Пасовище №2
<i>Fe</i>	40,9	79,1
<i>Mn</i>	2,6	3,1
<i>Zn</i>	3,1	4,8
<i>Cu</i>	1,29	1,19

Уміст рухомих форм феруму у ґрунті Пасовища №2 був вищим, ніж у ґрунті Пасовища №1 майже у 2 рази. Уміст рухомих форм мангану та цинку у

ґрунті Пасовища №2 був дещо вищим, ніж у ґрунті Пасовища №1. Це може пояснюватися тим, що рН ґрунту Пасовища №1 становить 7,2 (вища кислотність), а Пасовища №2 – 7,6 (нижча кислотність), вологість ґрунту Пасовища №1 – помірна, Пасовища №2 – висока. Разом з тим, уміст рухомих форм купруму в ґрунті Пасовища №1 був дещо вищим, ніж у ґрунті Пасовища №2.

Для обох пасовищ ряд накопичення досліджуваних елементів у ґрунті має такий вигляд: *Cu* (купрум) < *Mn* (манган) < *Zn* (цинк) < *Fe* (ферум).

Як відомо, зазвичай, концентрація феруму у ґрунтових розчинах за звичайних рівнів рН змінюється від 30 до 550 мкг/л. У чорноземі звичайному малогумусному феруму рухомих сполук виявляли на рівні 27,6 мг/кг ґрунту [23]. Поведінка мангану в ґрунтах досить складна і залежить від багатьох чинників головними з яких є: рівень кислотності та оксидаційно-відновний потенціал. Підвищення кислотності ґрунту та обмежений доступ у ґрунтові шари атмосферного кисню, висока вологість сприяють швидкій розчинності ґрунтового мангану, в результаті чого він стає рухливим. Водночас, оксидаційний манган стає недоступним для багатьох культур [13]. Цинк є найбільш розчинним елементом у ґрунті. З гумусом цей елемент утворює стійкі сполуки. Адсорбція цинку ґрунтом залежить від рН. У лужному середовищі цинк адсорбується за механізмом хемосорбції, а у кислому середовищі відбувається катйонно-обмінне поглинання. Якнайповніше цинк адсорбується оксидами заліза. Встановлено високий зв'язок цинку із умістом заліза [3].

У ґрунтах купрум переважно міститься у валовій формі і є малорухомим елементом. Основна частина купруму у ґрунтах пов'язана з оксидами феруму і мангану. Причому купрум тісніше асоціюється з манганом, ніж із ферумом. За лужної реакції середовища спостерігають найменшу розчинність купруму [4, 27].

Оцінюючи уміст рухомих форм металів (феруму, мангану, купруму та цинку у ґрунті ми встановили особливості їх накопичення у листках різних

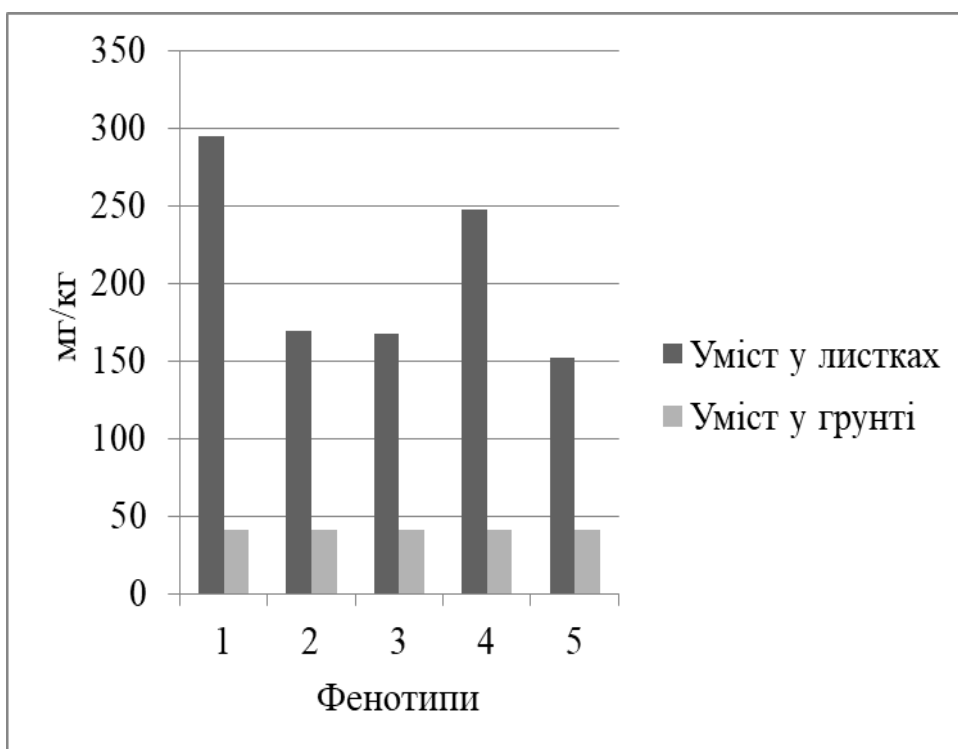
фенотипів *Trifolium repens* L., що зустрічалися на обох пасовищах (див. табл. 3.4).

Таблиця 3.4

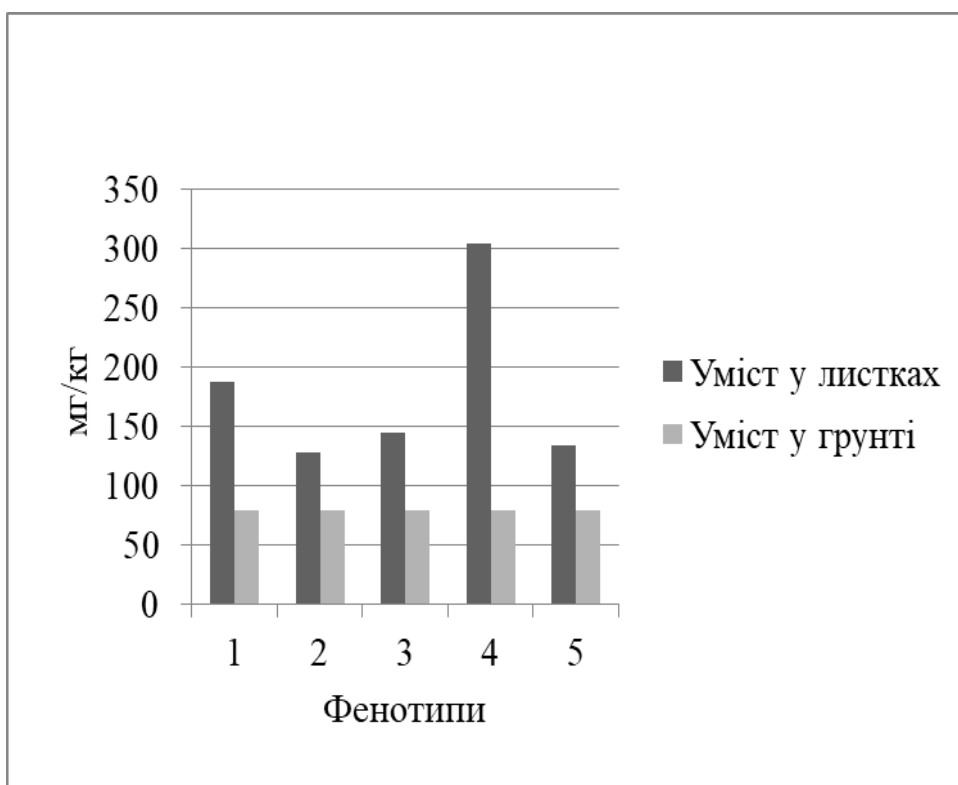
Уміст (мг/кг) феруму (*Fe*), мангану (*Mn*), цинку (*Zn*) та купруму (*Cu*) у листках фенотипів *Trifolium repens* L., виявлених на пасовищах села Житне

Елемент	Пасовище №1				
	Пасовище №2				
	<i>O</i>	<i>A</i>	<i>A^H</i>	<i>B^H</i>	<i>C</i>
<i>Fe</i>	294,9	169,3	167,9	247,3	152,3
	187,2	128,2	144,6	304,5	134,2
<i>Mn</i>	45,1	11,8	15,9	61,4	19,5
	47,0	36,3	36,2	40,6	39,8
<i>Zn</i>	219,7	208,3	507,2	313,7	84,3
	16,9	0,05	1,91	46,62	3,28
<i>Cu</i>	37,8	13,9	8,5	28,8	6,5
	8,28	7,61	9,65	14,34	9,31

На рис. 3.3–3.6 представлені концентраційні значення умісту феруму, мангану, купруму та цинку в системі ґрунт-рослина для обох пасовищ, що розташовуються в селі Житне.

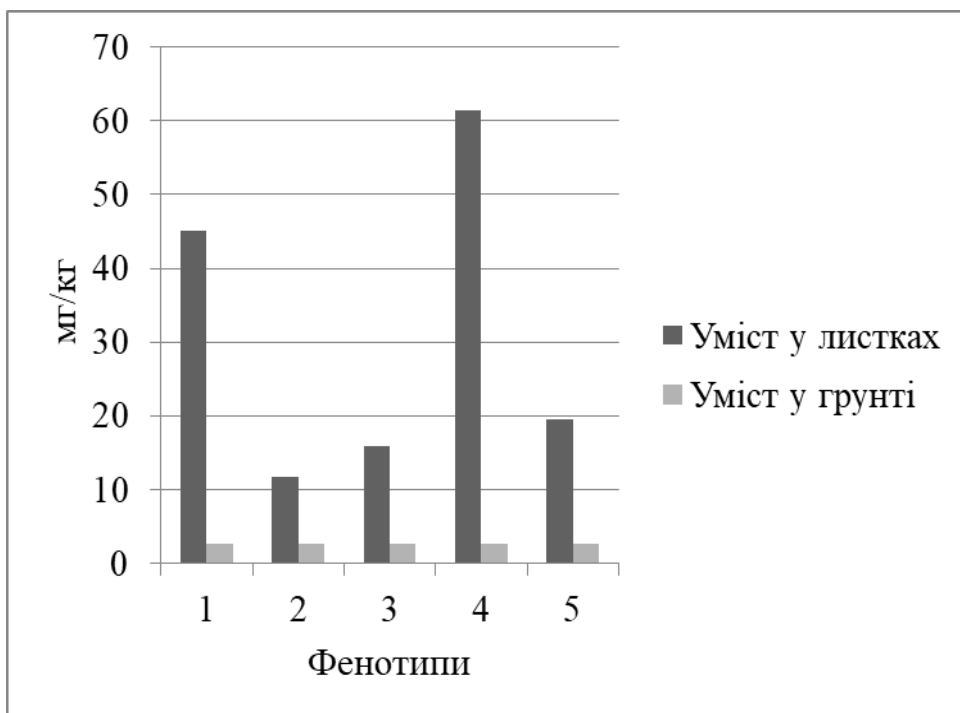


Пасовище №1

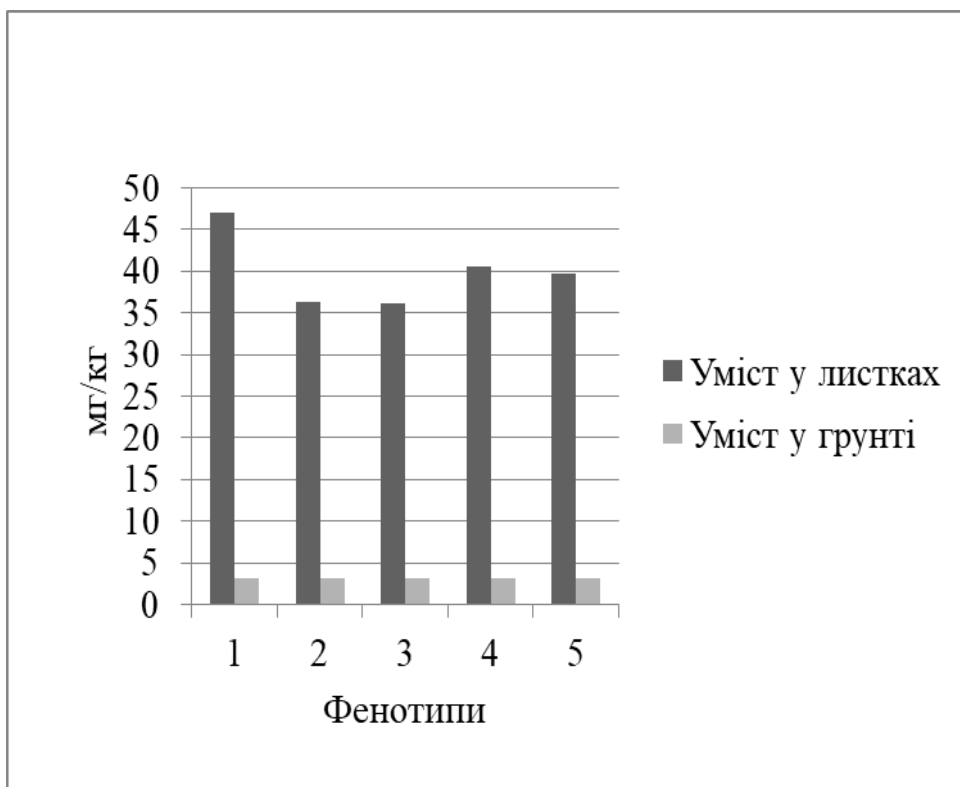


Пасовище №2

Рис. 3.3 Концентраційне значення умісту феруму в системі ґрунт-рослина на пасовищах села Житне для фенотипів: *O* (1), *A* (2), *A^H*(3), *B^H*(4), *C* (5)

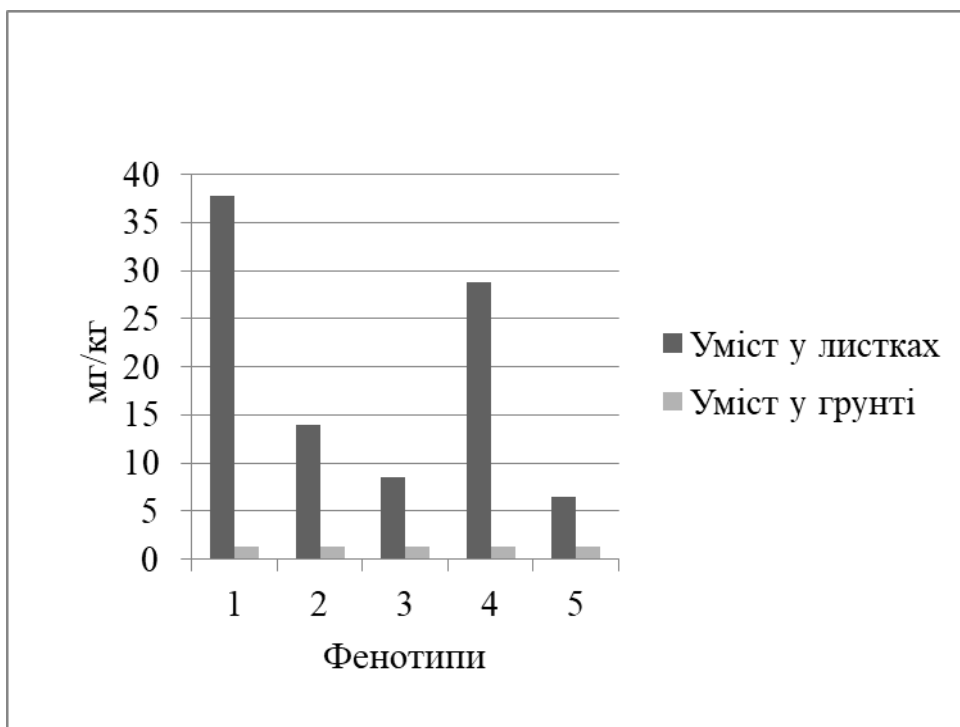


Пасовище №1

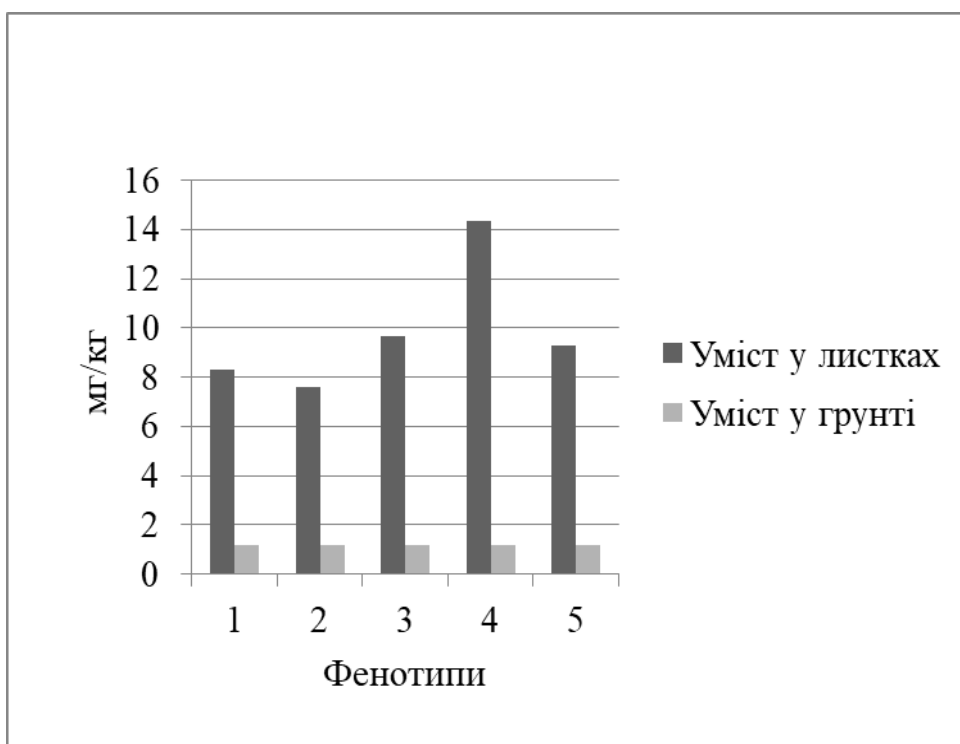


Пасовище №2

Рис. 3.4 Концентраційне значення умісту мангану в системі ґрунт-рослина на пасовищах села Житне для фенотипів: *O* (1), *A* (2), *A^H* (3), *B^H* (4), *C* (5)

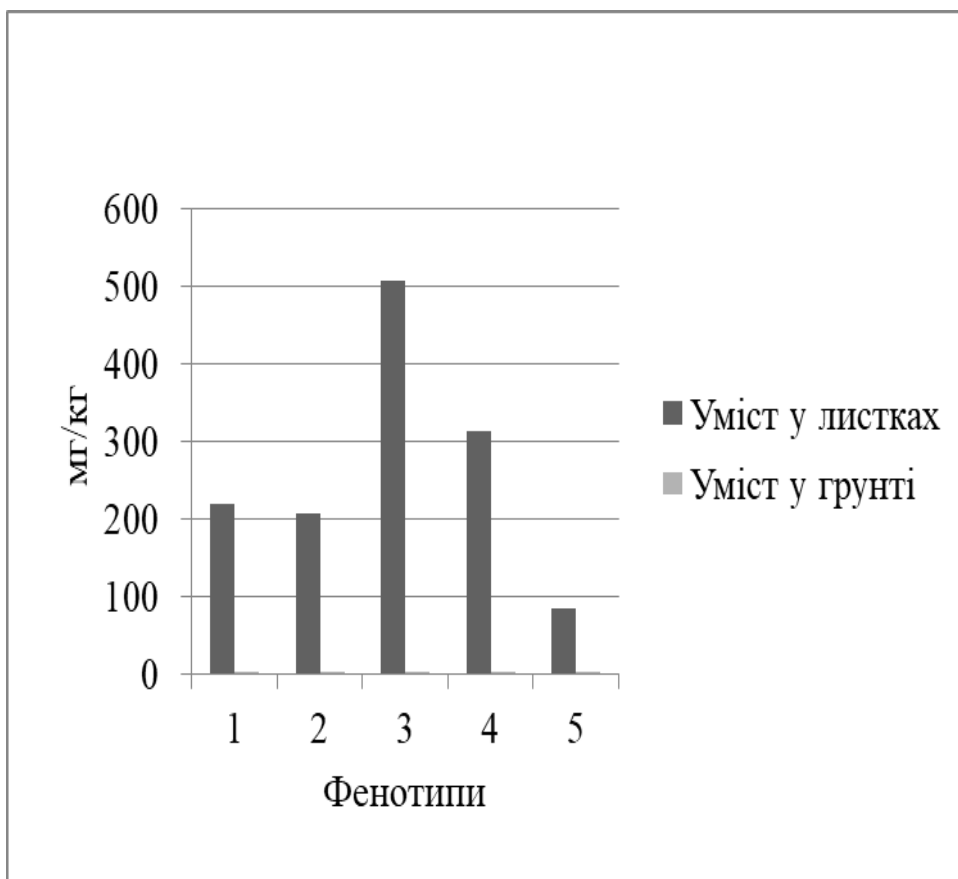


Пасовище №1

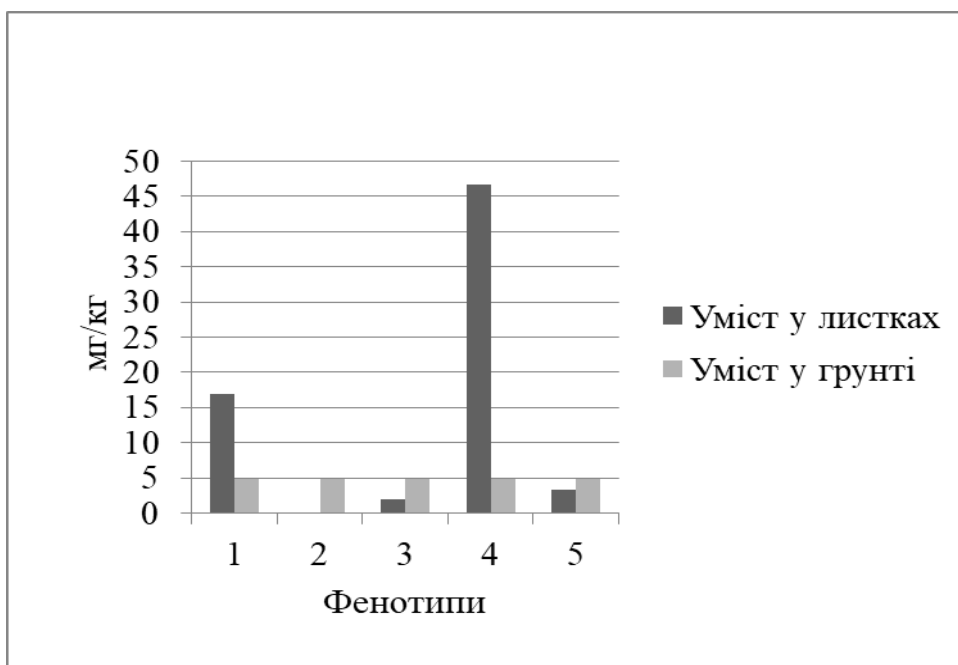


Пасовище №2

Рис. 3.5 Концентраційне значення умісту купруму в системі ґрунт-рослина на пасовищах села Житне для фенотипів: *O* (1), *A* (2), *A^H* (3), *B^H* (4), *C* (5)



Пасовище №1



Пасовище №2

Рис. 3.6 Концентраційне значення умісту цинку в системі ґрунт-рослина на пасовищах села Житне для фенотипів: *O* (1), *A* (2), *A^H* (3), *B^H*(4), *C* (5)

Загалом, особливості акумуляції досліджених елементів у досліджених фенотипах для обох пасовищ можна відобразити у наступних низхідних рядах (див. табл. 3.5):

Таблиця 3.5

Низхідні ряди накопичення феруму (*Fe*), мангану (*Mn*), цинку (*Zn*) та купруму (*Cu*) у листках фенотипів *Trifolium repens* L., виявлених на пасовищах села Житне

Фенотип	Пасовище №1	Пасовище №2
<i>O</i>	$Fe > Zn > Mn > Cu$	$Fe > Mn > Zn > Cu$
<i>A</i>	$Zn > Fe > Cu > Mn$	$Fe > Mn > Cu > Zn$
<i>A^H</i>	$Zn > Fe > Mn > Cu$	$Fe > Mn > Cu > Zn$
<i>B^H</i>	$Zn > Fe > Mn > Cu$	$Fe > Zn > Mn > Cu$
<i>C</i>	$Fe > Zn > Mn > Cu$	$Fe > Mn > Cu > Zn$

Для феруму, мангану та купруму для усіх досліджених фенотипів обох пасовищ характерний акумулятивний тип поглинання. До прикладу, за значень *Fe* у ґрунті пасовищ 40,9 та 79,1 мг/кг, середній уміст у листках фенотипу *O* становив 241,5 мг/кг; за значень *Mn* у ґрунті пасовищ 2,6 та 3,1 мг/кг середній уміст у листках фенотипу *O* становив 46,05 мг/кг; за значень *Cu* у ґрунті пасовищ 1,29 та 1,19 мг/кг середній уміст у листках фенотипу *O* становив 23,04 мг/кг. Щодо цинку, то для усіх досліджених фенотипів Пасовища №1 та фенотипів *O* та *B^H* Пасовища №2 характерний акумулятивний тип поглинання цього елементу, а для фенотипів *A*, *A^H*, *C* Пасовища №2 – бар'єрний.

Результати кількісної оцінки надходження феруму, мангану, цинку та купруму з ґрунту пасовищ в листки різних фенотипів та загальної здатності різних фенотипів до концентрації рухомих форм феруму, мангану, цинку та купруму представлені у табл. 3.6–3.7.

Таблиця 3.6

Біогеохімічна активність фенотипів *Trifolium repens* L. на Пасовищі №1

Фенотип	Показник	Елемент				БХА
		<i>Fe</i>	<i>Mn</i>	<i>Zn</i>	<i>Cu</i>	
<i>O</i>	уміст у листках, мг/кг	294,9	45,1	219,70	37,80	124,72
	уміст у ґрунті, мг/кг	40,9	2,6	3,10	1,29	
	КБН	7,21	17,34	70,87	29,30	
<i>A</i>	уміст у листках, мг/кг	169,3	11,8	208,30	13,90	86,55
	уміст у ґрунті, мг/кг	40,9	2,6	3,10	1,29	
	КБН	4,13	4,53	67,19	10,7	
<i>A^H</i>	уміст у листках, мг/кг	167,9	15,9	507,20	8,50	180,39
	уміст у ґрунті, мг/кг	40,9	2,6	3,10	1,29	
	КБН	4,10	6,11	163,6	6,58	
<i>B^H</i>	уміст у листках, мг/кг	247,3	61,4	313,70	28,80	153,15
	уміст у ґрунті, мг/кг	40,9	2,6	3,10	1,29	
	КБН	6,04	23,6	101,19	22,32	
<i>C</i>	уміст у листках, мг/кг	152,3	19,5	84,30	6,50	43,44
	уміст у ґрунті, мг/кг	40,9	2,6	3,10	1,29	
	КБН	3,72	7,5	27,19	5,03	

Таблиця 3.7

Біогеохімічна активність фенотипів *Trifolium repens* L. на Пасовищі №2

Фенотип	Показник	Елемент				БХА
		<i>Fe</i>	<i>Mn</i>	<i>Zn</i>	<i>Cu</i>	
<i>O</i>	уміст у листках, мг/кг	187,2	47,0	16,9	8,28	27,99
	уміст у ґрунті, мг/кг	79,1	3,1	4,8	1,19	
	КБН	2,36	15,16	3,52	6,95	
<i>A</i>	уміст у листках, мг/кг	128,2	36,3	0,05	7,61	19,72
	уміст у ґрунті, мг/кг	79,1	3,1	4,8	1,19	
	КБН	1,62	11,7	0,01	6,39	
<i>A^H</i>	уміст у листках, мг/кг	144,6	36,2	1,91	9,65	22,02
	уміст у ґрунті, мг/кг	79,1	3,1	4,8	1,19	
	КБН	1,82	11,7	0,4	8,1	
<i>B^H</i>	уміст у листках, мг/кг	304,5	40,6	46,62	14,34	38,5
	уміст у ґрунті, мг/кг	79,1	3,1	4,8	1,19	
	КБН	3,85	13,09	9,71	12,05	
<i>C</i>	уміст у листках, мг/кг	134,2	39,8	3,28	9,31	23,04
	уміст у ґрунті, мг/кг	79,1	3,1	4,8	1,19	
	КБН	1,7	12,84	0,68	7,82	

З даних табл. 3.6–3.7 видно, що не зважаючи на істотну мінливість накопичення досліджуваних елементів у листках досліджуваних фенотипів, їх біоаккумуляція має певну тенденцію (див. табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Низхідні ряди значень КБН феруму (*Fe*), мангану (*Mn*), цинку (*Zn*) та купруму (*Cu*) у листках фенотипів *Trifolium repens* L., виявлених на пасовищах села Житне

Фенотип	Пасовище №1	Пасовище №2
<i>O</i>	Zn > Cu > Mn > Fe	Mn > Cu > Zn > Fe
<i>A</i>	Zn > Cu > Mn > Fe	Mn > Cu > Fe > Zn
<i>A^H</i>	Zn > Cu > Mn > Fe	Mn > Cu > Fe > Zn
<i>B^H</i>	Zn > Mn > Cu > Fe	Mn > Cu > Zn > Fe
<i>C</i>	Zn > Mn > Cu > Fe	Mn > Cu > Fe > Zn

На Пасовищі №1 усі досліджені фенотипи найбільш інтенсивно поглинають з ґрунту цинк, найменш інтенсивно – ферум. Для фенотипів *O*, *A*, *A^H* на другому і третьому місці відповідно за інтенсивністю накопичення знаходиться купрум та манган. І це узгоджується з літературними даними, щодо того, що *Zn*, *Cu* – елементи середнього ступеня накопичення, *Mn* – слабкого накопичення, *Fe* – елемент, важкодоступний рослинам [3, 36, 73]. Крім того, відомо, що *Zn* – антагоніст *Cu*, а *Mn–Fe* та *Zn* [62].

В той же час, для фенотипів *B^H* та *C* на Пасовищі №1 на другому місці за інтенсивністю накопичення манган, на третьому – купрум.

Звертає на себе увагу й те, що значення КБН цинку для усіх досліджених фенотипів Пасовища №1 було на порядок, і навіть на порядки вищими, ніж значення КБН для інших елементів. Ймовірно, це пояснюється, тим, що цинк є незамінним елементом – біофілом, який входить до складу активних центрів багатьох ферментів, що відповідають за процес формування генеративних

органів і утворення плодів. Вважається, що це є наслідком еволюційних процесів у рослин, які спочатку росли на бідних з доступним цинком ґрунтах, і тому при постійній потребі в цьому мікроелементі захисні реакції не виявляються, або відсутні зовсім [5].

На Пасовищі №1 порівняно з іншими досліджуваними фенотипами фенотип *O* значно інтенсивніше накопичував ферум (в середньому у 2 рази) та купрум (в середньому у 4 рази); фенотип *B^H* значно інтенсивніше накопичував манган (в середньому у 4 рази) та цинк (в середньому у 2 рази); фенотип *A^H* значно інтенсивніше накопичував цинк (в середньому у 2–6 разів).

На Пасовищі №2 усі досліджені фенотипи найбільш інтенсивно накопичували манган, на другому місці за інтенсивністю поглинання усіма досліджуваними фенотипами був купрум. Для фенотипів Пасовища №2 – *A*, *A^H*, *C*, на третьому і четвертому місці відповідно за інтенсивністю накопичення знаходиться ферум і цинк, для фенотипів *O* та *B^H* – навпаки, на третьому і четвертому місці відповідно за інтенсивністю накопичення знаходиться цинк і ферум. Ймовірно така різниця щодо інтенсивності біоаккумуляції одними й тими самими фенотипами одних й тих самих елементів на Пасовищі №1 і Пасовищі №2 пов'язана з відмінностями рН ґрунту (на Пасовищі №1 – 7,6, на Пасовищі №2 – 7,2), вологості ґрунту тощо. Це припущення базується на аналізі чисельних наукових публікацій, які свідчать, що на надходження досліджуваних елементів впливає кілька чинників: видові особливості рослин, тип ґрунту, концентрація та форма знаходження елементів, рН ґрунту, його гранулометричний склад, вміст органічних речовин, ємність поглинання катіонів у ґрунті [6, 26, 36]. Так, [15, 72, 73] вказують на те, що відсоток рухомих форм *Cu* залежить від складу материнської породи, рН, вмісту органічної речовини. Рослини в межах навіть одного виду мають різний вміст *Cu* на різних ґрунтах. Важливим фактором, який впливає на рухомість *Zn* в ґрунті, є кількість глинистих мінералів і рівень рН. При підвищенні рН елемент зв'язується в органічні комплекси і його рухомість у ґрунті зменшується. Тому в більшості випадків *Zn* акумулюється в горизонтах з високим вмістом гумусу

[73]. Поведінка Mn в ґрунтах досить складна і залежить від багатьох чинників головними з яких є: рівень кислотності та окисаційно-відновний потенціал. Підвищення кислотності ґрунту та обмежений доступ у ґрунтові шари атмосферного кисню, висока вологість сприяють швидкій розчинності ґрунтового Mn , в результаті чого він стає рухливим [73].

На Пасовиці №2 порівняно з іншими досліджуваними фенотипами фенотип O інтенсивніше накопичував манган; фенотип B^H значно інтенсивніше накопичував ферум (в середньому у 4 рази), цинк (в середньому у 2 рази) та купрум (в середньому у 2–6 разів).

РОЗДІЛ 4.

ВИКОРИСТАННЯ МАТЕРІАЛІВ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ У КУРСІ БІОЛОГІЇ У ЗАКЛАДАХ ЗАГАЛЬНОЇ СЕРЕДНЬОЇ ОСВІТИ

Матеріали кваліфікаційної роботи упроваджені у освітньо-виховний процес з біології та екології 9–11 класів Сумськими спеціалізованими школами I-III ступенів №9 та №25.

Матеріали кваліфікаційної роботи можуть використовуватися вчителем в 10 класі на уроках формування базових генетичних понять під час вивчення програмних тем: «Спадковість та мінливість» (ген, алельні гени, алель, взаємодія алельних генів, повне домінування, кодомінування, генотип, фенотип, рецесивна ознака, домінантна ознака; мінливість, спадкова мінливість, неспадкова мінливість, комбінативна мінливість, мутаційна мінливість, мутації, генні мутації); «Вид і популяція» (вид, популяція, популяційна генетика, елементарні процеси еволюції, частота алеля, частота генотипу, закон Харді-Вайнберга).

1. На основі матеріалів кваліфікаційної роботи нами розроблений варіант практичної роботи «Визначення характеру успадкування та мінливості організмів», передбаченої програмою «Біологія і екологія. 10–11 класи. Профільний рівень. Навчальна програма для закладів загальної середньої освіти» (https://mon.gov.ua/ua/osvita/zagalna-serednya-osvita/navchalni_programi/navchalni-programi-dlya-10-11-klasiv), на тему «Генні мутації. Успадкування в серії множинних алелів».

Практична робота

Тема: «Генні мутації. Успадкування в серії множинних алелів».

Мета: на прикладі мутаційгену, що контролює малюнок «сивої» плями на листку *Trifolium repens* L. ознайомитися з явищем множинного алелізму та розглянути різноманітність успадкування в серії множинних алелів.

Теоретичні відомості

Мінливість – властивість організмів набувати нові ознаки або втрачати

наявні ознаки, що забезпечує різноманітність живої природи. Розрізняють два типи мінливості: генотипічну, або спадкову, та фенотипічну, або не спадкову.

До генотипічної мінливості належать стрибкоподібні зміни ознак, що успадковуються у наступних поколіннях. Це – мутаційна мінливість. Вивчення мутаційної мінливості варто почати з генних мутацій, в основі виникнення яких лежать зміни нуклеотидного складу ДНК.

Різні стани одного гену називаються алелями. Перехід гену з одного алельного стану відбувається внаслідок мутації. Таких станів для одного гену може бути багато. Ряд станів одного й того ж самого гену називають серією множинних алелів, а саме явище – множинним алелізмом. Причиною мутацій може бути дія як абіотичних, так і біотичних факторів середовища. Успадкування у серії множинних алелів підкоряється менделівським закономірностям. Поєднання двох різних алелів серії в гетерозиготному стані називається компаундом. В компаунді один алель відносно іншого алеля є домінантним або рецесивним, причому, один і той самий алель в різних поєднаннях з іншими алелями, може бути як домінантним так і рецесивним. Це дозволяє утворювати серію з ряду алелів за ступенем домінування. Домінування може бути повним і не повним. Також два різних алеля в компаунді можуть бути кодомінантними, тобто самостійно виявлятися у фенотипі.

Одним з прикладів множинного алелізму у рослин є утворення «сивих» плям різної форми, інтенсивності прояву, розміщення на листках *Trifolium repens* L. (конюшини білої або повзучої). Фенотипічна різноманітність популяцій *Trifolium repens* L. за даною ознакою визначається серією множинних алелів гену *V*. Наявність «сивої» плями на листку – ознака домінантна (*V*), відсутність – рецесивна (*v*).

Усі алелі гену *V*, а їх налічується 11 або більше, порушують нормальний розвиток хлорофілу в палісадних клітинах листка, зменшують концентрацію в них хлоропластів. Поміж них, за даними П.Я. Шварцмана, найчастіше

зустрічаються 8 алелів, що виявляються у 8-ми варіантах фенів (варіантах «сивої» плями як дискретної ознаки) (див.табл. 1).

Таблиця 1

Генетична детермінація різноманітних форм «сивої» плями на листку
*Trifolium repens*L. (за П.Я. Шварцманом, 1996)

Алель	Фенотип	Позначення фена
v	Пляма відсутня	O
V	Повна пляма	A
V^H	Повна пляма, висока	A^H
V^B	Розірвана пляма	B
V^{BH}	Розірвана пляма, висока	B^H
V^P	Центральна верхня точка	C
V^F	Велика суцільна пляма в основі	D
V^S	Низька трикутна пляма в основі	E

У гетерозигот малюнок «сивої» плями формується внаслідок взаємодії алелів у компаунді за типом повного домінування одного алеля над іншим, або кодомінування, за якого форма плями визначається обома алелями. Різні рівні розташування «сивої» плями на листку відповідають часу дії відповідних алелів в онтогенезі листка (див. рис. 1).

	1 v	2 V	3 V^H	4 V^B	5 V^{BH}	6 V^P	7 V^F	8 V^S
1 v								
2 V								
3 V^H								
4 V^B								
5 V^{BH}								
6 V^P								
7 V^F								
8 V^S								

Рис. 1. Фенотипи і генотипи за алелями гену V , що визначає малюнок «сивої» плями на листку *Trifolium repens*L. (за Дж. Л. Брюбейкером, 1955)

Обладнання: гербарій 50–100 листків *Trifolium repens* L., (підготовлений

або вчителем, або за завданням вчителя здобувачами середньої освіти під час літніх канікул). Збирання листків слід здійснювати так, щоб з однієї рослини (або куртини, що може бути клоном, тобто потомством однієї рослини, що розмножилася вегетативно, брати лише 1 листок. Для цього потрібно збирати листки на відстані не менше 5-ти кроків від місця попереднього збору.

Хід роботи

Практична робота виконується у групах. Кожна група отримує екземпляр гербарію.

1. Користуючись модельними малюнками табл. 1 і рис. 1 здійсніть сортування листків за фенотипом.

2. Користуючись модельними малюнками рис. 1 визначте генотипи* або фенотипічні радикали встановлених фенотипів. Результати оформіть у вигляді табл. 1.

Таблиця 1

Фенотипи та генотипи *Trifolium repens* L. за ознакою малюнок «сивої» плями на листку

Схематичний малюнок «сивої» плями	Фенотип	Генотип/фенотипічний радикал

Примітка: * – порівнюючи малюнок на листку з гербарію з малюнками на рис. 1, можна визначити генотип майже кожного листка, оскільки у більшості випадків спостерігається прояв кожного алеля у фенотипі, тобто кодомінування. Не можна визначити генотип лише тих фенотипів, де малюнки плям, що визначаються двома алелями, зливаються, або наявне повне домінування. До прикладу, VV та Vv , $V^B V^H$ та $V^H V^H$ мають однаковий фенотип.

3. Складіть серію алелів, що утворюють генотипи вашої колекції**.

Примітка: * – можна скласти серію алелів за даними усіх груп і таким чином зхарактеризувати популяції *Trifolium repens* L. одного чи декількох географічних регіонів.

4. Визначте відносну частоту (зустрічальність) кожного генотипу та приблизну частоту кожного алеля у вашій колекції. Результати оформіть у вигляді табл. 2 та табл. 3.

Таблиця 2

Зустрічальність фенотипів/генотипів *Trifolium repens* L. за ознакою малюнок «сивої» плями на листку

Фенотип	Схематичний малюнок «сивої» плями	Генотип	Кількість досліджених листків	
			абсолютна, шт.	відносна, %

Таблиця 3

Приблизна частота алелів гену, що контролює малюнок «сивої» плями на листку *Trifolium repens* L.

Фен*	Алель	Відносна частота алеля, %

Примітка: * – фени визначаєте користуючись табл. 1.

5. Запропонуйте різного змісту задачі щодо успадкування ознаки «малюнок «сивої» плями на листку» з аналізом результатів схрещувань.

Бажаємо успіху!

Матеріали кваліфікаційної роботи можуть використовуватися вчителем і здобувачами середньої освіти в позаурочній екскурсійно-дослідницькій та проектній діяльності здобувачів середньої освіти 9–11 класів.

На основі матеріалів кваліфікаційної роботи нами розроблене літнє дослідницьке завдання для здобувачів середньої освіти 9–10 класу на тему «Генотипічний та фенотипічний поліморфізм популяції *Trifolium repens* L.».

Літнє дослідницьке завдання

Тема: Генотипічний та фенотипічний поліморфізм популяцій *Trifolium repens* L.

Мета: навчитися досліджувати спадковий поліморфізм у природних популяціях рослин та визначати генотипічну та фенотипічну структуру популяцій за окремими ознаками.

Теоретичні відомості

Особини, що утворюють популяцію певного виду організмів не є однаковими і мають індивідуальні генотипічні та фенотипічні особливості.

Поліморфізм – одночасна наявність у популяції двох або більше форм, що генотипічно і фенотипічно відрізняються між собою, виникають в результаті генотипової мінливості, відтворюються при розмноженні.

Вивчення генотипічної та фенотипічної структури популяцій потребує точних даних про характер успадкування ознак, що вивчаються (домінантний чи рецесивний, моногенний чи полігенний, незалежний чи зчеплений). Це створює можливість виявити співвідношення (частоту)домінантних та рецесивних алелів, гомо- і гетерозиготних генотипів, що і є фенотипічною структурою популяцій.

Закономірності успадкування у популяціях організмів, що використовують для розмноження само- і перехресне запліднення – неоднакові. Природні популяції організмів, що використовують для розмноження самозапліднення, представлені, переважно, гомозиготними формами. Якщо в них з'являються гетерозиготи, то внаслідок автогамії, а через декілька поколінь їх частка стає незначною, тобто, популяція розкладається на гомозиготні лінії.

У популяціях організмів, що використовують для розмноження перехресне запліднення, відбувається вільне схрещування особин з різними генотипами, тобто панміксія. Розподіл генотипів у панміктичній популяції визначається за формулою Харді-Вайнберга: $(pA + qa)^2 = p^2AA + 2pqAa + q^2aa$. Частоти алелів генів та генотипів виражаються у відсотках або долях одиниці, сума частот є величиною постійною і дорівнює 100% або 1.

У панміктичних популяціях співвідношення частот генотипів та алелів гену, що їх утворюють, буде зберігатися на певному рівні в ряду поколінь, тобто панміктична популяція в ряду поколінь буде знаходитися у генетичній рівновазі. Але лише за умови великої чисельності популяції, вільного (випадкового) схрещування особин, відсутності мутагенезу, однакової життєздатності гомо- і гетерозиготних особин тощо.

У природних популяціях ці умови далеко не завжди реалізуються. Рівновага порушується, тобто змінюються частоти алелів і генотипів внаслідок мутаційної мінливості, добору, коливання чисельності популяції, ізоляції тощо.

Якщо при дослідженні поліморфізму природних популяцій немає можливості встановити тип успадкування ознак, що вивчаються, але наявні кількісні дані про неоднорідність популяції за фенотипом, то користуються фенетикою популяцій. Предметом фенетики популяцій є вивчення фенотипічної різноманітності популяцій у різних екологічних умовах. Метою фенетики є вивчення мінливості ознак та властивостей (фенів) у популяціях для використання у вирішенні питань механізмів та закономірностей еволюції. Фен – це дискретна альтернативна варіація певної ознаки, що відображає особливості генотипу даної особини.

Одним з прикладів спадкового поліморфізму у популяціях рослин є утворення «сивих» плям різної форми, інтенсивності прояву, розміщення на листках *Trifolium repens* L. (конюшини білої або повзучої).

Фенотипічна різноманітність популяцій *Trifolium repens* L. за даною ознакою визначається серією множинних алелів гену *V*. Наявність «сивої» плями на листку – ознака домінантна (*V*), відсутність – рецесивна (*v*).

Усі алелі гену *V*, а їх налічується 11 або більше, порушують нормальний розвиток хлорофілу в палисадних клітинах листка, зменшують концентрацію в них хлоропластів. Поміж них, за даними П.Я. Шварцмана, найчастіше зустрічаються 8 алелів, що виявляються у 8-ми варіантах фенів (варіантах «сивої» плями як дискретної ознаки) (див. табл. 1). У гетерозигот малюнок «сивої» плями формується внаслідок взаємодії алелів у компаунді за типом

повного домінування одного алеля над іншим, або кодомінування, за якого форма плями визначається обома алелями. Різні рівні розташування «сивої» плями на листку відповідають часу дії відповідних алелів в онтогенезі листка (див. рис. 1).

Таблиця 1

Генетична детермінація різноманітних форм «сивої» плями на листку
Trifolium repens L. (за П.Я. Шварцманом, 1996)

Алель	Фенотип	Позначення фена
v	Пляма відсутня	O
V	Повна пляма	A
V^H	Повна пляма, висока	A^H
V^B	Розірвана пляма	B
V^{BH}	Розірвана пляма, висока	B^H
V^P	Центральна верхня точка	C
V^F	Велика суцільна пляма в основі	D
V^S	Низька трикутна пляма в основі	E





































	1 v	2 V	3 V^H	4 V^B	5 V^{BH}	6 V^P	7 V^F	8 V^S
1 v	 v O	 V A	 V^H A^H	 V^B B	 V^{BH} B^H	 V^P C	 V^F D	 V^S E
2 V		 V A	 V^H A^H	 V^B $A(B)$	 V^{BH} $A(B^H)$	 V^P $A(C)$	 V^F $(A)D$	 V^S AE
3 V^H			 V^H A^H	 V^B $A^H(B)$	 V^{BH} $A^H(B^H)$	 V^P $A^H(C)$	 V^F $A^H(D)$	 V^S A^HE
4 V^B			 V^B B	 V^{BH} BB^H	 V^P B	 V^F BD	 V^S BE	
5 V^{BH}				 V^{BH} B^H	 V^P $B^H(C)$	 V^F $B^H(D)$	 V^S B^HE	
6 V^P					 V^P C	 V^F D	 V^S CE	
7 V^F						 V^F D	 V^S D	
8 V^S							 V^S E	

Рис. 1. Фенотипи і генотипи за алелями гену V , що визначає малюнок «сивої» плями на листку *Trifolium repens* L. (за Дж. Л. Брюбейкером, 1955)

Завдання: дослідити генотипічну та фенотипічну різноманітність за ознакою «сива» пляма на листку в популяціях *Trifolium repens* L. в різних екологічних умовах.

Хід роботи

1. Зберіть не менше 500 листків *Trifolium repens* L. на двох ділянках, що відрізняються за екологічними умовами – вологістю, освітленістю, ступенем антропогенних змін (витоптування, викошування, виїдання тваринами тощо).

Збирання проводьте таким чином, щоб з однієї рослини (або куртини, що може бути клоном, тобто потомством однієї рослини, що розмножилася вегетативно), брати лише 1 листок. Для цього збирайте листки на відстані не менше 5-ти кроків від місця попереднього збору.

2. Користуючись табл. 1 та рис. 1. ідентифікуйте малюнки зібраних листків з модельними малюнками, та визначте фенотипи і генотипи. Для зручності статистичної обробки даних для кожної ділянки створіть таблиці за зразком:

Таблиця

Зустрічальність фенотипів/генотипів *Trifolium repens* L. за ознакою малюнок «сивої» плями на листку на ділянці 1/ділянці 2

Фенотип	Схематичний малюнок «сивої» плями	Генотип	Кількість досліджених листків	
			абсолютна, шт.	відносна, %

4. Розрахуйте частоту (зустрічальність) кожного фенотипу/генотипу у вибірці з кожної ділянки.

5. Здійсніть аналіз частоти (зустрічальності) різних фенотипів та генотипів у вибірках з різних ділянок.

6. Розрахуйте з використанням формули Харді-Вайнберга зустрічальність рецесивного алеля v у вибірках з різних ділянок.

7. Порівняйте частоту рецесивного алеля v у вибірках з різних ділянок.
8. Зробіть висновок щодо впливу еколого-генетичних факторів на генотипічну та фенотипічну структуру та чисельність популяції.

Бажаємо успіху!

ВИСНОВКИ

1. Локальні популяції *Trifolium repens* L. на двох пасовищах села Житне відрізняються за кількістю фенотипів і генотипів за малюнком «сивої» плями на листку, що вказує на різний ступінь їх внутрішньопопуляційної мінливості за даною ознакою.

2. Рівень внутрішньопопуляційної мінливості фенотипів *Trifolium repens* L. у локальній популяції Пасовища №1 більше, ніж у 2 рази вищий, ніж у локальній популяції Пасовища №2.

3. В локальних популяціях *Trifolium repens* L. на обох пасовищах зустрічаються оригінальні фенотипи з атипичною формою листкової пластинки.

4. Морфогенетична гетерогенність локальних популяцій *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на Пасовищі №1 визначається комбінаціями серії з 9-ти алелів ($v, V, V^H, V^B, V^{Bh}, V^P, V^F, V^S, V^h$), на Пасовищі №2 – з 6-ти алелів ($v, V, V^H, V^B, V^{Bh}, V^P$).

5. У локальних популяціях *Trifolium repens* L. обох пасовищ майже у 2 рази частіше зустрічаються «мутантні» фенотипи. Серед «диких» фенотипів на Пасовищі №1 вищою є частота фенотипу *O*, на Пасовищі №2 – фенотипу *A*.

6. Для фенотипів *O, A, A^H, B^H, C* на обох пасовищах характерний акумулятивний тип поглинання з ґрунту феруму, мангану, та купрум. Поглинання цинку для фенотипів *O, A, A^H, B^H, C* на Пасовищі №1 має акумулятивний характер, а для фенотипів *A, A^H, C* на Пасовищі №2 – бар'єрний.

7. Фенотипи *O, A, A^H, B^H, C* накопичують у листках найбільш інтенсивно на Пасовищі №1 цинк, на Пасовищі №2 – манган, найменш інтенсивно – на Пасовищі №1 – ферум, на Пасовищі №2 – цинк і ферум.

8. Фенотипи *O, A, A^H, B^H, C* на обох пасовищах відрізняються за біогеохімічною активністю щодо концентрації рухомих форм феруму, мангану, цинку та купрум. За загальною здатністю до накопичення цих елементів дані

фенотипи утворюють різні низхідні ряди: на Пасовищі №1 – $A^H > B^H > O > A > C$, на Пасовищі №2 – $B^H > O > C > A^H > A$.

9. Матеріали кваліфікаційної роботи можуть використовуватися в курсі біології 9–11 класів у закладах загальної середньої освіти, зокрема, на уроках формування базових генетичних понять під час вивчення програмних тем «Спадковість та мінливість», «Вид і популяція», а також в позаурочній екскурсійно-дослідницькій та проектній діяльності здобувачів середньої освіти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авдеев В.И. Современные методы биометрии в исследовании растений: учебное пособие. – Оренбург : Издательский центр ОГАУ, 2015. 130 с.
2. Авессаламова И.А. Геохимические показатели при изучении ландшафтов / И. А. Авессаламова. – М. : Изд-во МГУ, 1987. 108 с.
3. Александрова Э.А. Тяжелые металлы в почвах и растениях и их аналитический контроль: учеб.пособие [для студ. аграр. вузов] / Э.А. Александрова, Н. Г. Гайдукова, Н. А. Кошеленко, З. Н. Ткаченко. Краснодар, 2001. 166 с.
4. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев. – Ленинград : Агропромиздат, 1987. 140 с.
5. Ачасова А. Просторова неоднорідність вмісту важких металів у ґрунті // Вісник аграрної науки. 2003. № 3. С. 77–78.
6. Башмаков Д. И. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений / Д. И. Башмаков, А. С. Лукаткин. – Саранск : изд-во Морд.ун-та, 2009. 236 с.
7. Бессонова В.П. Оцінка стану пилку деревних рослин в урбатехногенній екосистемі / В.П. Бессонова, Є.П. Бессонов, В.М. Зверковський // Питання біоіндикації та екології. 2013. Вип. 18, № 1. С. 70–83.
8. Біда Т.М. Зустрічальність *Trifolium repens* L. у фітоценозах антропогенно змінених територій села Житне Роменського району Сумської області / Теоретичні та прикладні аспекти досліджень з біології, географії та хімії: матеріали III Всеукраїнської заочної наукової конференції студентів та молодих учених, м. Суми, 30 квітня 2020 р. – Суми : ФОП Цьома С.П., 2020. С 12–14.
9. Біда Т. М., Торяник В. М. Особливості фенотипічного поліморфізму *Trifolium repens* L. за рисунком сивої плями на листку у фітоценозах пасовищ з різним екологічним режимом //Актуальні проблеми дослідження довкілля:

Матеріали ІХ Міжнародної наукової конференції, 25–27 травня 2021 р., м. Суми – Суми : СумДПУ імені А.С.Макаренка, 2021. С. 207–209.

10. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / О.П. Мелехова, Е.И. Егорова, Т.И. Евсеева и др. – М. : Академия, 2007. 288 с.

11. Brewbaker J. L. V-leaf Markings of White Clover // J. Hered. – 1955. – Vol. XLVI. – № 3. – pp. 115–125.

12. Валиев Р.Р., Яковлева О.М. Сравнительная характеристика наследственного полиморфизма по признаку «седого» пятна на листьях растений в популяциях *T. repens* на территории г. Уфы и некоторых районов республики Башкортостан // Вестн. Башкир. ун-та. 2008. № 2. С. 273–276.

13. Викторов С.В. Ландшафтная биоиндикация и ее практическое применение / С.В. Викторов, А.Г. Чикишева. – М.: Изд-во МГУ, 1990. 200 с.

14. Виноградов А.П. Основные закономерности в распределении микроэлементов между растениями и средой // Микроэлементы в жизни растений и животных. – Москва, 1952. С. 7–20.

15. Wodala B., Eitel G., Gyula T. N. et al. Monitoring moderate Cu and Cd toxicity by chlorophyll fluorescence and P 700 absorbance in pea leaves. *Photosynthetica*, 2012, vol. 50, no 3, pp. 380–386.

16. Воробейчик Е.Л. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем: локальный уровень / Е. Л. Воробейчик, О. Ф. Садыков, М. Г. Фарафонов. – Екатеринбург : Наука, 1994. 280 с.

17. Gamalero E., Lingua G., Berta G., Glick B. R. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Can. J. Microbiol*, 2009, vol. 55, no 5, pp. 501–514.

18. Гармаш Н.Ю. Тяжелые металлы и количество зерна пшеницы. *Химия в сельском хозяйстве* / Н. Ю. Гармаш. 1985. № 6. С. 48–49.

19. Глотов Н.В., Максименко О.Е., Орлинский Д.Б. Эколого-генетическая изменчивость клевера белого (*Trifolium repens* L.) в природных популяциях Среднего Приобья // *Экология*. 1995. № 5. С. 344–346.

20. Глухов О.З. Фітоіндикація металопресингу в антропогенно трансформованому середовищі / О. З. Глухов, А. Л. Сафонов, Н. А. Хижняк. – Донецьк : Норд-Пресс, 2006. 360 с.
21. Горшкова Т.А. Оценка возможности использования клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) для биоиндикации антропогенного нарушения среды // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2012. № 1. С. 69–73.
22. Грицак Л., Барна І., Кодлюк І., Сельська І., Сплавінська Ю., Сукар Х., Барна С. Біоіндикаційні методи для потреб системного аналізу якості довкілля // Конструктивна географія і геоекологія. Наукові записки. № 2.2017. С. 153–165.
23. Гришко В. М. Важкі метали: надходження в ґрунти, транслокація у рослинах та екологічна безпека /В. М.Гришко, Д. В.Сищиков, О. М. Піскова, О. В. Данильчук, Н. В. Машталер. – Донецьк: Донбас, 2012. 304 с.
24. Губанов И. А. *Trifolium repens* L. – Клевер ползучий или белый / И. А. Губанов и др. // Иллюстрированный определитель растений Средней России. – М. : КМК ; Институт технологических исследований, 2003. Т. 2. 473 с.
25. Гуральчук Ж.З. Дослідження акумуляції важких металів рослинами з метою їх використання для фіторе mediaції ґрунтів // Відновлення порушених природних екосистем : матер. IV Міжнар. наук.конф., м. Донецьк, 18–21 жовтня 2011 р. – Донецьк, 2011. С. 116–119.
26. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культурных растений. 1994. Т. 26, № 2.С.107–117.
27. Gussarsson M., Adalsteinsson S., Jensen P., Asp H. Cadmium and copper interactions on the accumulation and distribution of Cd and Cu in birch (*Betula pendula* Roth) seedings Plant Soil, 1995, vol. 171, pp. 185–187.
28. Денисова Л.Н. Пространственная и возрастная структура популяций *Trifolium repens* (*Fabaceae*) в различных местообитаниях // Ботанический журнал. 1995. № 4. С. 18–25.

29. Діброва Г.В. Краю наш Роменський. Краєзнавчий нарис/ Г.В.Діброва, О.В.Іващенко, В.В. Панченко. – Суми: Видавництво «Слобожанщина», 2002. 104 с.
30. Добровольский В.В. География микроэлементов. Глобальное рассеяние / В. В. Добровольский. – Москва : Мысль, 1983. 272 с.
31. Добровольский В. В. Некоторые аспекты загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами // Биологическая роль микроэлементов. – Москва, 1983. С. 44–55.
32. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (С основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. – М. : Агропромиздат, 1995. 351 с.
33. Ермаков В.В. Геохимическая экология и биогеохимические критерии оценки экологического состояния таксонов биосферы // Геохимия. 2015. № 3. С. 203–221.
34. Животовский Л.А. Показатель сходства популяций по полиморфным признакам // Журн. общ. биологии. 1999. № 4. С. 587–602.
35. Жовинский Э. Я. Геохимия тяжелых металлов в почвах Украины / Э. Я. Жовинский, И. В. Кураева. – Киев : Наукова думка, 2002. 213 с.
36. Жуйкова Т.В., Зиннатова Э.Р. Аккумулирующая способность растений в условиях техногенного загрязнения почв тяжёлыми металлами // Поволжский экологический журнал. 2014. № 2. С. 196–207.
37. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи {метод. рек. по оцінці допустимих рівнів радіонуклідного та хімічного забруднення за їх комбінованої дії} / Гродзинський Д.М., Шиліна Ю.В., Куцокінь Н.К. та ін. – К. : Фітосоціоцентр, 2006. 60 с.
38. Захаров В. М. Феногенетический аспект исследования природных популяций // Фенетика популяций. – М. : Наука, 1992. С. 47–54.

39. Ильин В.Б., Степанова М.Д. Защитные возможности системы почва – растения при загрязнении почв ТМ // ТМ в окружающей среде. – Москва : изд-во МГУ, 1986. С. 80–85.
40. Ильин В.Б. К оценке массопотока тяжелых металлов в системе почва-сельскохозяйственная культура // Агрехимия. 2006. № 3. С. 52–65.
41. Ильин В.Б. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях: монография / В. Б. Ильин, А. И. Сысо. – Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2001. 229 с.
42. Калимова И.Б. Токсическое действие тяжелых металлов и устойчивость к ним проростков злаков : автореф. дис. канд. биол. наук : спец. 03.00.16 / И. Б. Калимова. – Санкт-Петербург, 2009. 17 с.
43. Камчатова И. Е. Внутрипопуляционный генетический полиморфизм у клеверов (*Trifolium*) // Фенетика природных популяций: Материалы IV Всесоюзного совещания (Борок, ноябрь 1990 г.). – М. : Ин-т биологии развития им. Н.К. Кольцова АН СССР, 1990. С. 106–108.
44. Кармазиненко С.П. Важкі метали у компонентах навколишнього середовища м. Маріуполь (еколого-геохімічні аспекти) /С. П. Кармазиненко, І.В.Кураєва, А.І.Самчук, Ю.Ю.Войтюк, В.Й.Манічев. – К. : Інтерсервіс, 2014. 168 с.
45. Kiekens, L. (1995) Zinc. In: Alloway, B.J., Ed., Heavy Metals in Soils, 2nd Edition, Blackie Academic and Professional, London, pp.284–305.
46. Конюшина повзуча // : енциклопедичний довідник / за ред. А. М. Гродзінського. – Київ : Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. – С. 211.
47. Krupa Z., Krupa M., Gruszecki W. I. Changes in chlorophyll spectral characteristics in rye seedlings grown under heavy metal stress. Science Access. CSIRO, 2008, Related article S36-008.
48. Кулаева О. Н., Миколович Т. П., Хохлова В. А. Стрессовые белки растений. – Москва, 1991. С. 174–190.

49. Куприянова М. Ю., Семенова И. И. Оценка городской среды методами фитоиндикации (на примере г. Чебоксары) // Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И. Я. Яковлева. 2014. № 4 (84). С. 74–78.
50. Куцоконь Н. Рослинні тест-системи для визначення генотоксичності // Вісник НАН України. 2010. № 4. С. 48–52.
51. Левицкий С. Н. Генетический полиморфизм в популяциях *Trifolium repens*, произрастающих в условиях различной антропогенной нагрузки территорий // Фундаментальные исследования. 2013. № 4 (часть 1). С. 108–111.
52. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. – Москва : ЦИНАО, 1992. 53 с.
53. Мірошніченко М. М., Фатєєв А. І. Агрогеохімія мікроелементів у ґрунтах України // Агрохімія і ґрунтознавство: міжвід. темат. наук. зб. – спец. вип. – кн. 1. – Житомир: Рута, 2010. С. 98–107.
54. Морозюк С.С. Трав'янисті рослини України. Атлас-визначник : Навчальний посібник / С.С.Морозюк, В.В. Протопопова. – Тернопіль : Навчальна книга – Богдан, 2007. 216 с.
55. Нахаева В.И., Александрова Т.В., Рубцова А.В. Генетический полиморфизм в популяциях *Trifolium repens*, произрастающих в различных условиях окружающей среды г. Омска // Успехи современного естествознания. 2015. № 1–1. С. 49–53.
56. Опекунова М. Г. Биоиндикация загрязнений: Учеб. Пособие /М. Г. Опекунова. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. 266 с.
57. Орлинский Д.Б. Эколого-генетическая изменчивость клевера лугового (*Trifolium pratense*) в природных популяциях Среднего Приобья /Д. Б. Орлинский. – Москва : Экология, 1995. 5 с.
58. Орлов Д.С. Химия почв / Д.С. Орлов, Л. К. Садовникова, Н.И. Суханова. – М.: Высшая школа. 2005. С. 558.
59. Реймерс Н.Ф. Природопользование: Словарь-справочник / Н.Ф.Реймерс. – М.: Мысль, 1990. 637с.

60. Рудакова Э.В. Микроэлементы: поступление, транспорт и физиологические функции в растениях / Э.В. Рудакова, Т.М. Каракис и др. – Киев : Наук.думка, 1987. – 184 с.

61. Руденко С.С. Загальна екологія. Практичний курс: Навчальний посібник у 2-х ч. Частина 1. Урбоекосистеми /С. С. Руденко, С. С. Костишин, Т. В.Морозова. – Чернівці : Книги – XXI, 2008. С. 26–30.

62. Світовий В.М., Жилияк І.Д. Ферум і манган у чорноземі опідзоленому та вирощеній на ньому пшениці озимій // Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Серія : Хімія. 2014. Вип. 18. С. 4–7.

63. Семенова И.И., Солдатова У.А. Оценка качества урбаноcреды методами биоиндикации // Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Теоретические и прикладные вопросы образования и науки». – Тамбов : Консалтинговая компания Юком, 2014. С. 121–122.

64. Словник української біологічної термінології / відпов. редактори: Д.М. Гродзинський, Л.О. Симоненко. – Київ : КММ, 2012. 744 с.

65. Соколова Г.Г., Камалтдинова Г.Т. Морфогенетический полиморфизм листьев клевера ползучего // Известия Алт ГУ. 2010. № 3 (часть 1). С. 48–51; URL: [http://izvestia.asu.ru/2010/3-1/bios/TheNews Of ASU-2010-3-1-bios-10](http://izvestia.asu.ru/2010/3-1/bios/TheNews%20Of%20ASU-2010-3-1-bios-10)

66. Титов А.Ф. Тяжелые металлы и растения / А.Ф. Титов, Н.М. Казнина, В. В. Таланова. – Петрозаводск : Карел. науч. центр РАН, 2014. 194 с.

67. Торяник В.М., Біда Т.М. Біогеохімічні особливості різних фенотипів *Trifolium repens* L. на пасовищах села Житне Роменського району Сумської області // Освітні та наукові виміри природничих наук: матеріали II Всеукраїнської заочної наукової конференції, м. Суми, 8 грудня 2021 р. – Суми:СумДПУ імені А.С.Макаренка, 2021.С. 31–33.

68. Торяник В.М., Біда Т.М. Внутрішньопопуляційний поліморфізм *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на антропогенно

змінених територіях села Житне Роменського району Сумської області // Природничі науки: Збірник наукових праць. – Суми: СумДПУ імені А.С.Макаренка, 2021. Вип. 18. С. 58-64.

69. Торяник В.М., Міронець Л.П. Мінливість рисунку«сивої» плями на листку *Trifolium repens* L. як біоіндикатор умісту у ґрунті сільськогосподарських угідь нітратного азоту та важких металів // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / Національна академія наук України, Інститут молекулярної біології і генетики, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова; редкол. : В.А. Кунах (голов. ред. [та ін.]. – К. : Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, 2020.Т. 27 С.309–313.

70. Торяник В.М., Міронець Л.П. Морфогенетичний поліморфізм *Trifolium repens* за малюнком на різних територіях м. Суми з різним антропогенним навантаженням // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / Національна академія наук України, Інститут молекулярної біології і генетики, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова; редкол. : В.А. Кунах (голов. ред. [та ін.]. – К. : Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, 2019. Т. 25. С. 92–96.

71. Усманов Т.Ю. Экологическая физиология растений / Т.Ю. Усманов, З. Ф. Рахманкулова, А. Ю. Кулагин. Москва : Логос, 2001. 224 с.

72. Hall J. L., Williams L. E. Transition metal transporters in plants. *Ibid*, 2003, vol. 54, no 393, pp. 26101-26113.

73. Hänsch R., Mendel R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr. Opin. Plant Biol*, 2009, vol. 12, pp. 259-266.

74. Haydon M. J., Cobbett C. S. Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *New Phytol*, 2007, vol. 174, pp. 499-506.

75. Хох А. Н., Лозинская О. В., Мельнов С. Б. Оценка качества среды с использованием клевера лугового (*Trifolium pratense*) // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. 2011. № 2. С. 3–7.

76. Чукаева Н.В. Экологическая оценка состояния территории, прилегающей к озеру Тепляковское // Успехи современного естествознания. 2011. № 8. С. 77–78.

77. Chumashkaev A.N. Population structure of red clover (*Trifolium pratense*) in Western Siberia. – СПб : Вентана-Граф, 2004. 34 с.

78. Шарыгина Н.В. Сравнительная характеристика внутри- и межпопуляционной изменчивости по признаку «седого» пятна на листьях растений *Trifolium repens* в популяциях на территории г. Архангельска // Вестник северного (арктического) федерального университета. Серия: Естественные науки. 2011. С. 102–108.

79. Шарыгина Н.В., Авдушева А.В. Изучение наследственного полиморфизма рисунка седых пятен на листьях растений в популяции клевера *Trifolium repens* // Экологические проблемы Севера: Межвузовский сборник научных трудов. – Архангельск : Изд-во АГТУ, 2010. Вып. 13. С. 122.

80. Шварцман П. Я. Показатель внутривидового разнообразия // Журн. общ. биологии. 1990. № 6. С. 828–836.

81. Шварцман П. Я. Полевая практика по генетике с основами селекции /П. Я.Шварцман. – М. : Просвещение, 1996. 111 с.