

УКРАЇНСЬКИЙ БОТАНІЧНИЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2415-8860 (online)  
ISSN 0372-4123 (print)

2024 Vol. 81  
No. 4 (483)



# U KRAINIAN BOTANICAL JOURNAL

A JOURNAL  
FOR BOTANY & MYCOLOGY



UKRAINIAN BOTANICAL JOURNAL is a scientific journal publishing articles and contributions on all aspects of botany and mycology, including general issues, taxonomy, floristics, vegetation science, ecology, evolutionary biology, geography, history of flora and vegetation as well as morphology, anatomy, physiology, biochemistry, cell and molecular biology of plants and fungi.

Publication languages: English and Ukrainian

#### EDITORIAL BOARD

##### Editor-in-Chief

Sergei L. MOSYAKIN

##### Associate Editors

Ganna V. BOIKO

Vera P. HAYOVA

Dirk C. ALBACH (Oldenburg, Germany)  
Illya I. CHORNEY (Chernivtsi, Ukraine)  
Peter J. de LANGE (Auckland, New Zealand)  
Yakiv P. DIDUKH (Kyiv, Ukraine)  
Dmytro V. DUBYNA (Kyiv, Ukraine)  
Mykola M. FEDORONCHUK (Kyiv, Ukraine)  
Zigmantas GUDŽINSKAS (Vilnius, Lithuania)  
Vasyl P. HELUTA (Kyiv, Ukraine)  
Bogdan JACKOWIAK (Poznan, Poland)  
Jürgen KELLERMANN (Adelaide, Australia)  
Olexander E. KHODOSOVTSSEV (Kherson, Ukraine)  
Sergey Y. KONDRATYUK (Kyiv, Ukraine)  
Iryna V. KOSAKIVSKA (Kyiv, Ukraine)  
Karol MARHOLD (Bratislava, Slovakia)  
Eviatar NEVO (Haifa, Israel)  
Peter RAVEN (St. Louis, USA)  
Myroslav V. SHEVERA (Kyiv, Ukraine)  
Natalia M. SHYIAN (Kyiv, Ukraine)  
Maryna M. SUKHOMLYN (Kyiv, Ukraine)  
Susumu TAKAMATSU (Tsu, Japan)  
Filip VERLOOVE (Meise, Belgium)  
Oxana M. VYNOGRADOVA (Kyiv, Ukraine)  
Solomon P. WASSER (Haifa, Israel)  
Olena K. ZOLOTAREVA (Kyiv, Ukraine)

##### Editorial Assistant

Mariya D. ALEINIKOVA

**Front cover:** *Artomyces microsporus* (Qiu X. Wu & R.H. Petersen) Lickey, a close-up of the central part of basidiome (see the article by Hayova on pages 271–277 in this issue).

Photo by © Vitalii Kavurka

УКРАЇНСЬКИЙ БОТАНІЧНИЙ ЖУРНАЛ публікує статті з усіх напрямів ботаніки та мікології, в тому числі із загальних питань, систематики, флористики, геоботаніки, екології, еволюційної біології, географії, історії флори та рослинності, а також морфології, анатомії, фізіології, біохімії, клітинної та молекулярної біології рослин і грибів.

Статті друкуються англійською та українською мовами

#### РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

##### Головний редактор

Сергій Л. МОСЯКІН

##### Заступники головного редактора

Ганна В. БОЙКО

Віра П. ГАЙОВА

Дірк К. АЛЬБАХ (Ольденбург, Німеччина)  
Ілля І. ЧОРНЕЙ (Чернівці, Україна)  
Пітер Дж. де ЛАНГЕ (Окленд, Нова Зеландія)  
Яків П. ДІДУХ (Київ, Україна)  
Дмитро В. ДУБИНА (Київ, Україна)  
Микола М. ФЕДОРОНЧУК (Київ, Україна)  
Зігмонтас ГУДЖИНСКАС (Вільнюс, Литва)  
Василь П. ГЕЛЮТА (Київ, Україна)  
Богдан ЯЦКОВЯК (Познань, Польща)  
Юрген КЕЛЛЕРМАНН (Аделаїда, Австралія)  
Олександр Є. ХОДОСОВЦЕВ (Херсон, Україна)  
Сергій Я. КОНДРАТЮК (Київ, Україна)  
Ірина В. КОСАКІВСЬКА (Київ, Україна)  
Кароль МАРГОЛЬД (Братислава, Словаччина)  
Евіатар НЕВО (Хайфа, Ізраїль)  
Пітер РЕЙВЕН (Сент-Луїс, США)  
Мирослав В. ШЕВЕРА (Київ, Україна)  
Наталія М. ШИЯН (Київ, Україна)  
Марина М. СУХОМЛИН (Київ, Україна)  
Сусуму ТАКАМАЦУ (Цу, Японія)  
Філіп ВЕРЛООВ (Мейсе, Бельгія)  
Оксана М. ВИНОГРАДОВА (Київ, Україна)  
Соломон П. ВАССЕР (Хайфа, Ізраїль)  
Олена К. ЗОЛОТАРЬОВА (Київ, Україна)

##### Відповідальний секретар

Марія Д. АЛЕЙНІКОВА

**На обкладинці:** *Artomyces microsporus* (Qiu X. Wu & R.H. Petersen) Lickey, збільшене зображення центральної частини базидіоми (див. статтю Гайової на стор. 271–277 у цьому номері).

Фото © Віталій Кавурка



## CONTENTS

### Plant Taxonomy, Geography and Floristics

- de LANGE P.J., JAMES C.J.  
New combinations in *Anthoxanthum* (*Poaceae*) for  
Aotearoa / New Zealand taxa earlier placed in  
*Hierochloe* ..... 259

### Fungi and Fungi-like Organisms

- SHEVCHENKO M.V., ZKOVA M.O.  
*Subulicystidium perlongisporum* (*Trechisporales*),  
the first record in Ukraine ..... 263

### Mycological Records

- HAYOVA V. *Artomyces microsporus*  
(*Auriscalpiaceae*), a rare species that may be confused  
with *A. pyxidatus* ..... 271

### Biotechnology, Physiology and Biochemistry

- TSARENKO O.M., FEDORONCHUK M.M.,  
SHYKHALEYEVA G.M., FELBABA-KLUSHY-  
NA L.M., KACZMAREK K., BOMANOWSKA A.,  
REWICZ A. Seed morphology of species of *Spergula*  
and *Spergularia* (*Caryophyllaceae*) occurring in Ukra-  
ine and its taxonomic significance ..... 278

## ЗМІСТ

### Систематика, флористика, географія рослин

- де ЛАНГЕ П.Дж., ДЖЕЙМС К.Дж.  
Нові комбінації в роді *Anthoxanthum* (*Poaceae*) для  
новозеландських видів, які раніше включалися до  
роду *Hierochloe* ..... 259

### Гриби і грибоподібні організми

- ШЕВЧЕНКО М.В., ЗИКОВА М.О.  
*Subulicystidium perlongisporum* (*Trechisporales*),  
перша знахідка в Україні ..... 263

### Мікологічні знахідки

- ГАЙОВА В. *Artomyces microsporus*  
(*Auriscalpiaceae*) — рідкісний вид, який можна  
сплутати з *A. pyxidatus* ..... 271

### Біотехнологія, фізіологія, біохімія

- ЦАРЕНКО О.М., ФЕДОРОНЧУК  
М.М., ШИХАЛЄЄВА Г.М., ФЕЛЬБАБА-  
КЛУШИНА Л.М., БОМАНОВСКА А., РЕВИЧ А.  
Морфологія насінин видів *Spergula* і *Spergularia*  
(*Caryophyllaceae*) флори України та її  
систематичне значення ..... 278

SHAKHOV I.V., KOKOREV A.I., YASTREB T.O.,  
DMITRIEV A.P., KOLUPAEV Yu.E. Increasing  
germination and antioxidant activity of aged wheat  
and triticale grains by priming with gamma-amino-  
butyric acid. .... 290

ШАХОВ І.В., КОКОРЕВ О.І., ЯСТРЕБ Т.О.,  
ДМИТРИЄВ О.П., КОЛУПАЄВ Ю.Є. Підвищення  
схожості та антиоксидантної активності старих  
зернівок пшениці і тритикале праймінгом гамма-  
аміномасляною кислотою ..... 290

#### ДО УВАГИ ПЕРЕДПЛАТНИКІВ!

Передплата Українського ботанічного журналу з 1 січня 2025 р. буде здійснюватися тільки через передплатне агентство "Укрінформнаука" ([https://u-i-n.com.ua/ua/order\\_info/](https://u-i-n.com.ua/ua/order_info/)).

Для оформлення передплати необхідно заповнити бланк-замовлення (див. [https://u-i-n.com.ua/ua/order\\_info/](https://u-i-n.com.ua/ua/order_info/)) і надіслати його на адресу агентства електронною поштою ([innovation@nas.gov.ua](mailto:innovation@nas.gov.ua)).

Approved by the Academic Council of the M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine  
(Resolution No. 8 of 16 July 2024)

**Editorial office address:** M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine  
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

**Tel.:** +380 44 235 4182

**E-mail:** [secretary\\_ubzh@ukr.net](mailto:secretary_ubzh@ukr.net)

**Web:** <https://ukrbotj.co.ua>

**Media ID (ідентифікатор медіа):** R30-03012. Decision of the National Council of  
Television and Radio Broadcasting of Ukraine of 21.03.2024 No. 890

Technical editor O.Ye. Bondarenko

Layout N.S. Reshetnykova

---

Submitted for printing on 04.09.2024. Format 84 × 108/16. Typeface. Minion Pro  
Conventional printed sheets 5,04. Physical printed sheets 6,06. Circulation 123 copies. Order no. 7387

Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine  
4 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01024, Ukraine

Certificate of entry to the State Register of Publishing Agents  
series ДК No. 544 of 27.07.2001



<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.259>

RESEARCH ARTICLE

## New combinations in *Anthoxanthum* (*Poaceae*) for Aotearoa / New Zealand taxa earlier placed in *Hierochloe*

Peter J. de LANGE \* , Campbell J. JAMES 

School of Environmental & Animal Sciences, Unitec Institute of Technology,  
Private Bag 92025, Victoria Street West, Auckland 1142, Aotearoa / New Zealand

\* Author for correspondence: [pdelange@unitec.ac.nz](mailto:pdelange@unitec.ac.nz)

**Abstract.** New combinations in *Anthoxanthum* (*Poaceae*) are provided for six endemic Aotearoa / New Zealand species earlier placed in *Hierochloe*: *Anthoxanthum brunonis* (Hook. f.) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*Hierochloe brunonis* Hook. f.), *A. cupreum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. cuprea* Zotov), *A. equisetum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. equisetum* Zotov), *A. fuscum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. fusca* Zotov), *A. novae-zelandiae* Gand. de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. novae-zelandiae* Gand.) and *A. recurvatum* (Hack.) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. fraseri* Hook. f. var. *recurvata* Hack.). These six combinations were omitted from Schouten and Veldkamp (1985), in which the then recognised *Hierochloe* were transferred to *Anthoxanthum* and in subsequent treatments.

**Keywords:** *Anthoxanthinae*, *Anthoxanthum*, Aotearoa / New Zealand, *Hierochloe*, new combinations, *Poaceae*, taxonomy

### Introduction

When Schouten and Veldkamp (1985) elected to merge *Hierochloe* R. Br. into *Anthoxanthum* L. they left the Aotearoa / New Zealand species treated by Zotov (1973) in *Hierochloe* because they felt (p. 346) that (with our added words in [\*]) ‘another revision of the material [species] is needed’. The noted Aotearoa / New Zealand agrostologist Henry Connor (de Lange, 2016) completed that required revision of *Hierochloe* for Volume V of the *Flora of New Zealand* series (Edgar, Connor, 2000). Although he elected to leave the species in *Hierochloe*, he stated that (*in litt.* 1 April 2008 to the senior author — PdL hereafter) ‘I am

looking at Papua N[ew] G[uinea] specimens that the Dutch now want to include in *Anthoxanthum*?... ‘There are floral differences [between both genera] and I like to keep them distinct but they [the Dutch and others] may have a point’. Connor’s last letter to PdL on the subject of generic position (29 March 2011) concerned a set of *Hierochloe* sent by PdL from the Chatham Islands for a revision of the species on that island group planned by Connor and him. Those specimens prompted him to write, tellingly, ‘it seems clear others [who is never said] want them [*Hierochloe*] in *Anthox[anthum]*, I like them where they are... they have a different reproductive system and base chromosome number ( $x = 7$  c.f.  $x = 5$ ) but when I am gone

ARTICLE HISTORY. Submitted 11 June 2024. Revised 11 July 2024. Published 29 August 2024

CITATION. de Lange P.J., James C.J. 2024. New combinations in *Anthoxanthum* (*Poaceae*) for Aotearoa / New Zealand taxa earlier placed in *Hierochloe*. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(4): 259–262. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.259>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

they could go there [i.e. into *Anthoxanthum*]. Henry Connor passed on the 26 July 2016 (de Lange, 2016) after several years of deteriorating health, the revision he and PdL planned never eventuated. What was clear though was that despite his private vacillations to PdL, Connor preferred to retain *Hierochloe* as distinct from *Anthoxanthum* citing floral, floral biology and cytological evidence to keep them apart (Connor 2008, 2012; Connor, Renvoize 2009; Edgar, Connor, 2000, 2010). Not surprisingly then, this viewpoint has been the one subscribed to mostly within Aotearoa / New Zealand.

Connor's views and the preferences of Aotearoa / New Zealand aside, it seems evident from a perusal of world literature on the subject that opinion on merging *Hierochloe* or not, remains an unresolved issue. Those favouring the merger by and large repeat the views of Schouten and Veldkamp (1985), namely, that there are morphological intermediates between *Anthoxanthum* and *Hierochloe* and that the main morphological distinction between both genera is floral. *Anthoxanthum* has hermaphrodite apical florets with no lodicules and two basal, epaleate neutral florets, whereas *Hierochloe* has bisexual or female apical florets without lodicules, with the two lower florets paleate or male (see summary by Lema-Suárez et al., 2018, 2021; Pimentel et al., 2013; Villalobos et al., 2019). Accordingly, many botanists dealing with regional flora treatments have simply made the necessary combinations for *Hierochloe* in *Anthoxanthum* without comment e.g., Allred and Barkworth (2007) for North America species and Chepinoga et al. (2023) for Asian Russia ones. Further, there seems to be increasing molecular support for merging *Hierochloe* into *Anthoxanthum*, least ways as judged by assessments given in Saarela et al. (2010), Pimentel et al. (2013), Soreng et al. (2015), Tkach et al. (2020) — to list but a few of a long list of examples. However, starting with the elegant summaries by Connor (2008, 2012), some botanists, notably from South America, have maintained that the floral distinctions and differences in base chromosome numbers (*Anthoxanthum*  $x = 5$ , *Hierochloe*,  $x = 7$ ) are more than sufficient to justify keeping the genera separate (see for example Lema-Suárez et al., 2018; Lema-Suárez et al., 2021).

Recently, in Aotearoa / New Zealand, Ford (2023) elected to use *Anthoxanthum redolens* (Vahl) P. Royen for the 'taonga' (Te Reo Māori word meaning 'treasure') karetu / Holy grass — widely known in that country as *Hierochloe redolens* (Vahl) Roem. & Schult. Although Ford did not detail the

taxonomic debate on the issue, he went further and adopted the name in preference to *Hierochloe redolens* on the New Zealand Plant Conservation Network, adding further that *H. brunonis* and *H. fusca* are probably better regarded as part of *A[nthoxanthum] redolens* (Ford 2024), a view contrary to the findings of Edgar and Connor (2000, 2010).

When Ford (2023, 2024) made these decisions, this left six Aotearoa / New Zealand endemic *Hierochloe* without names in *Anthoxanthum*. On investigating these *Hierochloe* using *Plants of the World Online* (<https://powo.science.kew.org/>), we were surprised to find unpublished combinations for these six endemic *Hierochloe* in *Anthoxanthum* e.g., "*A. brunonis* (Hook. f.) ined." (<https://powo.science.kew.org/results?q=Hierochloe%20brunonis>).

On questioning *Plants of the World Online* about this apparent anomaly, we were told (R. Govaerts, pers. comm. May 2024) that '[Plants of the World Online] normally leave such names [nom. ined.] as unplaced but sometimes [they] put in some time to figure out all the synonymy and then it is more practical to put them under the correct name, so that is why there are sometimes ined./unpublished names'. The implication is that the authors of that website consider that *Hierochloe* should be reduced to synonymy in *Anthoxanthum*.

Whilst the literature suggests that the merger of *Hierochloe* proposed by Schouten and Veldkamp (1985) is still not universally accepted (Lema-Suárez et al. 2021), we think it preferable to provide combinations in *Anthoxanthum* for those Aotearoa / New Zealand *Hierochloe* lacking formal combinations. This is preferable to having names listed as 'ined.' so not effectively published on a world database of plant names. As stated earlier, Schouten and Veldkamp (1985) refrained from making the necessary combinations because they said a revision of the Aotearoa / New Zealand species of *Hierochloe* was needed. This has now been done (Edgar, Connor, 2000, 2010), and whilst some questions remain about the species on the Chatham Islands, there is now no reason not to make the necessary combinations in *Anthoxanthum* here. This situation is similar to that undertaken for members of the *Blechnum vulcanicum* (Blume) Kuhn complex, for which new combinations in that genus were proposed by Chambers and Wilson (2019) and then de Lange and Parris (2019) made the necessary combinations of those taxa in *Cranfillia* Gasper & V.A.O. Dittrich to provide legitimate name options for those preferring the generic segregation of the

*Blechnaceae* advocated by the Pteridophyte Phylogeny Group (PPG, 2016) and followed by many botanists worldwide.

Therefore, we make the necessary combinations under *Anthoxanthum* which we accept in the broad sense.

## New Combinations

*Anthoxanthum brunonis* (Hook. f.) de Lange & C.J. James, comb. nov.

**Basionym:** *Hierochloa brunonis* Hook. f., Bot. Antarct. Voy. 1 (Fl. Antarct.): 93 (1845) ≡ *H. antarctica* (Labill.) R. Br. var. *brunonis* (Hook. f.) Zotov, Trans. Roy. Soc. New Zealand 73: 234 (1943)

Life Science Identified (LSID): urn:lsid:ipni.org:names:77343403-1

*Anthoxanthum cupreum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov.

**Basionym:** *Hierochloa cuprea* Zotov, New Zealand J. Bot. 11: 571 (1973)

Life Science Identified (LSID): urn:lsid:ipni.org:names:773404-1

*Anthoxanthum equisetum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov.

**Basionym:** *Hierochloa equiseta* Zotov, New Zealand J. Bot. 11: 568 (1973)

Life Science Identified (LSID): urn:lsid:ipni.org:names:77343405-1

*Anthoxanthum fuscum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov.

**Basionym:** *Hierochloa fusca* Zotov, New Zealand J. Bot. 11: 576 (1973)

Life Science Identified (LSID): urn:lsid:ipni.org:names:77343406-1

*Anthoxanthum novae-zelandiae* (Gand.) de Lange & C.J. James, comb. nov.

**Basionym:** *Hierochloa novae-zelandiae* Gand., Bull. Soc. Bot. France 66: 300 (1920)

## REFERENCES

- Allred K.W., Barkworth M.E. 2007. *Anthoxanthum*. In: M.E. Barkworth, K. Capels, S. Long, L.K. Anderton (eds.). *Flora of North America north of Mexico*. Vol. 24. New York; Oxford: Oxford University Press, pp. 758–764.
- Chambers T.C., Wilson P.G. 2019. A revision of *Blechnum vulcanicum* (Blume) Kuhn and related taxa (*Blechnaceae*) in Maleisia and Oceania. *Telopea*, 22: 41–59. <https://doi.org/10.7751/telepea13185>
- Chepinoga V.V., Seregin A.P., Barkalov V.Y., Ebel A.L., Efimov P.G., Friesen N.V., Gontcharov A.A., Kechaykin A.A., Knyazev M.S., Korobkov A.A., Korolyuk E.A., Kosachev P.A., Luferov A.N., Melnikov D.G., Nikiforova O.D., Ovzinnikova S.V., Schekhovtsova I.N., Troshkina V.I. 2023. New combinations and new names in vascular plants of Asian Russia. *Botanica Pacifica*, 12: 120–133. <https://doi.org/10.17581/bp.2023.12s06>

Life Science Identified (LSID): urn:lsid:ipni.org:names:77343407-1

*Anthoxanthum recurvatum* (Hack.) de Lange & C.J. James, comb. nov.

**Basionym:** *Hierochloa fraseri* Hook. f. var. *recurvata* Hack., in Cheeseman, Manual New Zealand Fl: 856 (1906) ≡ *H. alpina* (Sw. ex Willd.) Roem. & Schult. var. *recurvata* (Hack.) Zotov, Trans. Roy. Soc. New Zealand 73: 235 (1943) ≡ *H. recurvata* (Hack.) Zotov, New Zealand J. Bot. 11: 566 (1973)

Life Science Identified (LSID): urn:lsid:ipni.org:names:77343408-1

## Acknowledgements

We would like to thank Dr Rafaël Govaerts for discussion on the transfer of Aotearoa / New Zealand *Hierochloa* to *Anthoxanthum*. For a past assessment of the generic position of *Hierochloa* in relation to *Anthoxanthum*, PdL would like to acknowledge the fruitful correspondence of the late Dr Henry Connor who was working with him on a revision of the Chatham Island species (2008–2014) when his advanced age and unfortunate illness prevented further developments. We would also like to recognise here the efforts of the editorial team of the *Ukrainian Botanical Journal* who continue to work and publish under extremely trying circumstances, and by extension our respect and admiration for the Armed Forces of Ukraine. *Manawareka tch'mouri ora! Me rongo* (Ta Re Moriori meaning 'nature is alive, be at peace').

## ETHICS DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

## ORCID

Peter J. de Lange: <https://orcid.org/0000-0001-6699-7083>  
Campbell J. James: <https://orcid.org/0009-0008-0637-7139>

- Connor H.E. 2008. Floral biology of Australian species of *Hierochloe* (Gramineae). *Australian Journal of Botany*, 50: 166–176. <https://doi.org/10.1071/BT07035>
- Connor H.E. 2012. Flowers and floral biology of the holy grasses (*Hierochloe* and *Anthoxanthum*: Aveneae, Gramineae). *Flora*, 207: 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2012.01.010>
- Connor H.E., Renvoize S.A. 2009. *Hierochloe quebrada* (Poaceae), a new species from Peru and notes on floral biology in South American species. *Kew Bulletin*, 64: 727–734. <https://doi.org/10.1007/s12225-009-9167-6>
- de Lange P.J. 2016. *Aequi iniqui* Henry E. Connor CNZM, M. Sc. (Hons), D. Sc., FRSNZ — Man of Science (4 August 1922 — 26 July 2016). *Trilepidea*, 153: 1–7. Available at: <https://www.nzpcn.org.nz/site/assets/files/0/51/277/trilepidea-153-160828.pdf>
- de Lange P.J., Parris B.S. 2019. New combinations in *Cranfillia* (Blechnaceae: Polypodiopsida) for recent segregates of the *Blechnum vulcanicum* complex. *Telopea*, 22: 153–156. <https://doi.org/10.7751/telepea14000>
- Edgar E., Connor H.E. 2000. *Flora of New Zealand*. Vol. 5. Grasses. Lincoln: Manaaki Whenua Press, 650 pp.
- Edgar E., Connor H.E. 2010. *Flora of New Zealand*. Vol. 5. Grasses. 2<sup>nd</sup> ed. Lincoln: Manaaki Whenua Press, 650 pp.
- Ford M. 2023. The return of Holy Grass, a century unrecorded in the North. *Trilepidea*, 228: 10–12. Available at: [https://www.nzpcn.org.nz/site/assets/files/0/73/202/trilepidea\\_april\\_2023\\_final.pdf](https://www.nzpcn.org.nz/site/assets/files/0/73/202/trilepidea_april_2023_final.pdf)
- Ford M. 2024. *Anthoxanthum redolens* Fact Sheet (content continuously updated). New Zealand Plant Conservation Network. Available at: <https://www.nzpcn.org.nz/flora/species/anthoxanthum-redolens/> (Accessed 31 May 2024).
- Lema-Suárez I., Balbuena E.S., Estévez-Pérez G., Loureiro J., Castro S., Pereira M.P. 2018. A taxonomic and evolutionary review of the South American *Hierochloë* section *Monoecia* (Poaceae: Anthoxanthinae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 186(3): 389. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box102>
- Lema-Suárez I., Sahuquillo E., Pimentel M. 2021. A revision of *Hierochloe* sect. *Monoecia* (Anthoxanthinae, Pooideae, Poaceae). *Phytotaxa*, 478(1): 92–104. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.478.1.6>
- Pimentel M., Sahuquillo E., Torrecilla Z., Popp M., Catalán P., Borchmann C. 2013. Hybridization and long-distance colonization at different time scales: towards resolution of long-term controversies in the sweet vernal grasses (*Anthoxanthum*). *Annals of Botany*, 112: 1015–1030. <https://doi.org/10.1093/aob/mct170>
- Pteridophyte Phylogeny Group [PPG]. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution*, 54: 563–603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- Saarela J.M., Liu Q., Peterson P.M., Soreng R.J., Paszko B. 2010. Phylogenetics of the grass 'Aveneae-type plastid DNA clade' (Poaceae: Pooideae, Poaeae) based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequence data. In: O. Seberg, G. Peterson, A. Barfod, J.I. Davis (eds.). *Diversity, phylogeny and evolution in the Monocotyledons*. Aarhus, Denmark: Aarhus University Press, pp. 557–586.
- Schouten Y., Veldkamp J.F. 1985. A revision of *Anthoxanthum* including *Hierochloë* (Gramineae) in Malesia and Thailand. *Blumea*, 30: 319–351. Available at: <https://repository.naturalis.nl/pub/526058>
- Soreng R.J., Peterson P.M., Romaschenko K., Davidse G., Zuloaga F.O., Judziewicz E.J., Filgueiras T.S., Davis J.I., Morrone O. 2015. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution*, 53: 117–137. <https://doi.org/10.1111/jse.12150>
- Tkach N., Schneider J., Döring E., Wölk A., Hochbach A., Nissen J., Winterfeld G., Meyer S., Gabriel J., Hoffman M.H., Röser M. 2020. Phylogenetic lineages and the role of hybridization as driving force of evolution in grass supertribe Pooideae. *Taxon*, 62: 234–277. <https://doi.org/10.1002/tax.12204>
- Villalobos N.I., Finot V.L., Ruiz E., Peñailillo P., Collado G. 2019. Morphometric and taxonomic study of the native Chilean species of genus *Anthoxanthum* (Poaceae, Pooideae, Poaeae, Anthoxanthinae). *Darwiniana*, nueva serie, 7(1): 93–136. <https://doi.org/10.14522/darwiniana.2019.71.822>

**Нові комбінації в роді *Anthoxanthum* (Poaceae) для новозеландських видів, які раніше включалися до роду *Hierochloe***

П.Дж. де ЛАНГЕ, К.Дж. ДЖЕЙМС  
Технічний університет УніТек, Окленд, Нова Зеландія

**Реферат.** Запропоновано нові комбінації в роді *Anthoxanthum* (Poaceae) для шести ендемічних для Нової Зеландії видів, які раніше включалися до складу роду *Hierochloe*: *Anthoxanthum brunonis* (Hook. f.) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*Hierochloe brunonis* Hook. f.), *A. cupreum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. cuprea* Zotov), *A. equisetum* (Zotov), de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. equisetum* Zotov), *A. fuscum* (Zotov) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. fuscum* Zotov), *A. novae-zelandiae* (Gand.) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. novae-zelandiae* Gand.) і *A. recurvatum* (Hack.) de Lange & C.J. James, comb. nov. (*H. fraseri* Hook. f. var. *recurvata* Hack.). Ці шість комбінацій були пропущені при перенесенні раніше визнаних видів *Hierochloe* до роду *Anthoxanthum* (Schouten, Veldkamp, 1985) і в подальших опрацюваннях.

**Ключові слова:** *Anthoxanthinae*, *Anthoxanthum*, *Hierochloe*, *Poaceae*, Нова Зеландія, нові комбінації, таксономія





<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.263>

RESEARCH ARTICLE

## *Subulicystidium perlongisporum* (Trechisporales), the first record in Ukraine

Mariia V. SHEVCHENKO \* , Mariia O. ZYKOVA 

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,  
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

\*Author for correspondence: [shevchenkovi8@gmail.com](mailto:shevchenkovi8@gmail.com)

**Abstract.** In this article we report the first record of *Subulicystidium perlongisporum*, a noteworthy corticioid fungus, which has never been previously recorded in Ukraine. A detailed morphological description of the examined specimen, along with the original photos, ecological specifics and global distribution details of the species are provided. The criteria for delimitation of long-spored species of *Subulicystidium* are discussed.

**Keywords:** Basidiomycota, corticioid fungi, Hydnodontaceae, long-spored species, rectangular crystals, subulate cystidia

### Introduction

*Subulicystidium* is a genus of corticioid fungi established in 1968 by the Estonian mycologist Erast Parmasto, with the type species *Subulicystidium longisporum* (Pat.) Parmasto. According to the *Index Fungorum* database (<https://www.indexfungorum.org/>) (accessed 05 March 2024), the genus comprises 25 species, including 16 species described over the last six years (Ordynets et al., 2018; Liu et al., 2019, 2022). This genus comprises the species with resupinate arachnoid fruit-bodies with a smooth hymenophore, finely velutinous due to the numerous protruding cystidia, the monomitic hyphal system with clamps near all septa and unique morphology of the subulate cystidia (Duhem,

Michel, 2001; Gorjón et al., 2011; Ordynets et al., 2018). The smooth thick crystalline sheath of cystidia is covered with two chains of the bow-tie-shaped crystals, which are seen in the light microscope as four chains of rectangular crystals along the cystidium body (Jülich, 1975; Keller, 1985; Ordynets et al., 2018). Such cystidia type has not been found in any other fungus. The presence of repetobasidia, as earlier referred to by some authors (Jülich, 1968; Libertta, 1980; Gorjón et al., 2011), was not confirmed by further morphological examinations. Ordynets et al. (2018) found out that it was a hyaline crystal collar at the base of the mature basidia, which is formed in some species. Another important feature is the basidiospores shape and dimensions. The length-to-width ratio (Q) of the spores is used in

ARTICLE HISTORY. Submitted 01 May 2024. Revised 26 July 2024. Published 29 August 2024

CITATION. Shevchenko M.V., Zykova M.O. 2024. *Subulicystidium perlongisporum* (Trechisporales), the first record in Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(4): 263–270. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.263>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

order to distinguish certain species within the genus. Traditionally, there were two morphological groups recognized with Q value higher and lower than four (Boidin, Gilles, 1988; Duhem, Michel, 2001; Gorjón et al., 2011; Ordynets et al., 2020). For the purpose of convenience, Ordynets et al. (2020) in their examinations of the genus *Subulicystidium* proposed to classify the species under this parameter as short-spored ( $Q < 4$ ) and long-spored ( $Q > 4$ ) species. Ordynets et al. (2018) suggested subdividing the short-spored species into three groups according to the basidiospore shape: species with fusiform, cylindrical and allantoid basidiospores, respectively. Long-spored species have acicular, vermicular or fusiform basidiospores (Punugu et al., 1980; Maekawa, 1994; Bernicchia, Gorjón, 2010; Gorjón et al., 2011; Liu et al., 2019, 2022; Ordynets et al., 2020).

The genus *Subulicystidium* belongs to the family *Hydnodontaceae* Jülich, order *Trechisporales* K.H. Larss. The order *Trechisporales* has been recently proposed by Karl-Henrik Larsson (in Hibbett et al., 2007). Some taxonomic changes were introduced relying on the recent phylogenetic studies covering the order *Trechisporales* (Liu et al., 2022): a new order *Sistotremastrales* L.W. Zhou & S.L. Liu was distinguished, with the family *Sistotremastraceae* L.W. Zhou & S.L. Liu and two genera, *Sertulicium* and *Sistotremastrum*; a new genus *Allotrechispora* L.W. Zhou & S.L. Liu separated from *Trechispora* was formally arranged within the family *Hydnodontaceae*, order *Trechisporales*; the genus *Boidinella* was transferred to the order *Cantharellales* (incertae sedis). Moreover, Liu et al. (2022) suggested excluding the genera *Litschauerella* and *Sphaerobasidium* from the order *Trechisporales*. However, due to lack of sufficient molecular data they are still formally considered within this order. According to the current data, one family *Hydnodontaceae* and 12 independent genera, viz. *Brevicellicium*, *Brevicellopsis*, *Dextrinocystis*, *Fibrodontia*, *Litschauerella*, *Luellia*, *Porpomyces*, *Pteridomyces*, *Subulicystidium*, *Suillosporium*, *Trechispora* and *Tubulicium*, are accepted in the *Trechisporales* (Larsson, 2007; de Meiras-Ottoni et al., 2021; Spirin et al., 2021; Liu et al., 2022). The relationships among these genera within the order *Trechisporales* are not fully clarified (Liu et al., 2022). However, the genus *Subulicystidium* was strongly supported as a monophyletic lineage within *Hydnodontaceae* in various reports (Ordynets et al., 2018, 2020; Spirin et al., 2021; Liu et al., 2019, 2022).

The species of genus *Subulicystidium* form fruit-bodies over dead, heavily decayed wood at the late stages of destruction and over plant debris in various forest ecosystems (Bernicchia, Gorjón, 2010; Ordynets et al., 2018, 2020). Nevertheless, exact nutrition mode of the genus is still unclear (Hibbett et al., 2014; Ordynets et al., 2018). The investigations indicate that this genus reaches the utmost species diversity in the tropical regions (Ordynets et al., 2018, 2020; Liu et al., 2019, 2022).

Currently, ca. 290 species of corticioid fungi have been recorded in Ukraine (Akulov et al., 2003; Usichenko, 2009; Bernicchia, Gorjón, 2010; Ordynets et al., 2017; Shevchenko, 2017, 2018; Dudka et al., 2019; Bohoslavets, Prydiuk, 2023). As compared to other countries of Northern or Western Europe, the corticioid fungi diversity in Ukraine has been still insufficiently studied. No dedicated examinations of the genus *Subulicystidium* have ever been undertaken in Ukraine. Therefore, only extremely scarce details about occurrence of these fungi in the country are available.

## Material and Methods

The examined specimen is deposited at the Mycological collection of the National Herbarium of Ukraine (KW-M) at the M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv. The basidiocarp description was based on the dried specimen. The sections of basidiocarp were prepared in 5% KOH to observe and measure the microscopic features; Cotton blue was used to identify cyanophilous element of basidiocarp; Melzer's reagent was employed to check amyloidity and dextrinoidity. The micromorphological characteristics were examined with a Carl Zeiss Jena Amplitval light microscope. The spore dimensions were obtained through at least 30 spore measurements per fruit-body. The other microstructures dimensions were obtained through 10 measurements per fruit-body. In the morphological descriptions, L stands for the arithmetic average for length of measured basidiospores, W — for the arithmetic average for width of measured basidiospores, Q — for variation in the ratio of L to W, and av. Q — for average ratio of L to W.

The species was identified according to Bernicchia and Gorjón (2010), Ordynets et al. (2018, 2020). The scientific name of the species is provided according to *Index Fungorum* database (<https://www.indexfungorum.org/>).

## Results

Details on distribution patterns of *Subulicystidium* in Ukraine are extremely limited. Prior to our research, merely one species, *S. longisporum*, had been recorded for the country's territory. GBIF contains information about 30 occurrences of *S. longisporum* in different regions of Ukraine (<https://doi.org/10.15468/dl.skrexp>); particularly, 25 specimens are preserved in CWU(MYC) (Kharkiv, Ukraine) and three — in MB (Marburg, Germany). We have also managed to find two records of this species in the literature references: (1) Mountain Crimea, near Sudak, the northwest outskirts of Dachne, on fallen branch of *Cornus* sp., August 2001, leg. E.O. Yurchenko (Akulov et al., 2003); (2) Zakarpatska (Trans-Carpathian) Region, Carpathian Biosphere Reserve, outskirts of Mala Uholka, on decayed deciduous wood, September 11, 2013, leg. A. Ordynets (CWU6737) (Ordynets et al., 2018).

Mycological observations conducted in July 2023 in the Hlyboki Balyky Ecological Research Station resulted in discovering the corticioid fungus identified as *S. perlongisporum*, which is the first record of the species for Ukraine.

We provide below a detailed description and illustrations of the macro- and micromorphological structures of the collected specimen of *S. perlongisporum*, along with an overview of its ecological specifics, global distribution and criteria for delimitation of long-spored species of *Subulicystidium*.

***Subulicystidium perlongisporum* Boidin & Gilles**, Bull. trimest. Soc. mycol. Fr. 104(3): 197. 1988. — Fig. 1

**Basidiome** annual, resupinate, thin, up to 75 µm thick, loosely adnate, soft and fragile, arachnoid, porulose and pubescent under the lens because of the projecting cystidia, whitish grey when fresh, light grey to grey when dry (Fig. 1A). Margin not differentiated. **Hyphal system** monomitic, all septa with clamps. Subiculum thin, with richly branched hyphae 3.5–4.5 µm wide, thin-walled to slightly thick-walled, hyaline and smooth. Subhymenium thin, hyphae 3.0–3.5 µm wide, thin-walled, smooth. **Cystidia** numerous, subulate, terminal or pleural, 40–55 × 3.0–3.5 µm, projecting up to 30–35 µm, without basal swelling, heavily encrusted except the apex, covered by rectangular crystals arranged in longitudinal rows (Fig. 1B–D). **Basidia** urniform, 9–12 × 3.5–4.5 µm, thin-walled, with 4 sterigmata and a basal clamp, without encrustation.

**Basidiospores** vermicular, hyaline, thin-walled, smooth (Fig. 1B(2)), inamyloid, indextrinoid, acyanophilous, guttulate, (11.9)16.6–20.7 (21.0) × (1.2)1.8–2.0(2.2) µm, L = 18.5, W = 1.6 µm, Q = 8.6–13.9, av. Q = 11.6.

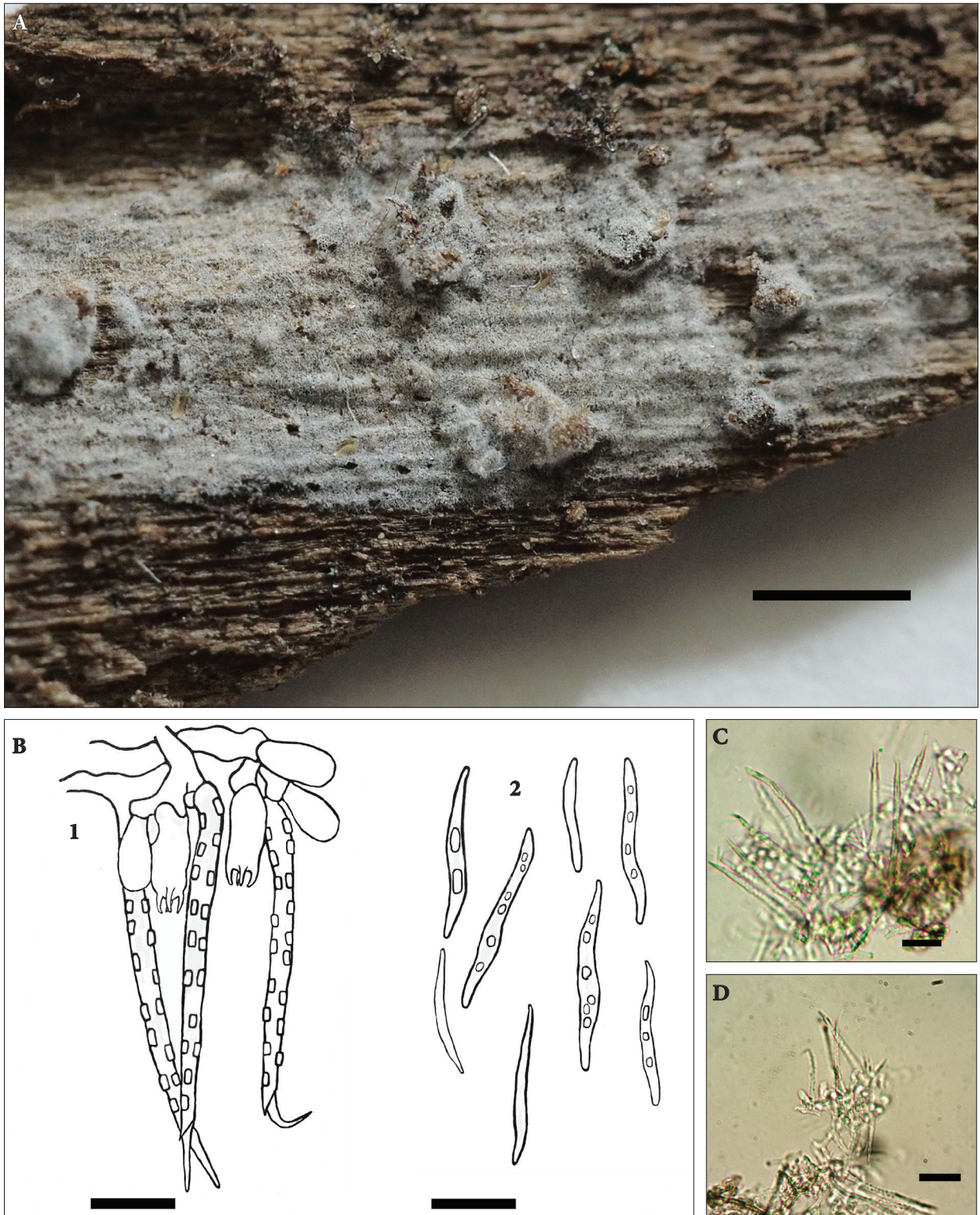
**Specimen examined.** Ukraine. Kyiv Region, Obukhiv District, outskirts of Rzhyschiv town, Hlyboki Balyky Ecological Research Station, 49°58'09.2" N 31°07'11.5" E, hornbeam-oak forest, on dead strongly decayed wood of *Carpinus betulus*, 27 July 2023, leg. M. Zykova (KW-M71581).

**General geographical distribution.** North (Central) America (Costa Rica, Cuba, Dominican Republic, Jamaica, Mexico), South America (Brazil), Africa (Canary Islands, Madagascar, Madeira, Reunion), Asia (China, Iran, Japan, Russia, Taiwan), Europe (Austria, Czech Republic, Estonia, France, Germany, Italy, Poland, Russia, Slovakia, Spain, Switzerland, Ukraine), Oceania (Vanuatu) (Boidin, Gilles, 1988; Duhem, Michel, 2001; Maekawa, 2002a, 2002b; Ghobad-Nejhad et al., 2009; Tellería et al., 2009; Bernicchia, Gorjón, 2010; Beltrán-Tejera et al., 2013; Urbizu et al., 2014; Saitta, Losi, 2016; Tejklová, Zíbarová, 2018; Ordynets et al., 2018, 2020, and references therein; Holec et al., 2019; Liu et al., 2019, 2022; Zíbarová, Pouska, 2020; Friebe et al., 2023).

**Ecological features.** According to Ordynets et al. (2018, 2020), fruit-bodies of this species are formed over fallen heavily decayed wood of deciduous trees. They may be also occasionally found on conifer wood, particularly of *Juniperus communis*, *Picea abies*, *Pinus sylvestris* (Duhem, Michel, 2001; Dämmrich, Rödel, 2017).

## Discussion

The length of the basidiospores in the examined specimen does not exceed 21 µm, which is generally slightly less than the value provided in the protologue (16–25 µm, Boidin, Gilles, 1988) and other descriptions (17–23 µm, Maekawa, 1994; 16–25 µm, Bernicchia, Gorjón, 2010). Ordynets et al. (2020) found two sympatric lineages present in *S. perlongisporum* that morphologically slightly differed in the mean length of cystidia. In the examined specimen, this value was equal to 47 µm which is in average slightly less than that reported in the consulted descriptions (Maekawa, 1994; Bernicchia, Gorjón, 2010). The examined specimen better fits in the clade 1 as defined in Ordynets et al. (2020).



**Fig. 1.** Macro- and microscopic features of *Subulicystidium perlongisporum* (KW-M71581). A: general view of its basidiome (bar = 2 cm); B: hymenium (1) and basidiospores (2) (bar = 10 µm); C, D: hymenium (bar = 20 µm)

Table 1. Morphological criteria for delimitation of long-spored species of Subulicystidium

Species	Basidiospores shape	Basidiospores dimensions (µm)	Q	Peculiarities of cystidium ornamentation	References
<i>S. acerosum</i>	Narrowly fusiform to slightly vermicular	14.5–20.0 × 1.8–2.2	8.3	Needle-like crystals in the middle part	Liu et al., 2019
<i>S. cochleum</i>	Acicular with twisted and curved distal end	20.0–27.0 × 2.0–3.0	9.0–10.0	Needle-like crystals in the middle part	Punugu et al., 1980
<i>S. curvisporum</i>	Acicular, spirally curved	27.0–35.0 × 2.0–2.5	13.5–14.0	Regularly covered with rectangular crystals except for the apex	Gorjón et al., 2011
<i>S. daii</i>	Fusiform to slightly vermicular	15.0–18.5 × 2.3–3.0	6.5–6.9	Regularly covered with rectangular crystals except for the apex	Liu et al., 2022
<i>S. longisporum</i>	Narrowly fusiform, usually sigmoid	12.0–16.0 × 2.0–3.0	4.5–7.0	Regularly covered with rectangular crystals except for the apex	Bernicchia, Gorjón, 2010
<i>S. perlongisporum</i>	Vermicular	17.0–23.0 × 2.0–2.5 (according to Maekawa); 16.0–25.0 × 1.5–2.5 (according to Bernicchia, Gorjón, 2010)	9.0–11.0	Regularly covered with rectangular crystals except for the apex	Maekawa, 1994; Bernicchia, Gorjón, 2010; Ordynets et al., 2020
<i>S. tropicum</i>	Fusiform to slightly vermicular	11.0–13.0 × 1.8–2.0	5.95	Regularly covered with rectangular crystals except for the apex	Liu et al., 2019

The genus-level phylogenetic analyses based on the ITS+28S dataset completed by Ordynets et al. (2018, 2020) showed that long-spored *Subulicystidium* were not closely related. *Subulicystidium perlongisporum* was most closely related to *S. robustius* K.H. Larss. & Ordynets and *S. rarocrystallinum* Ordynets & K.H. Larss., as well as to *S. boidinii* Ordynets, Striegel & Langer, *S. harpagum* Ordynets, Striegel & K.H. Larss., *S. parvisporum* Ordynets & Langer and *S. tropicum* S.H. He & S.L. Liu. Ordynets et al. (2020) consider that the presence of long basidiospores in different phylogenetic lines results from homoplasmy within this genus.

As of the date, seven long-spored species have been described relying on the morphological and molecular data (*S. acerosum* S.H. He & S.L. Liu, *S. cochleum* Punugu, *S. curvisporum* Gorjón, Gresl. & Rajchenb., *S. daii* S.L. Liu & L.W. Zhou, *S. longisporum* (Pat.) Parmasto, *S. perlongisporum* and *S. tropicum*) (Parmasto, 1968; Boidin, Gilles, 1988; Gorjón et al., 2011; Ordynets et al., 2018, 2020; Liu et al., 2019, 2022). The major morphological feature that enables distinguishing these species is the shape and dimensions of basidiospores, and to the lesser extent — their length-to-width ratio (Table 1). Moreover, Ordynets et al. (2020) confirmed the data provided by Boidin and Gilles (1988) and Duhem and Michel (2001), whereunder the examined

specimens of the genus *Subulicystidium* showed that the spore length is more variable than the spore width and the length-to-width ratio.

The longest basidiospores (27–35 × 2.0–2.5 µm) among the species described to date are reported in *S. curvisporum* (Table 1). Additionally to the length of the spores, *S. curvisporum* differs from its closely related species, *S. longisporum* and *S. perlongisporum*, in unique spirally curved basidiospores (Gorjón et al., 2011). *Subulicystidium cochleum* has somewhat shorter spores (20–27 × 2–3 µm), than that in *S. curvisporum*, featuring acicular basidiospores with twisted and curved distal end (Punugu et al., 1980; Ordynets et al., 2020).

*Subulicystidium perlongisporum* resembles *S. acerosum*, *S. longisporum* and *S. tropicum* by sharing the narrow basidiospores, but differs from *S. acerosum* in lacking the needle-like crystals on the cystidium body, from *S. longisporum* and *S. tropicum* it differs in having longer basidiospores (Maekawa, 1994; Liu et al., 2019; Bernicchia, Gorjón, 2010; Ordynets et al., 2020). *Subulicystidium tropicum* is also similar to *S. longisporum*, but differs in having slender basidiospores and a tropical distribution (Liu et al., 2019).

According to Liu et al. (2022), *S. daii* resembles *S. cochleum* and *S. perlongisporum* by the long and straight or slightly curved basidiospores; however, *S.*

*cochleum* differs in the presence of a bundle of needle-like crystals at the cystidial crystalline sheath ends, while *S. perlongisporum* differs in its narrower basidiospores. Also, *S. daii* is distinct from *S. acerosum* by the absence of needle-like crystals and by having wider basidiospores (Liu et al., 2019).

*Subulicystidium acerosum* and *S. cochleum* differ from the other long-spored species by sharing cystidia that are sheathed by needle-like crystals in the middle part (Ordynets et al., 2020). This crystal arrangement is different from most species in *Subulicystidium* that have rectangular crystals arranged in longitudinal rows (Ordynets et al., 2018). *Subulicystidium cochleum* is distinguishable from *S. acerosum* in having larger basidiospores (Punugu et al., 1980; Ordynets et al., 2018; Liu et al., 2019).

The global distribution patterns of some newly described *Subulicystidium* species still remain unclear. *Subulicystidium acerosum*, *S. daii* and *S. tropicum* are known only from the type locality from China (Liu et al., 2019, 2022), while *S. curvisporum* is recorded only in the woods of the Patagonian Andes in Argentina (Gorjón et al., 2011). *Subulicystidium cochleum* is distributed in the tropical and subequatorial regions. It was found in the Hawaiian Islands, Jamaica, Madagascar, Santa Lucia and Costa Rica (Punugu et al., 1980; Kisimova-Horovitz et al., 1997; Gilbertson et al.,

2002; Ordynets et al., 2020). The examinations of long-spored species of *Subulicystidium* performed by Ordynets et al. (2020) significantly enriched the knowledge about their geographical distribution. *Subulicystidium longisporum* and *S. perlongisporum* are known from all continents, while for *S. cochleum* its transoceanic distribution was confirmed (Ordynets et al., 2020).

*Subulicystidium perlongisporum* is a species widely distributed worldwide, being known from all the continents; despite that, it has never been recorded in Ukraine so far. Whereas this species is confined to forest ecosystems, and subject to significant forestation of Ukraine, new findings should be expected in other regions of the country.

## Acknowledgement

The authors are sincerely grateful to an anonymous reviewer for the valuable comments regarding the manuscript.

## ETHICS DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

## ORCID

M.V. Shevchenko:  <https://orcid.org/0000-0001-9173-7662>

M.O. Zykova:  <https://orcid.org/0000-0002-2925-7075>

## REFERENCES

- Akulov A.Yu., Usichenko A.S., Leontyev D.V., Yurchenko E.O., Prydiuk M.P. 2003. Annotated checklist of aphylloporoid fungi of Ukraine. *Mycena*, 2(2): 1–76.
- Beltrán-Tejera E., Rodríguez-Armas J.L., Tellería M.T., Dueñas M., Melo I., Díaz-Armas J., Salcedo I., Cardoso J. 2013. Corticioid fungi from arid and semiarid zones of the Canary Islands (Spain). Additional data. 2. *Mycotaxon*, 123: 492.
- Bernicchia A., Gorjón S.P. 2010. *Corticaceae s. l.* — *Fungi Europaei*. Vol. 12. Alassio: Edizioni Candusso, 1008 pp.
- Bohoslavets O.M., Prydiuk M.P. 2023. Some wood-inhabiting Basidiomycota from the primeval forests with *Pinus cembra* in Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 80(5): 399–408. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj80.05.399>
- Boidin J., Gilles G. 1988. Basidiomycètes aphylloporales de l’Ile de la Réunion. XII: Le genre *Subulicystidium* Parmasto. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, 104(3): 191–198.
- Dämmrich F., Rödel T. 2017. *Subulicystidium perlongisporum*. Revisionen und Neufunden in Sachsen. *Boletus*, 38(1): 15–19.
- Dudka I.O., Heluta V.P., Prydiuk M.P., Tykhonenko Yu.Ya., Akulov O.Yu., Hayova V.P., Zykova M.O., Andrianova T.V., Dzhanakova V.V., Shcherbakova Yu.V. 2019. *Fungi of reserves and national nature parks of the Ukrainian Carpathians*. Kyiv: Naukova Dumka, 215 pp. [Дудка І.О., Гелюта В.П., Придюк М.П., Тихоненко Ю.Я., Акулов О.Ю., Гайова В.П., Зикова М.О., Андрианова Т.В., Джанган В.В., Щербакова Ю.В. 2019. *Гриби заповідників і національних природних парків Українських Карпат*. Київ: Наукова думка, 215 с.]
- Duhem B., Michel H. 2001. Contribution à la connaissance du genre *Subulicystidium* Parmasto 1968 (*Basidiomycotina*, *Xenasmatales*). *Cryptogamie, Mycologie*, 22(3): 163–173.
- Friebes G., Gallé A., Michelitsch S. 2023. Ergänzungen zur Funga der Steiermark 4. *Joannea Botanik*, 19: 149–186.
- GBIF.org. 2024–onward. *Subulicystidium perlongisporum* Boidin & Gilles. GBIF Occurrence Download. <https://doi.org/10.15468/dl.skrexp> (Accessed 09 July 2024).
- Gilbertson R.L., Bigelow D.M., Hemmes D.E., Desjardin D.E. 2002. Annotated checklist of wood-rotting Basidiomycetes of Hawai’i. *Mycotaxon*, 82: 215–239.

- Ghobad-Nejhad M., Hallenberg N., Parmasto E., Kotiranta H. 2009. A first annotated checklist of corticioid and polypore basidiomycetes of the Caucasus region. *Mycologia Balcanica*, 6: 123–168.
- Gorjón S.P., Greslebin A.G., Rajchenberg M. 2011. *Subulicystidium curvisporum* sp. nov. (*Hymenochaetales*, *Basidiomycota*) from the Patagonian Andes. *Mycotaxon*, 118: 47–52. <https://doi.org/10.5248/118.47>
- Hibbett D.S., Bauer R., Binder M., Giachini A.J., Hosaka K., Justo A., Larsson E., Larsson K.H., Lawrey J.D., Miettinen O., Nagy L.G., Nilsson R.H., Weiss M., Thorn R.G. 2014. 14 *Agaricomycetes*. In: *Systematics and Evolution. The Mycota VII*. Part A. Eds D.J. McLaughlin, J.W. Spatafora. Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 373–429. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-55318-9\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-642-55318-9_14)
- Hibbett D.S., Binder M., Bischoff J.F., Blackwell M., Cannon P.F., Eriksson O.E., Huhndorf S., James T., Kirk P.M., Lücking R., Lumbsch H.T., Lutzoni F., Matheny P.B., McLaughlin D.J., Powell M.J., Redhead S., Schoch C.L., Spatafora J.W., Stalpers J.A., Vilgalys R., Aime M.C., Aptroot A., Bauer R., Begerow D., Benny G.L., Castlebury L.A., Crous P.W., Dai Y.C., Gams W., Geiser D.M., Griffith G.W., Gueidan C., Hawksworth D.L., Hestmark G., Hosaka K., Humber R.A., Hyde K.D., Ironside J.E., Kõljalg U., Kurtzman C.P., Larsson K.H., Lichtwardt R., Longcore J., Miadlikowska J., Miller A., Moncalvo J.M., Mozley-Standridge S., Oberwinkler F., Parmasto E., Reeb V., Rogers J.D., Roux C., Ryvarden L., Sampaio J.P., Schüssler A., Sugiyama J., Thorn R.G., Tibell L., Untereiner W.A., Walker C., Wang Z., Weir A., Weiss M., White M.M., Winka K., Yao Y.J., Zhang N. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111: 509–547. <https://doi.org/10.1016/J.MYCRE.2007.03.004>
- Holec J., Beták J., Dvorák D., Křiž M., Kucharíková M., Krzysciak-Kosinska R., Kucera T. 2019. Macrofungi on fallen oak trunks in the Białowieża Virgin Forest — ecological role of trunk parameters and surrounding vegetation. *Czech Mycology*, 71(1): 65–89. <https://doi.org/10.33585/cmy.71105>
- Jülich W. 1968. Über die Gattungen *Piloderma* gen. nov. und *Subulicystidium* Parm. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 81: 414–421.
- Jülich W. 1975. Studien an Cystiden-I. *Subulicystidium* Parm. *Persoonia*, 8: 187–190.
- Keller J. 1985. Les cystides cristallifères des *Aphyllphorales*. *Mycologia Helvetica*, 1: 277–340.
- Kisimova-Horovitz L., Oberwinkler F., Gómez L.D. 1997. Basidiomycetes Resupinados de Costa Rica. *Litschauerella*, *Subulicystidium* y *Tabulicium*. *Revista de Biología Tropical*, 45(4): 1311–1324.
- Larsson K.H. 2007. Re-thinking the classification of corticioid fungi. *Mycological Research*, 111: 1040–1063.
- Liberta A.E. 1980. Notes on the genus *Subulicystidium*. *Mycotaxon*, 10(2): 409–412.
- Liu S.L., Ma H.X.; He S.H., Dai Y.C. 2019. Four new corticioid species in *Trechisporales* (*Basidiomycota*) from East Asia and notes on phylogeny of the order. *MycKeys*, 48: 97–113. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.48.31956>
- Liu S.L., He S.H., Wang X.W., May T.W., He G., Chen S.L., Zhou L.W. 2022. *Trechisporales* emended with a segregation of *Sistotremastrum* ord. nov. (*Basidiomycota*). *Mycosphere*, 13(1): 862–954. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/13/1/11>
- Maekawa N. 1994. Taxonomic study of Japanese *Corticaceae* (*Aphyllphoraceae*) II. *Reports of the Tottori Mycological Institute*, 32: 1–123.
- Maekawa N. 2002a. Corticioid fungi (*Basidiomycetes*) collected in Sichuan province, China. *Mycotaxon*, 83: 81–95.
- Maekawa N. 2002b. Corticioid fungi (*Basidiomycota*) collected in Vanuatu. *Annals of the Tsukuba Botanical Garden*, 21: 119–126.
- de Meiras-Ottoni A., Larsson K.H., Gibertoni T.B. 2021. Additions to *Trechispora* and the status of *Scytinopogon* (*Trechisporales*, *Basidiomycota*). *Mycological Progress*, 20: 203–222. <https://doi.org/10.1007/s11557-021-01667-y>
- Ordynets A., Savchenko A., Akulov A., Yurchenko E., Malysheva V., Kõljalg U., Vlasák J., Larsson K., Langer E. 2017. Aphyllorphoid fungi in insular woodlands of eastern Ukraine. *Biodiversity Data Journal*, 5: e22426. <https://doi.org/10.3897/BDJ.5.e22426>
- Ordynets A., Scherf D., Pansegrau F., Denecke J., Lysenko L., Larsson K.-H., Langer E. 2018. Short-spored *Subulicystidium* (*Trechisporales*, *Basidiomycota*): high morphological diversity and only partly clear species boundaries. *MycKeys*, 35: 41–99. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.35.25678>
- Ordynets A., Liebisch R., Lysenko L., Scherf D., Volobuev S., Saitta A., Larsson K.-H., Yurchenko E.O., Buyck B., Bolshakov S., Langer E. 2020. Morphologically similar but not closely related: the long-spored species of *Subulicystidium* (*Trechisporales*, *Basidiomycota*). *Mycological Progress*, 19: 691–703. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01587-3>
- Parmasto E. 1968. *Conspectus Systematis Corticiacearum*. Tartu, Estonia: Institutum zoologicum et botanicum Academiae scientiarum R.P.S.S., 120 pp.
- Punugu A., Dunn M.T., Welden A.L. 1980. The peniophoroid fungi of the West Indies. *Mycotaxon*, 10(2): 428–454. Available at: <http://www.cybertruffle.org.uk/cyberliber/59575/index.htm>
- Saitta A., Losi C. 2016. New records of corticioid fungi from Sicily. *Check List: Journal of species lists and distribution*, 12(5): 1–9.
- Shevchenko M.V. 2017. New and rare for Ukraine records of corticioid fungi. *Ukrainian Botanical Journal*, 74(3): 293–297. [Шевченко М.В. 2017. Нові та рідкісні для України види кортиціоїдних грибів. *Український ботанічний журнал*, 74(3): 293–297]. <https://doi:10.15407/ukrbotj74.03.293>
- Shevchenko M.V. 2018. Noteworthy records of corticioid fungi from Ichnia National Nature Park. *Ukrainian Botanical Journal*, 75(1): 77–83. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj75.01.077>
- Spirin V., Volobuev S., Viner I., Miettinen O., Vlasák J., Schouteten N., Motato-Vásquez V., Kotiranta H., Hernawati, Larsson K.-H. 2021. On *Sistotremastrum* and similar-looking taxa (*Trechisporales*, *Basidiomycota*). *Mycological Progress*, 20: 453–476. <https://doi.org/10.1007/s11557-021-01682-z>

- Tejklová T., Zibarová L. 2018. A contribution to the knowledge of lignicolous fungi of Podunajská Nižina lowland (Slovakia). *Catathelasma*, 19: 5–77.
- Tellería M.T., Melo I., Dueñas M., Salcedo I., Cardoso J., Rodríguez-Armas J.L., Beltrán-Tejera E. 2009. Corticioid fungi (*Basidiomycota*) from Madeira Island. *Mycotaxon*, 106: 419–422.
- Urbizu M., Siqueiros M.E., Abrego N., Salcedo I. 2014. New records of aphylloroid fungi from Aguascalientes, Mexico and an approach to their ecological preferences. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 1007–1018. <https://doi.org/10.7550/rmb.35264>
- Usichenko A.S. 2009. New floristic records of the Aphylloroid fungi from North-Eastern Ukraine. *Chornomorski Botanical Journal*, 5(2): 276–289. [Усіченко А.С. 2009. Нові знахідки афілофороїдних грибів з Північного Сходу України. *Чорноморський ботанічний журнал*, 5(2): 276–289].
- Zibarová L., Pouska V. 2020. New records of corticioid fungi in the Bohemian Forest (Czech Republic). *Czech Mycology*, 72(2): 109–150. <https://doi.org/10.33585/cmy.72201>

***Subulicystidium perlongisporum* (Trechisporales),  
перша знахідка в Україні**

Марія В. ШЕВЧЕНКО, Марія О. ЗИКОВА  
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,  
вул. Терещенківська 2, Київ 01601, Україна

**Реферат.** У статті наведені відомості про першу знахідку *Subulicystidium perlongisporum* — цікавого кортиціоїдного гриба, який раніше не реєстрували на території України. Подано детальний морфологічний опис та фото дослідженого зразка, а також особливості субстратної спеціалізації і загальне поширення цього виду у світі. Наведено критерії, які використовуються для розмежування видів роду *Subulicystidium* із довгими спорами.

**Ключові слова:** *Hudnodontaceae*, *Basidiomycota*, види з довгими спорами, кортиціоїдний гриб, прямокутні кристали, шилоподібні цистиди





<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.271>

SHORT COMMUNICATION

## *Artomyces microsporus* (*Auriscalpiaceae*), a rare species that may be confused with *A. pyxidatus*

Vera HAYOVA 

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,  
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

Address for correspondence: [v.hayova@gmail.com](mailto:v.hayova@gmail.com)

**Abstract.** *Artomyces microsporus*, a lignicolous basidiomycete first reported in Europe from Ukraine almost two decades ago, is morphologically quite similar to *A. pyxidatus*, the most commonly encountered species of the genus across the temperate zone of the Northern Hemisphere. This survey is aimed at defining useful characters for the reliable distinction of these species in the field, in addition to species identification based on molecular data. Both morphological characters of the basidiomes and host/substrate preferences of *A. microsporus* are considered. The defined characters for identification of *A. microsporus* can be widely used by citizen scientists providing observations of the fungal occurrences for biodiversity repositories and social media networks. The reliable data for the species identification will contribute to determining the distribution patterns of *A. microsporus* regionally and worldwide.

**Keywords:** *Artomyces*, *Basidiomycota*, citizen science, *Clavicornia*, distribution, host preference, morphology

### Introduction

Data gathering by non-professionals, commonly known as citizen science or community science, provides a substantial contribution to the knowledge of biodiversity. Using numerous online applications, amateur scientists can share their observation records through various data collection initiatives. A large amount of species occurrence records on the world's fauna, flora and funga is continuously uploaded to a global publicly available online platform for sharing biodiversity data, iNaturalist (<https://www.inaturalist.org>), and, eventually, to GBIF (Global Biodiversity Information Facility,

<https://www.gbif.org>), the largest biodiversity repository in the world.

Given the highly restricted number of professional mycologists worldwide, the additional records of fungi uploaded by volunteers are of particular scientific value. The species observations of fungi are submitted directly to the major international platforms and/or to some specialised networks dedicated to documenting fungal records on the national level. Since recently, they are widely used in mycological research, including large-scale studies on fungal diversity, ecology, distribution and conservation (Heilmann-Clausen et al., 2016, 2019; Haelewaters et al., 2024 and references therein).

---

ARTICLE HISTORY. Submitted 08 July 2024. Revised 27 August 2024. Published 29 August 2024

CITATION. Hayova V. 2024. *Artomyces microsporus* (*Auriscalpiaceae*), a rare species that may be confused with *A. pyxidatus*. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(4): 271–277. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.271>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

The primary data on species occurrence is also collected by various social media platforms, such as biodiversity observation groups on Facebook. They are a valuable source of information for professional scientists but still remain largely unexploited, mainly due to less structured data and the bias of some data. However, the accuracy of taxa identification is usually assessed by group moderators and scientific expertise, as, for example, is done in the Facebook community “Fungi of Ukraine” (“Гриби України”, <https://www.facebook.com/groups/1054204501266549/>); see Shevchenko et al., 2021; Heluta et al., 2022; Martyniuk et al., 2024).

Here below is the case of two similar species of fungi, a lesser-known species that may be confused with more familiar one, and some additional data to reduce taxonomic uncertainty in the online records of these fungi.

### ***Artomyces* or *Clavicornia*?**

The genus *Artomyces* Jülich (*Auriscalpiaceae*, *Russulales*) is composed of lignicolous species with coralloid, pyxidately branched basidiomes. Microscopically, basidiomes of the genus are distinguished by the presence of gloeoplerous hyphae, hymenium gloeocystidia and small, white to hyaline, amyloid basidiospores. Formerly, these taxa were placed in the genus *Clavicornia* Doty, namely the subgenus *Ramosa* Dodd, thus being separated from those in the subgenus *Clavicornia* with clavarioid unbranched basidiomes growing on plant litter (Dodd, 1972). Walter Jülich (1981) raised *Clavicornia* subgen. *Ramosa* to the genus rank and established the new genus *Artomyces*, with *A. pyxidatus* (Pers.) Jülich as the type species. However, the name *Artomyces* was not instantly accepted and *A. pyxidatus* was continuously referred to as *Clavicornia pyxidata* (Pers.) Doty (Wu, Petersen, 1992; Wu et al., 1995).

In the early 2000s, extensive morphological and molecular studies confirmed the generic segregation between *Artomyces* and *Clavicornia*, and new combinations in *Artomyces* were provided (Lickey et al., 2003). Moreover, it has been demonstrated that the two genera are not phylogenetically related and *Clavicornia* is a close match to euagarics. In subsequent phylogenetic research (Birkebak et al., 2013), a single stem lineage was revealed for *Clavicornia* within the *Clavaria* clade in the *Clavariaceae* (*Agaricales*).

### **Occurrence of *Artomyces* species globally and in Europe**

Currently the genus *Artomyces* comprises 17 accepted species (<https://www.indexfungorum.org/>). Of them, nine species occur in Australasia (with the highest species diversity, including endemics, in New Zealand and Australia), six in North America (USA, Costa Rica, Canada), three in South America (Argentina, Chile) and one or two species are reported from each of several countries in Southeast and East Asia (Lickey et al., 2003; Lee et al., 2014; Liu et al., 2023; <https://www.gbif.org/>). About a half of *Artomyces* species have a narrowly restricted range or are known from a single or several collections only. One of such rare species, *Artomyces nothofagi* R.J. Kneal & M.E. Sm., recently described from Chile (Kneal, Smith, 2015), has been assessed for the IUCN Red List as an Endangered species globally (Furci, Smith, 2020).

In Europe, at present three species of *Artomyces* are known to occur: *A. pyxidatus*, *A. cristatus* (Kauffman) Jülich and *A. microsporus* (Qiu X. Wu & R.H. Petersen) Lickey. A well-known species of the genus, *A. pyxidatus*, is the most common and widely distributed throughout the temperate zone of the Northern Hemisphere (Lickey et al., 2002). *Artomyces cristatus*, described from the USA and previously known from the USA, Canada and Northern Europe (Lickey et al., 2003), is now repeatedly recorded in Norway and Sweden (<https://www.gbif.org/>). *Artomyces microsporus*, originally described from Japan (Wu, Petersen, 1992) and first reported in Europe from Ukraine (Fraiture et al., 2008), is apparently also known from several European countries (GBIF.org, 2024).

### ***Artomyces microsporus* versus *A. pyxidatus***

Of the three mentioned above species of *Artomyces* occurring in Europe, *A. cristatus* can be easily distinguished by rather small, simple, unbranched to rarely twice branched basidiomes (Lickey et al., 2003), whereas *A. pyxidatus* and *A. microsporus* have similar macromorphological characters such as quite large, coralloid, profusely and pyxidately branched basidiomes. Microscopically, *A. microsporus* can be distinguished by its smaller (shorter) basidiospores,  $3.0\text{--}3.8 \times 2.0\text{--}2.8$  vs.  $3.6\text{--}4.8 \times 2.4\text{--}2.8$   $\mu\text{m}$  in *A. pyxidatus* (Lickey et al., 2003; Fraiture et al., 2008). The delimitation of these two species

was also supported by their mating incompatibility (Wu, Petersen, 1992) and by phylogenetic analysis of the rDNA ITS sequences (Lickey et al., 2003). Identification of the Ukrainian specimens of *A. microsporus* has been also confirmed by rDNA ITS sequencing (Fraiture et al., 2008).

Undoubtedly, the most reliable method for identification of the *Artomyces* spp. is microscopic examination with measuring spore dimensions, followed by DNA sequencing. However, citizen scientists are rarely involved in genomic biodiversity research projects. Volunteers and amateurs usually photograph and post their observation records to social media platforms without collecting specimens of fungi for genome sequencing or microscopic examination. Most of them are not familiar with the field methods for collecting, preserving and identifying fungal specimens. However, amateur experts, while in the field, may notice and record some characters useful for species identification, if those are defined and communicated.

Some of the visually distinctive characters of *A. microsporus* have been already reported by Fraiture et al. (2008), e.g. compact habit of basidiomes. In *A. microsporus*, the upright branches are tightly clustered from the base right through the top of the basidiome (Fig. 1A), in contrast to those of *A. pyxidatus*, which are loosely arranged and remain well separated from each other towards the top (Fig. 3A). Indeed, basidiomes of *A. microsporus* have the appearance, as if they have been growing in a tightly restricted space. The branches are usually densely packed from the very base of basidiomes. Large basidiomes are often wider at the base than at the top and thus resemble in shape a half rugby ball with a flat base (Fig. 2).

Another distinguishing character is that in *A. microsporus* the branches appear almost not broadened or only slightly broadened towards branching nodes and apices (Fig. 1B), unlike those in *A. pyxidatus*, which appear noticeably wider towards the nodes and apices (Fig. 3B). This feature of the former species is also notable in less tightly packed basidiomes with more slender branches.

Colour of the basidiomes in both species is rather variable depending on weather conditions and the development stage. However, the colour of coronate branch tips is apparently an important morphological character. The light orange apices of branches have been reported previously as a unique character in *A. microsporus* (Wu, Petersen, 1992), comparatively to pale yellowish apices in *A. pyxidatus* (Wu



**Fig. 1.** *Artomyces microsporus*. A: basidiome; B: a close-up of its branching pattern (image: E. Singayevskiy)



**Fig. 2.** Basidiome of *Artomyces microsporus* (image: V. Kavurka)

et al., 1995). With age, the branch tips in *A. microsporus* become orange brown to dark brown (Fraiture et al., 2008). The originally orange coloured tips (Fig. 1B) upon desiccation under dry weather conditions turn dark amber to blackish brown, and then basidiomes of *A. microsporus* may have the superficial appearance as if they were slightly burnt.

In Ukraine, *A. microsporus* was first recorded in 2004 on the outskirts of Kyiv City (Novobilychi neighbourhood), in a pine forest with admixture of oak and other deciduous trees and shrubs (Fraiture et al., 2008). It was repeatedly observed at the same site in the forest to the north-west of the city suburbs for the subsequent years. Most likely, the fungus could still be found there by now. However, at present it may be unsafe to access that forest parcel, as it extends across the area immediately adjacent to severely affected towns of Irpin and Bucha, where

Russia's invaders advancing towards Kyiv have been stopped in March 2022.

Nevertheless, a long-term personal observation of the occurrence of *A. microsporus* in the reported locality in the late 2000s–2010s provided additional information on morphology (described above) and ecology of the fungus, in particular about its tree host species/substrate preference and position of host trees (standing tree/fallen trunk). In all observed there records of *A. microsporus*, the host plant was the Scots pine (*Pinus sylvestris* L., also known as the Baltic pine or European red pine). The substrate was dead wood, especially stumps and fallen trunks, but also standing trees. On dead standing trunks, the basidiomes were occasionally found at a height up to one metre above ground. It is also worth noting that the fungus was frequently observed on relatively undecayed wood substrate, i.e. bark-covered fallen trunks and cut stumps at an initial state of decay. This is in contrast to *A. pyxidatus*, which is commonly found on well decayed wood, mostly on barkless fallen logs or stumps at more advanced stages of wood decomposition.

In Europe, *A. microsporus* is apparently a host-dependent species occurring on coniferous (pine) wood. In all known up to now records, including those from Ukraine (Fraiture et al., 2008) and the reliable data on the host substrate accessible in GBIF (GBIF.org, 2024), *A. microsporus* shows a clear preference for *Pinus* spp. as host plants. It was also reported on the bark of *Pinus densiflora* Siebold & Zucc. from Korea (Lee et al., 2014). However, the holotype specimen was collected in Japan on hardwood (Wu, Petersen, 1992) and a recent collection from China was also reported on a dead angiosperm (Liu et al., 2023). On the contrary, *A. pyxidatus* has a wide spectrum of various deciduous hosts, with only occasional records on coniferous wood.

### Current distribution patterns of *Artomyces microsporus*

Hitherto, there is limited published data on the worldwide occurrence of *A. microsporus*, based on the specimens identified using molecular markers. According to the sequence data in GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), the sequenced up to now vouchers of *A. microsporus* are of Asian and European origin and represent the following countries: Japan (Lickey et al., 2003), Ukraine (Fraiture et al., 2008), Korea (Lee et al., 2014; Min et al., 2021) and China (Zhao et al., 2017; Liu et al., 2023).

Much more extensive information on the distribution of *A. microsporus*, based on macromorphology and host preference of the fungus, is currently accessible on the global biodiversity platforms. The GBIF provides over 70 occurrence records for *A. microsporus* from 11 countries (GBIF.org, 2024); these include automatically uploaded to GBIF the “Research Grade” observations from iNaturalist (<https://www.inaturalist.org>). Thus, based on the published data and the information on the distribution pattern deposited in GBIF, *A. microsporus* is apparently known from Europe (Austria, Belarus, Czech Republic, Germany, Lithuania, Poland, RF, Ukraine) and Asia (China, Japan, Korea, RF).

Within Ukraine, observations of the occurrences of *A. microsporus* posted by amateurs to the “Fungi of Ukraine” Facebook group (<https://www.facebook.com/groups/1054204501266549/>), have also greatly expanded the distribution pattern for this fungus from previously reported Kyiv Region to much wider areas, mostly in the north and west of the country, including Cherkasy, Chernihiv, Khmelnytskyi, Lviv, Rivne, Volyn and Zhytomyr regions.

## Conclusion

Although morphological characteristics of the basidiomes of *A. microsporus* are quite variable, some distinctive characters described above are apparently species-specific and can be useful for the species delimitation. In combination with the host/substrate preference, those characters can help amateurs and citizen scientists to differentiate the observations of *A. microsporus* from those of *A. pyxidatus* in the field and to select those specimens that otherwise need to be collected for DNA sampling.

The advantage of this approach is a minimum extent of necessary collections that should be preserved for further examination and molecular analysis, while the rest of field data on the occurrence of these fungi can be simply photographed and uploaded directly to the biodiversity repositories or social media platforms. This will significantly contribute to clarifying and providing regular updates on the distribution patterns of *A. microsporus* at the local, continental and global scales.

## Acknowledgements

I am very grateful to André Fraiture (Meise Botanic Garden, Belgium) for drawing my attention



**Fig. 3.** *Artomyces pyxidatus*. A: basidiome; B: a close-up of its branching pattern (image: V. Siranskyi)

to these species of fungi. The comments of the reviewers of the manuscript are gratefully acknowledged. I also express my special thanks to Evgen Singayevskiy (Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine), Vitalii Kavurka (I.I. Schmalhausen Institute of Zoology, NAS of Ukraine) and Vladyslav Siranskyi (V.N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine) for kindly providing images of the fungi for this article. The contributions of citizen scientists who uploaded their

observations of these fungal species to iNaturalist and the “Fungi of Ukraine” Facebook group are also acknowledged.

#### ETHICS DECLARATION

The author declares no conflict of interest.

#### ORCID

V. Hayova:  <https://orcid.org/0000-0002-7038-1633>

#### REFERENCES

- Birkebak J.M., Mayor J.R., Ryberg K.M., Matheny P.B. 2013. A systematic, morphological and ecological overview of the *Clavariaceae* (Agaricales). *Mycologia*, 105(4): 896–911. <https://doi.org/10.3852/12-070>
- Dodd J.L. 1972. The Genus *Clavicornia*. *Mycologia*, 64(4): 737–773. <https://doi.org/10.1080/00275514.1972.12019326>
- Fraiture A., Hayova V., Lickey E. 2008. First record of *Artomyces microsporus* in Europe. *Cryptogamie, Mycologie*, 2008(3): 219–229. Available at: <https://sciencepress.mnhn.fr/en/periodiques/mycologie/29/3/first-record-artomyces-microsporus-europe>
- Furci G., Smith M. 2020. *Artomyces nothofagi*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2020*: e.T172818362A172861322. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T172818362A172861322.en> (Accessed 16 August 2024).
- GBIF.org. 2024–onward. *Artomyces microsporus* (Qiu X. Wu & R.H. Petersen) Lickey. GBIF Occurrence Download. <https://doi.org/10.15468/dl.u6vf39> (Accessed 15 August 2024).
- Haelewaters D., Quandt C.A., Bartrop L., Cazabonne J., Crockatt M.E., Cunha S.P., De Lange R., Dominici L., Douglas B., Drechsler-Santos E.R., Heilmann-Clausen J., Irga P.J., Jakob S., Lofgren L., Martin T.E., Muchane M.N., Stallman J.K., Verbeken A., Walker A.K., Gonçalves S.C. 2024. The power of citizen science to advance fungal conservation. *Conservation Letters*, 17, e13013. <https://doi.org/10.1111/conl.13013>
- Heilmann-Clausen J., Maruyama P.K., Bruun H.H., Dimitrov D., Læssøe T., Frøslev T.G., Dalsgaard B. 2016. Citizen science data reveal ecological, historical and evolutionary factors shaping interactions between woody hosts and wood-inhabiting fungi. *New Phytologist*, 212: 1072–1082. <https://doi.org/10.1111/nph.14194>
- Heilmann-Clausen J., Bruun H.H., Ejrnæs R., Frøslev T.G., Læssøe T., Petersen J.H. 2019. How citizen science boosted primary knowledge on fungal biodiversity in Denmark. *Biological Conservation*, 237: 366–372. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.07.008>
- Heluta V.P., Zykova M.O., Hayova V.P., Prydiuk M.P., Shevchenko M.V. 2022. An update to the species list of fungi in the *Red Data Book of Ukraine*. *Ukrainian Botanical Journal*, 79(3): 154–168. [Гелюта В.П., Зикова М.О., Гайова В.П., Придюк М.П., Шевченко М.В. 2022. Деякі зміни до списку видів грибів, включених до Червоної книги України. *Український ботанічний журнал*, 79(3): 154–168]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.03.154>
- Jülich W. 1981. Higher taxa of Basidiomycetes. *Bibliotheca Mycologica*, 85. Germany, Vaduz: J. Cramer, 485 pp.
- Kneal R., Smith M. E. 2015. *Artomyces nothofagi* sp. nov., a clavarioid fungus from a Chilean *Nothofagus* forest. *Mycotaxon*, 130(3): 653–660. <https://doi.org/10.5248/130.653>
- Lee W.D., Lee H., Fong J.J., Oh S.Y., Park M.S., Quan Y., Jung P.E., Lim Y.W. 2014. A checklist of the basidiomycetous macrofungi and a record of five new species from mt. Oseo in Korea. *Mycobiology*, 42(2):132–139. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2014.42.2.132>
- Lickey E.B., Hughes K.W., Petersen R.H. 2002. Biogeographical patterns in *Artomyces pyxidatus*. *Mycologia*, 94(3): 461–471. <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833211>
- Lickey E.B., Hughes K.W., Petersen R.H. 2003. Phylogenetic and taxonomic studies in *Artomyces* and *Clavicornia* (Homobasidiomycetes: *Auriscalpiaceae*). *Sydowia*, 55(2):181–124.
- Liu X.Y., Liu S.L., Wang X.W., Yu J., Shen S., Zhou L.W. 2023. Preliminary species diversity and community phylogenetics of wood-inhabiting basidiomycetous fungi in the Dabie Mountains, Central China reveal unexpected richness. *IMA Fungus*, 14: 23. <https://doi.org/10.1186/s43008-023-00130-9>
- Martyniuk P.Y., Prylutskyi O.V., Marques G. 2024. The first record of *Xerocomus silwoodensis* (*Boletaceae*) in Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(2): 155–161. [Мартинюк П.Є., Прилуцький О.В., Маркес Г. 2024. Перша знахідка *Xerocomus silwoodensis* (*Boletaceae*) в Україні. *Український ботанічний журнал*, 81(2): 155–161]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.02.155>
- Min G.-J., Lee E.-J., Park H.-S., Lee C.-J. 2021. Culture characteristics and optimal conditions for mycelial growth of *Artomyces microsporus*. *The Korean Journal of Mycology*, 49(1): 45–55. <https://doi.org/10.4489/KJM.20210005>

- Shevchenko M.V., Heluta V.P., Zykova M.O., Hayova V.P. 2021. Current distribution data for the red-listed species of aphyllophoroid fungi in Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 78(1): 47–61. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj78.01.047>
- Wu Q.X., Petersen R.H. 1992. A new species of *Clavicornia* from Japan. *Mycotaxon*, 45: 123–129.
- Wu Q.X., Hughes K.W., Petersen R.H. 1995. A reevaluation of taxa of *Clavicornia* subg. *Ramosa* based on morphology, compatibility, and laccase electrophoretic patterns. *Sydowia*, 47(1): 89–124.
- Zhao R.-L., Li G.-J., Sanchez-Ramirez S., Stata M., Yang Z.-L., Wu G., Dai Y.-C., He S.-H., Cui B.-K., Zhou J.-L., Wu F., He M.-Q., Moncalvo J.-M., Hyde K.D. 2017. A six-gene phylogenetic overview of *Basidiomycota* and allied phyla with estimated divergence times of higher taxa and a phyloproteomics perspective. *Fungal Diversity*, 84(1): 43–74. <https://doi.org/10.1007/s13225-017-0381-5>

***Artomyces microsporus* (Auriscalpiaceae) — рідкісний вид, який можна сплутати з *A. pyxidatus***

Віра ГАЙОВА

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,  
вул. Терещенківська 2, Київ 01601, Україна

**Реферат.** *Artomyces microsporus* уперше в Європі був знайдений в Україні майже два десятиліття тому. Цей ксилотрофний базидієвий гриб є морфологічно подібним до іншого виду цього роду — *A. pyxidatus*, який повсюдно трапляється у помірному поясі Північної півкулі. Це дослідження спрямоване на визначення надійних ознак для розрізнення цих видів у природі, що можна використовувати як додатковий спосіб ідентифікації видів до застосування молекулярних методів. Розглядаються як морфологічні ознаки плодових тіл *A. microsporus*, так і особливості субстратної приналежності. Такі ознаки можуть широко застосовуватись непрофесійними науковцями при проведенні спостережень про трапляння цих видів грибів для світових баз даних з вивчення біорізноманіття і соціальних мереж. Використання надійних ознак для визначення цих видів сприятиме уточненню даних щодо поширення *A. microsporus* на регіональному і світовому рівні.

**Ключові слова:** *Artomyces*, *Basidiomycota*, *Clavicornia*, громадянська наука, морфологія, поширення, субстратні уподобання



<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.278>

RESEARCH ARTICLE

## Seed morphology of species of *Spergula* and *Spergularia* (*Caryophyllaceae*) occurring in Ukraine and its taxonomic significance

Olga M. TSARENKO<sup>1,2,4</sup> , Mykola M. FEDORONCHUK<sup>1</sup> ,  
Galyna M. SHYKHALEYEVA<sup>2</sup> , Lubov M. FELBABA-KLUSHYNA<sup>3</sup> ,  
Anna BOMANOWSKA<sup>4</sup> , Agnieszka REWICZ<sup>4</sup> 

<sup>1</sup> M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,  
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01004, Ukraine

<sup>2</sup> Physical and Chemical Institute for Environment and Human Protection of MES  
of Ukraine and NAS of Ukraine, 3 Preobrazhenska Str., Odesa 65082, Ukraine

<sup>3</sup> Uzghorod National University, Department of Botany,  
32 Voloshyn Str., Uzghorod 88000, Ukraine

<sup>4</sup> University of Lodz, Department of Geobotany and Plant Ecology,  
12/16 Banacha, 90-237 Lodz, Poland

**Abstract.** The micro- and macromorphological characteristics of seeds of species of the genera *Spergula* and *Spergularia* in the flora of Ukraine were studied in order to identify new diagnostic characters useful for solving taxonomic issues. The ultrastructure of the seed surface was studied using a scanning electron microscope. Seeds of some species of these genera are similar in appearance (especially with a wide wing — *Spergula morisonii* and *Spergularia marina*), which can be one of the confirmations of the close taxonomic affinity of these genera. The results of our study showed that the ultrastructure patterns of the surface of seeds of *Spergula* and *Spergularia* species differ among themselves within these genera but for some species can be used as diagnostic characters for their identification. The data obtained confirm the results of our previous research on the taxonomic status of some representatives of the studied taxa (Fedoronchuk, 2023). In particular, taking into account the similarity of seed ultrastructure and other characteristics that have been proposed previously, we consider *Spergula vulgaris* a synonym of *Spergula arvensis* subsp. *arvensis*, *S. vernalis* — a synonym of *S. morisonii*, *Spergularia media* — a synonym of *Spergularia marina*, and *Spergularia salina* — a synonym of *Spergularia marina*. Differences in the surface ultrastructure of *Spergula sativa* and *Spergula arvensis* subsp. *arvensis*, which is consistent with our understanding of the taxon (Fedoronchuk, 2023) as *Spergula arvensis* subsp. *sativa*, as well as between *Spergula maxima* and *Spergula arvensis* subsp. *arvensis*, accordingly we propose — *Spergula arvensis* subsp. *maxima*. Compiled descriptions of the surface ultrastructure of seeds of *Spergula* and *Spergularia* species collected in the territory of Ukraine can be used as a model for assessing the possible variability of the morphological characters of these species in other regions of the world.

**Keywords:** macromorphology, micromorphology, Scanning electron microscope (SEM), seed, taxonomy, ultrastructure

ARTICLE HISTORY. Submitted 20 March 2024. Revised 31 July 2024. Published 30 August 2024

CITATION. Tsarenko O.M., Fedoronchuk M.M., Shykhaleyeva G.M., Felbaba-Klushyna L.M., Bomanowska A., Rewicz A. 2024. Seed morphology of species of *Spergula* and *Spergularia* (*Caryophyllaceae*) occurring in Ukraine and its taxonomic significance. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(4): 278–289. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.278>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)



## Introduction

The genus *Spergula* L. includes about 10 species (POWO, 2024), occurring mainly in Europe and Western Asia; some species were introduced and naturalised in other continents and parts of the world. In the flora of Ukraine, five taxa are reported: *Spergula arvensis* L. (with four subspecies — subsp. *arvensis*, subsp. *linicola* (Boreau) Janch., subsp. *maxima* (Weihe) O. Schwarz, subsp. *sativa*) and *S. morisonii* Boreau.

The genus *Spergularia* (Pers.) J. Presl & C. Presl contains about 60 species, the native and introduced ranges of which are much wider (spread in warm, subtropical and partly tropical countries of both hemispheres). In the flora of Ukraine there are about four species (*Spergularia marina* (L.) Besser, *S. media* (L.) C. Presl., *S. rubra* (L.) J. Presl, and *S. syvaschica* Tzvelev). Some species of these genera are weeds of agricultural crops. Based on the results of morphological studies (López Gonzalez, 2010), it was proposed to include *Spergularia* in the genus *Spergula*, but molecular data (Kool, 2012) confirmed the monophyly of both genera.

Both genera exhibit similar morphological characteristics, including the presence of membranous stipules, which are otherwise rare within the family *Caryophyllaceae* Juss.; because of that the genera have been assigned to a separate tribe, *Sperguleae* Dumort. These are annual or perennial, low-growing herbaceous plants with narrowly linear, more or less fleshy opposite leaves with membranous stipules, in the axils of which there are mostly shortened shoots with rather long leaves, which creates the impression of the presence of bundle leaves (*Spergula*); or such shortened the shoots are few, they are much shorter or even absent, and the leaves do not form the impression of bundles, and the membranous stipules are quite large (*Spergularia*).

Furthermore, the two genera exhibit differences in their generative features. The ovary in *Spergula* is composed of five stylodia, and the capsule opens by five spreading to somewhat recurved valves. In contrast, the ovary of *Spergularia* is composed of three stylodia and the capsule opens by three spreading valves with recurved tips.

Until now, there was no unequivocal answer regarding the species composition and nomenclature of the species of these genera in the flora of Ukraine. A different number of species of the genus *Spergula* was previously indicated for Ukraine: six — *S.*

*linicola* Boreau, *S. maxima* Weihe, *S. pentandra* L., *S. sativa* Boenn., *S. vernalis* Willd., *S. vulgaris* Boenn. (Klokov, 1952); four — *S. arvensis* L., *S. maxima*, *S. morisonii* Boreau, *S. pentandra* (Prokudin, 1987); or five — *S. arvensis*, *S. linicola*, *S. maxima*, *S. morisonii*, *S. pentandra* (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999).

However, subsequent research (Tsvelev, 2000) revealed that the species *S. pentandra* had been erroneously identified as *S. morisonii*. It differs from *S. morisonii* in having a smaller number of stamens in the flower (five instead of seven to ten) and the absence of papillae at the base of the seed border. The species name *Spergula vernalis* Willd. is considered to be a nomen superfluum (a superfluous name), and thus an illegitimate name (IPNI, 2024). According to Art.52.1. "A name, unless conserved (Art. 14), protected (Art. F2), or sanctioned (Art. F3), is illegitimate and is to be rejected if it was nomenclaturally superfluous when published, i.e. if the taxon to which it was applied, as circumscribed by its author, definitely included the type (as qualified in Art. 52.2) of a name that ought to have been adopted, or of which the epithet ought to have been adopted, under the rules (but see Art. 52.4 and F.8.1)" (Turland et al., 2018). Thus, the name *Spergula vernalis* Willd. is a synonym of *Spergula pentandra*, and for Ukraine the species was also listed erroneously.

The synonym of *Spergula arvensis* is the name *S. vulgaris* Boenn. (POWO, 2024; WFO, 2024).

The species of the genus *Spergularia*, which were previously reported for Ukraine, have undergone nomenclatural changes. *Spergularia marginata* (DC.) Kitt. (Klokov, 1952) is now considered a synonym of *S. media* (L.) C. Presl, and *Spergularia campestris* (L.) Asch. (Klokov, 1952) is treated as a synonym of *S. rubra* (L.) J. Presl & C. Presl. A synonym of *Spergularia marina* (L.) Besser (*Arenaria rubra* L. var. *marina* L. (1753)) is *S. salina* J. Presl & C. Presl (1819). However, some authors (Kurtto, 2001; Rabeler, Hartman, 2005) erroneously consider *S. marina* a synonym of *S. salina*, which contradicts the rule of priority (Fedoronchuk, 2023). In accordance with the most recent nomenclatural data (POWO, 2024), *Spergularia salina* is synonymized with *Spergularia marina*.

In order to ascertain additional features that may be useful in clarifying the taxonomic status of the species, we conducted carpological studies of both well-defined and controversial species that are represented in the flora of Ukraine. As demonstrated

by our own research and that of other authors, carpological features are a valuable tool for species identification and taxonomy within the family *Caryophyllaceae* (Crow, 1978, 1979; Fawzi et al., 2010; Martyniuk et al., 2015a, 2015b, 2015c, 2018; Abdel-Maksoud, Fawzi, 2016; Atazadeh et al., 2017).

A number of scientific publications present information on the macro- and micromorphological features of fruits and seeds of some representatives of *Spergula* and *Spergularia* (Klokov, 1952; Salisbury, 1958; Ratter, 1986; Wagner, 1986; Telenius, Torstensson, 1989, 1991, 1999; Adams et al., 2008; Memon et al., 2010). However, the available data is incomplete and requires further clarification. Furthermore, the study only concerns a limited number of species from Ukraine. The objective of the presented study is to analyse the differences in the macro- and micromorphological features (based on scanning electron microscopy — SEM) of the seed surface of species of *Spergula* and *Spergularia* from Ukraine. The aim is to provide data that will be useful for solving taxonomic problems.

## Materials and Methods

Seeds of representatives of the genera *Spergula* (5 species) and *Spergularia* (4 species) were studied, of which 23 herbarium specimens were collected in the territory of Ukraine and are deposited in the National Herbarium of Ukraine — the Herbarium of M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine (KW). At least 30 seeds from each herbarium specimen were studied.

The micromorphological characteristics of the seeds were studied using a light microscope (MBF-9) and a scanning electron microscope (SEM, JSM-6060 LA). The samples were sputter-coated with a thin layer of gold (4 nm) in accordance with the standard method. The descriptions of the fruits and seeds were carried out using the terminology that has been established in a number of previous works, including those by Gvinianidze and Fedotova (1991) and Ziman et al. (2011). In particular, attention was paid to the primary, secondary and tertiary structure, in accordance with the recommendations provided by Barthlott (1981).

## Examined specimens

Names of taxa are given according to the original labels; the names that we accepted are indicated in square brackets.

## *Spergula*

1. *Spergula arvensis* L. [*Spergula arvensis* L. subsp. *arvensis*]: *Spergula arvensis* L. Khmelnytskyi Region, Shepetivsky District, pine forest between Konotop and Malyovanka, forest road. 08.07.2020. Leg., Det. V.P. Kolomiychuk. No. 151575.
2. *Spergula arvensis* L. [*Spergula arvensis* L. subsp. *arvensis*]: *Spergula arvensis* L. Kyiv Region, Pereyaslav-Khmelnytsky District, behind the village Divychky, on the felling in a pine forest. 31.05.2015. Leg., Det. D.A. Davydov. No. 124013.
3. *Spergula arvensis* L. [*Spergula arvensis* L. subsp. *arvensis*]: *Spergula arvensis* L. Poltava Region, Novosanzhariv District, Sobkivka village, on the sands of the pine terrace of the Vorskla River. 21.06.2009. Leg., Det. D.A. Davydov. No. 098859.
4. *Spergula arvensis* L. [*Spergula arvensis* L. subsp. *arvensis*]: *Spergula vulgaris* Boenn. Rivne Region, Dubnovsky District, Maidan village, oak-hornbeam forest. 19.06.1986. Leg., Det. A.V. Shumylova. No. 096111.
5. *Spergula maxima* Weihe [*Spergula arvensis* L. subsp. *maxima* (Weihe) O.Schwarz]: *Spergula maxima* Weihe. Near the farm Zalessye, Oster District, Chernigov Province. In the forest, near the field. 04(17).07.1904. Leg., Det. I.F. Selezhin-sky. No. 031764.
6. *Spergula maxima* Weihe [*Spergula arvensis* L. subsp. *maxima* (Weihe) O. Schwarz]: *Spergula arvensis* L. Neighborhood of Kyiv. 19.06.1908. Leg., Det. F. Satsiperov. No. 031762; notae criticae: *Spergula maxima* Weihe (M. Klokov, 1955).
7. *Spergula morisonii* Bureau.: Kherson Region, Tsyuryupinsky District, (Oleshkivskyi) NPP "Oleshkivsky sands" dunes. 27.04.2013. Leg., Det. V.P.Kolomiychuk. No. 147649.
8. *Spergula morisonii* Bureau.: Zhytomyr Region, Malyn District, Malynske DLH, Malynske Forestry, quarter 14. On open sands, a lot. 12.05.2017. Leg., Det. O. Orlov. No. 131018.
9. *Spergula morisonii* Bureau.: Zhytomyr Region, Ovrutskyi District, Tosoryn Forestry, in pine forest A1, on a dune, swamp. 15.05.2011. Leg., O.O. Orlov. 09.02.2012. Det. M.M. Fedoronchuk.
10. *Spergula morisonii* Bureau.: Cherkasy Region, Kaniv District, approx. with. Leplivo, Kaniv Nature Reserve, district islands area, sandy arena of the left bank of the Dnipro River. 19.05.2016. Leg., Det. V.P. Kolomiychuk. No. 129421.

11. *Spergula morisonii* Boreau.: *Spergula vernalis* Willd. Kharkiv Region, Merefa, tract, on the sands 06.16.1966. Leg., Det. M. Klokov. No. 031695; notae criticae: *Spergula vulgaris* Boenn. (Det. O. Dubovyk, 19.11.1968); notae criticae: *Spergula morisonii* Boreau (Det. M.M. Fedoronchuk, 11.02.2022).
12. *Spergula morisonii* Boreau.: *Spergula vernalis* Willd. Rivne Region, Ostrozhsky District, Novomalinsky Forestry, Batkovtsy village, Bushchanskoe Bog. 18.06.1985. Leg., Det. A. Shumylova. No. 096378; notae criticae: *Spergula morisonii* Boreau (Det. M. Fedoronchuk, 14.02.2024).
13. *Spergula sativa* Boenn. [*Spergula arvensis* subsp. *sativa* (Boenn.) Čelak.]: *Spergula vulgaris* Boenn. Rivne Region, Berezino, MAPO. Roadside. 22.06.1978. Leg., Det. V.V. Protopopova. No. 031761; notae criticae: *Spergula sativa* Boenn. (Det. M. Fedoronchuk).

#### ***Spergularia*:**

1. *Spergularia marina* (L.) Besser.: *Spergularia salina* J. Presl & C. Presl. Poltava Region, Kremenchuk District, behind the Kyvashky village, on salt flats. 21.08.2015. Leg., Det. D.A. Davydov, T.P. Dzyuba. No. 129710.
2. *Spergularia marina* (L.) Besser.: Dniester estuary, Karagolskie plavni [wetlands]. August 2000. Leg., Det. E.Yu. Bondarenko No. 118580.
3. *Spergularia marina* (L.) Besser.: Meotida Reserve, Donetsk Region, near the sea, on the sand. 05.29.2002. Leg., Det. I.V. Kovtun. No. 041959.
4. *Spergularia marina* (L.) Besser.: *Spergularia salina* J. Presl & C. Presl. Zaporizhzhia Region, Yakymivsky District, near village Bogatyr, the bank of the Molochny Estuary, opposite the NPB of the Romashka MDP, on salt marsh soils. 30.05.2013. Leg., Det. V.P. Kolomyichuk. No. 00110115; notae criticae: *S. marina* (L.) Besser. Det. M. Fedoronchuk, 14.02.2024.
5. *Spergularia marina* (L.) Besser.: *Spergularia salina* J. Presl & C. Presl. Kremenchuk, saline meadow, between the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> terraces of the Dnipro [Dnieper] valley. 23.07.1921. Leg., Det. E. Lavrenko. No. 029484.
6. *Spergularia media* (L.) C. Presl.: Kherson Region, Skadovsk District, Dzharylgach Island, district Pindyky, salt flats, common. 10.07.2014. Leg., Det. V.P. Kolomyichuk. No. 00112437.
7. *Spergularia media* (L.) C. Presl.: Poltava Region, Semenivskyi District, Okrlytsi village. Obolon, on the shore of the lake Solone. 23.08.2003. Leg. H.A. Chorna, S.V. Gapon. Det. H.A. Chorna. No. 039201.
8. *Spergularia media* (L.) C. Presl.: *Spergularia marginata* (DC.) Kitt. Crimea, eastern outskirts of Evpatoria. Along the coast. 10.11.1974. Leg., Det. A. Kuzmichev, A. Krasnova.
9. *Spergularia rubra* (L.) J. Presl & C. Presl.: Herbarium I.F. Selezhansky, Litky ["Letkovo"] Forestry, Chernigov Province. Oster District. 06.22.1904. No. 032457.
10. *Spergularia rubra* (L.) J. Presl & C. Presl.: Rivne Region, Dubno District, Ozeryany railway station, near the platform No.1. 07.05.2012. Leg. V.I. Goncharenko. 03.19.2014. Det. M.M. Fedoronchuk. No. 00110926.

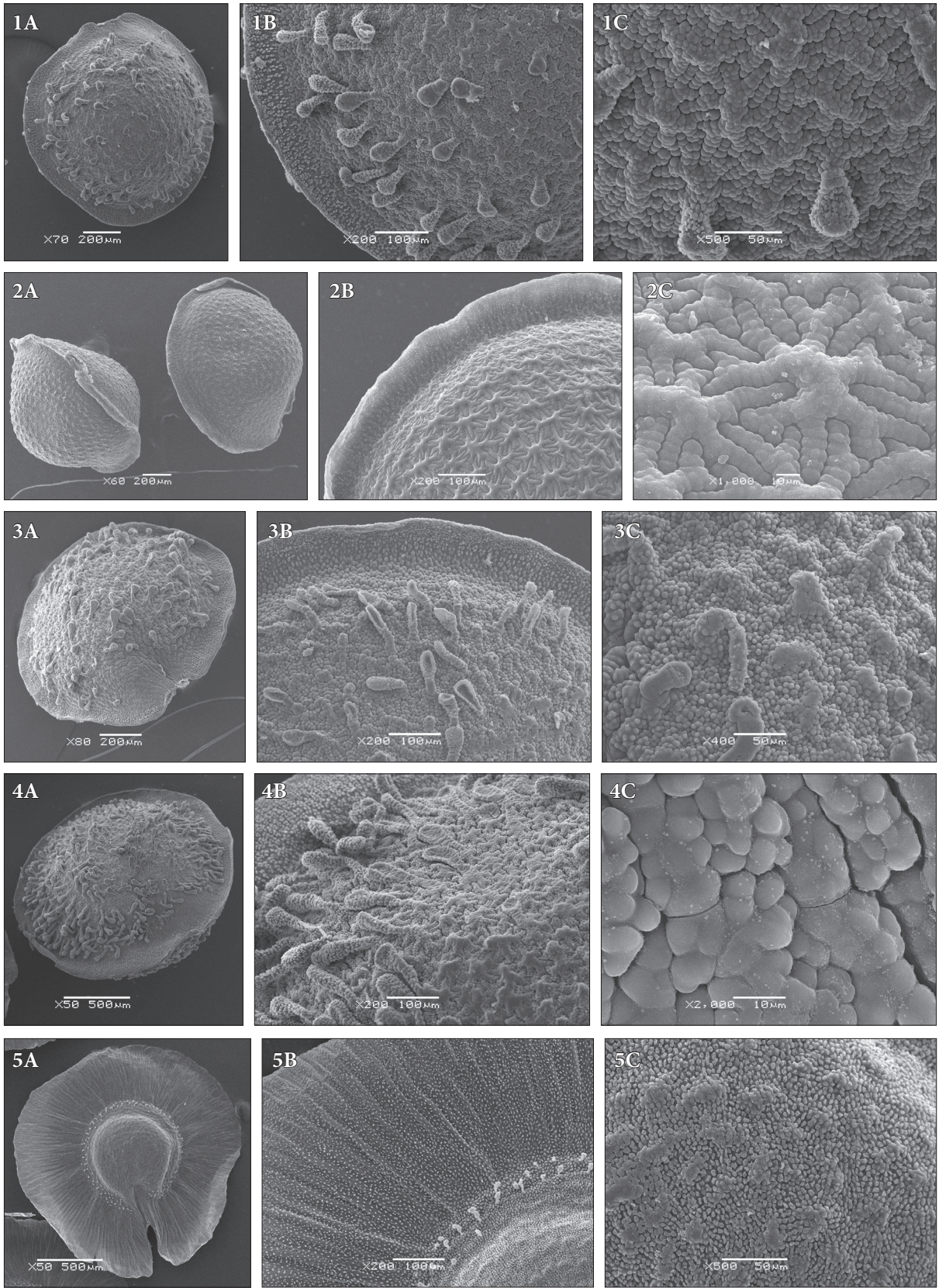
## **Results and Discussion**

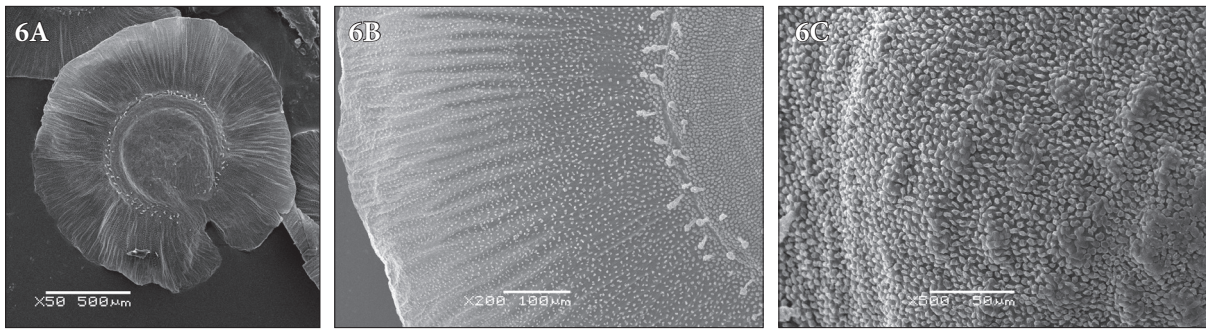
### **The morphological features of seeds of species of *Spergula***

#### ***Spergula arvensis* L. (Fig. 1, 1A–C).**

Seeds lenticular, slightly laterally compressed, round to oval in outline, up to 1.0–1.5 mm in diameter, with a narrow (up to 100 µm) light-coloured wing (margin) on the edge, with a slight notch opposite the seed scar. Hilum in the depression, barely visible. Seed surface (outside the rim) somewhat uneven, covered in places with short, tan or white, club-shaped papillae, up to 90 µm high, which, like the rim, are densely covered with small papillae-shaped formations. On the papillae they are slightly elongated, up to 5 µm long, on the periclinal walls they are rounded, up to 10 µm, often in a one or three row arrangement. Edge also densely covered with papillose formations, irregular in shape, 5 to 10 µm. Surface finely tuberculated, slightly tuberculous, tubercles with stellate base, due to the presence of tortuous anticlinal walls of the testa cells. Contours of the anticlinal walls indistinct, stellate base almost indistinct. Periclinal walls convex, their middle part being more convex compared to the "rays", which gives the surface certain unevenness. Microstructure of the surface with lamellar deposits of wax, which are particularly abundant in the area of the seed scar. Matte, light black, reddish brown.

We also studied the seeds of *S. vulgaris*, samples of which, identified as "*Spergula vulgaris*", are deposited in the Herbarium (KW). This species, like the following *S. sativa*, has a dubious taxonomic status and is not recognised in modern treatments and online





**Fig. 1.** Seeds of *Spergula* (SEM). A: general view; B, C: surface fragments. 1 — *Spergula arvensis* [*Spergula arvensis* subsp. *arvensis*] (Sample No. 151575); 2 — *Spergula sativa* [*Spergula arvensis* subsp. *sativa*] (Sample No. 031761); 3 — *Spergula vulgaris* [*Spergula arvensis* subsp. *arvensis*] (Sample No. 096111); 4 — *Spergula maxima* [*Spergula arvensis* L. subsp. *maxima*] (Sample No 031764<sup>1</sup>); 5 — *Spergula morisonii* (Sample No. 147649); 6 — *Spergula vernalis* [*Spergula morisonii*] (Sample No 096378)

resources (WFO, 2024; POWO, 2024 and others). It was also interesting to check whether there were any differences at the microcarpological level between representatives of these taxa (*S. arvensis* and *S. vulgaris*). Our examination of the seeds showed similarities between *S. vulgaris* (Fig. 1, 3A–C) and *S. arvensis* (Fig. 1, 1A–C), confirming the interpretation of this taxon as a synonym of *Spergula arvensis* L. subsp. *arvensis* (Fedoronchuk, 2023).

#### *Spergula sativa* Boenn. (Fig. 1, 2A–C).

Seeds similar in shape, size and general ultrastructural characteristics to the previous species. However, there are some differences in the ultrastructural features of the surface. Unlike *S. arvensis*, the surface of seeds of *S. sativa* has clear anticlinal cell walls, distinct tubercles, and a darker colour due to the absence of light brown club-shaped papillae. No wax deposits were found on the seed surface. Based on the results of our previous studies, we consider *S. sativa* to be a subspecies of *Spergula arvensis* L. subsp. *sativa* (Boenn.) Čelak. (Fedoronchuk, 2023).

#### *Spergula maxima* Weihe (Fig. 1, 4A–C).

Seed lenticular, slightly laterally compressed, round to oval in outline, up to 1.5–1.8(2.2) mm in diameter, with a narrow (up to 160 μm) pale border (wing on the margin), with a small notch opposite the seed scar. Hilum barely visible. Contours of the anticlinal walls clear, sinuous; periclinal walls slightly convex, giving the surface a fine tuberculate appearance; tubercles with a stellate base. Seed surface (up to the margin) densely covered with light brown club-shaped papillae, up to 100 μm high, which, like the periclinal walls of the testa cells, are densely covered with rounded papillae-shaped cuticular formations, up to 10 μm. Border also

densely covered with papillose formations of irregular shape, from 5 to 10 μm. Wax layer in the form of lamellar formations. Matte, black, reddish brown.

As compared to *Spergula arvensis*, the seeds of *Spergula maxima* have a wider wing and a denser arrangement of club-shaped papillae; in other characteristics they are similar. It also differs from *Spergula arvensis* by its taller stems, longer leaves and capsules. We propose to consider *Spergula maxima* as a synonym of *Spergula arvensis* L. subsp. *maxima* (Weihe) O. Schwarz (Fedoronchuk, 2023). This subspecies is also recognized by other authors (Prockow et al., 2011).

#### *Spergula morisonii* Boreau (Fig. 1, 5A–C).

Seeds flattened on the sides, almost spherical in outline, with a submarginal furrow closer to the margin, up to 1.7 mm in diameter (together with the margin); margin in the form of a wing-like, pale, broad (400–460 μm), thin membranous growth (border) on the margin, almost transparent, ribbed in radial direction, with almost entire (not torn) smooth edge, with a notch opposite the seed scar. Hilum in the hollow, hardly noticeable. Club-like papillae, up to 30 μm high, arranged in two or three rows around the seed (closer to the wing). Seed surface almost smooth or slightly uneven due to the slight convexity and concavity of the outer periclinal walls of the testa cells. Contours of the anticlinal walls indistinct. Papillae and seed surface densely covered with smaller papillose formations, varying in shape and size. On the margin these are smaller (up to 5 μm) and evenly spaced, outside the margin on the surface of the seeds they are in the form of shapeless clusters, slightly raised above the surface, which is also covered with small papillae (up to 8 μm), evenly spaced between these papillose

formations. There are no wax formations. Matte, black.

We also examined the characteristics of the seeds in the plant samples identified as *Spergula vernalis*. According to the results of our studies of macro- and micromorphological characteristics of seeds of *Spergula vernalis* (Fig. 1, 6A–C), no differences were found between them and seeds of *Spergula morisonii*. This is one of the confirmations of the taxonomically correct status of *Spergula vernalis* as a synonym of *Spergula morisonii*, as suggested by one of the co-authors of our publication (Fedoronchuk, 2023) and recognised in modern online databases (IPNI, 2024; WFO, 2024).

### The morphological features of seeds of species of *Spergularia*

Some members of the genus are characterised by the phenomenon of heterospermy — seeds are formed within a capsule both with a wide membranous wing on the periphery (located in the lower part of the capsule) and practically without it (located in the upper part of the capsule).

#### *Spergularia media* (L.) C. Presl (Fig. 2, 1A–C).

Seeds flattened on the sides, almost round in outline, somewhat asymmetrical, with submarginal furrow, 0.6–1.2 mm in diameter, together with a wide (up to 340–400 µm) membranous wing around the perimeter (border), which has a notch opposite the seed scar and an uneven contour (wing-margin denticulate), or rarely wingless. Hilum in the hollow hardly noticeable. Wing surface radially ribbed. Seed surface smooth or slightly uneven due to the slight convexity and concavity of some of outer periclinal walls of testa cells. Contours of the anticlinal cell walls clear. Anticlinal walls deeply curved, thickened and slightly raised. Secondary microstructure of seeds papillose, with densely arranged spherical formations (up to 2 µm in height) on the seed itself; on the wing, the papillae are of different shape, mostly elongated, not exceeding 4 µm in length, loosely, chaotically arranged, only around the perimeter of the seed, on ½ of its width. There is no wax coating. Matte, brown to dark brown, lightcolored wing.

Wingless seeds were absent in the studied herbarium specimens.

#### *Spergularia marina* (L.) Besser (Fig. 2, 2A–C).

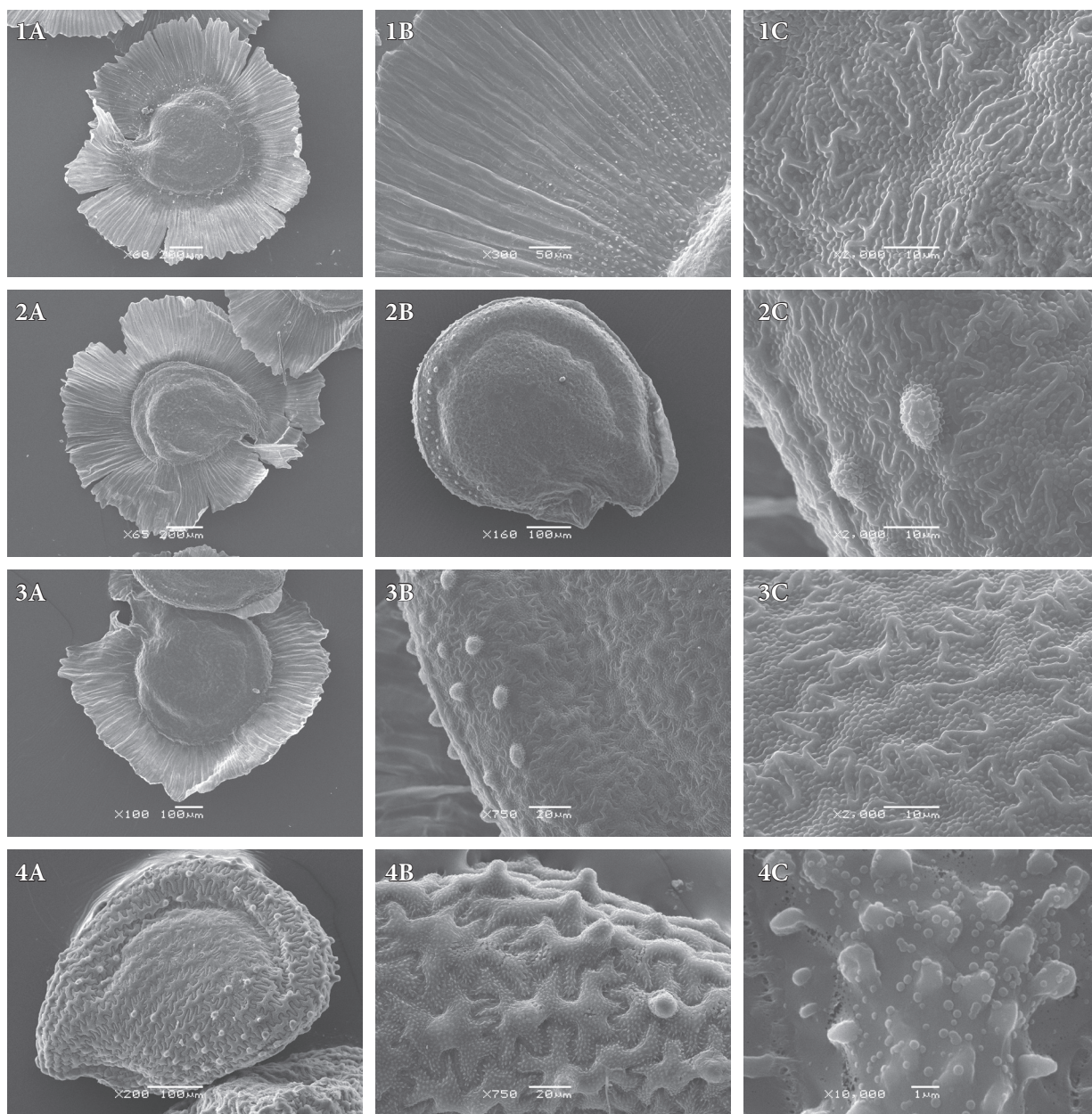
Herbarium specimens of this species had both seeds with a broad membranous wing on the periphery or, rarely, wingless. Seeds with a wing are

flattened on the sides, almost spherical in outline, broadly pear-shaped (without a border) with a submarginal furrow, 1.2–1.4 mm in diameter (together with the wing), wing wide (350–400 µm) membranous, which has a notch opposite the seed scar and an uneven contour (wing margin denticulate) of the edge. Hilum in the depression barely visible. Wing surface radially ribbed. Seed surface almost smooth or slightly uneven due to the slight convexity and concavity of some of outer periclinal walls of testa cells. Contours of anticlinal walls clear.

Anticlinal walls deeply convoluted, thickened and slightly elevated. Secondary microstructure of seeds papillose, with densely arranged spherical formations (up to 2 µm in height) on the seed itself; on the wing the papillae are of different shape, mostly elongated, not exceeding 4 µm in length, loosely, chaotically arranged, only around the seed, on ½ of its width. There is no wax coating observed. Matte, brown to dark brown, lightcolored wing.

Wingless seeds asymmetrical, laterally compressed, broadly ovoid in outline, slightly smaller than winged seeds, up to 0.7 mm long, 0.5 mm wide, with a submarginal furrow around the circumference. Hilum in the depression barely visible, rootlet clearly protruding. Seed surface almost smooth or slightly uneven due to the slight convexity and concavity of some of the outer periclinal walls of the testa cells. Microstructure of the surface is the same as that of the bordered seeds, differing only in the presence of large warty formations (up to 15 µm in diameter) along the border of the seed, which, like all other surface cells, are externally covered with small (up to 2 µm in diameter) rounded papillae. No wax coating was observed. Matte, light brown to reddish brown, wing distinctly paler than testa.

*Spergularia media* and *S. marina* from the flora of Ukraine showed their similarity in macro- and micromorphological characteristics. In order to avoid possible mistakes in identification of herbarium specimens from which we selected material for our research, we carefully checked them; all seed samples from different collection sites had the same structure and other morphological characteristics. In photographs (SEM) of the surface microstructure of seeds of the Australian specimens of *S. marina* and *S. media* (Adams et al., 2008), we also found no differences in seed shape, surface ornamentation and other micromorphological features. Sterk (1969), comparing Feekes (1936) and Sterk (1966), noted that *S. media* was in fact a synonym



**Fig. 2.** Seeds of *Spergularia* (SEM). A: general view; B, C: surface fragments. 1 — *S. media* (Sample No. 039201); 2 — *S. marina* (Sample No. 118580); 3 — *S. salina* [*S. marina*] (Sample No. 00110115); 4 — *S. rubra* (Sample No. 00110926)

of *S. marina*. However, after a subsequent detailed study of *S. media* and *S. marina* in the Netherlands, he concluded that the taxa *S. media* and *S. marina* are morphologically, karyogenetically and also ecologically distinct. Sterk (1969) also pointed out the considerable variability and the presence of smooth and tuberculate seeds, which may be winged or wingless in both species.

***Spergularia salina*** J. Presl & C. Presl (Fig. 2, 3A–C).

We have also studied the ultrastructure of the seed surface of *Spergularia salina*. In all carpological characteristics, *S. salina* is similar to *S. marina*, so we provide only SEM images of the seeds without their description. The absence of macro- and micromorphological differences is an

additional confirmation that they are in fact the same species, *S. marina* (Dobignard, Chatelain, 2011; Chang et al., 2021) and *S. salina* is a synonym, according to the priority of the species-rank name (see Principle III and Art. 11 of the ICN: Turland et al., 2018).

*Spergularia rubra* (L.) J. Presl & C. Presl (Fig. 2, 4A–C).

Seeds flattened at sides, ovate-triangular, broadly pyriform to semicircular in outline, wingless 0,4–0,6 mm long, with a submarginal furrow and a furrow only on the dorsal side. Hilum in the depression barely visible, radicle clearly protruding. Seed surface almost smooth or slightly uneven due to the slight convexity and concavity of some outer periclinal walls of testa cells. Contours of the anticlinal walls clear. Anticlinal walls concave, deeply curved on the dorsal and lateral surfaces of seed. Periclinal walls of the testa cells with a slight uniform elevation in the centre, giving the surface an uneven appearance. Some cells with large (up to 10 µm) warty papillae on the surface of periclinal walls, in their central part. These in turn are covered with smaller papillae, as is the entire surface of the periclinal walls. At higher magnification (×10,000), dotted papillose formations are visible between the papillae of the periclinal cell walls. There is no waxy coating. Matte, gray-brown, brown to black.

The results of our studies on the shape and ultrastructure of the seed surface of species of the genera *Spergula* and *Sperularia* mainly confirmed the current literature data on their taxonomy and nomenclature. In particular, we found no significant differences in the morphology of the seeds of *Spergula arvensis* and *Spergula vulgaris*, which is an additional argument for considering *Spergula vulgaris* as a synonym of *Spergula arvensis*. No differences were found in morphology of seeds of *Spergula morisonii* and *Spergula vernalis*, which is another evidence to interpret *Spergula vernalis* as a synonym of *Spergula morisonii*. At the same time, the observed differences in seed morphology between *Spergula sativa* and *Spergula arvensis* do not support the view that *Spergula sativa* is a synonym of *Spergula arvensis*. In contrast to *Spergula arvensis*, the surface of seeds of *Spergula sativa* has clear anticlinal cell walls, distinct tubercles and a darker colour due to the absence of light brown club-shaped papillae. No waxy deposits were found on the seed surface.

No differences in the morphology of the seed samples of *Spergularia salina* and *Spergularia marina* were found, which is also evidence for considering *Spergularia salina* as a synonym of *Spergularia marina*.

Thus, as a result of the study of macro- and micromorphological features of the seeds of representatives of the genera *Spergula* and *Spergularia* occurring in Ukraine, their detailed morphological characteristics were compiled. The seeds of some species of these genera are similar in appearance (especially with the broad-winged *Spergula morisonii* and *Spergularia marina*), which confirms the taxonomic relationship of the genera. However, at the generic level, some differences were found between them (characteristics of the wing margin and ultrastructural tests). The remaining species of these genera examined differed significantly in both seed shape and ultrastructure. The revealed macro- and micromorphological differences confirm the literature data (Kool, 2012; Fedoronchuk, 2023; etc.) regarding the lack of reasonable arguments in favor of combining these genera into one genus. These two genera are also recognized in modern taxonomic databases (IPNI, 2024; POWO, 2024; WFO, 2024). At the species level, within each genus, some species differ from each other in a number of macro- and microstructural characters. Based on the identified carpological characters, we consider *Spergula sativa* and *S. maxima* to be subspecies of *S. arvensis* (*S. arvensis* ssp. *sativa* and *S. arvensis* ssp. *maxima*) as suggested, based on morphological and geographical analysis, by one co-author of our present publication (Fedoronchuk, 2023). However, in modern databases or species lists they are presented as synonyms of *S. arvensis* (POWO, 2024; WFO, 2024).

In our opinion, all the observations on the ultrastructure of the seeds of *Spergula* and *Spergularia* provide knowledge on the diversity of this group, as a result of which the characteristics of the seeds may be useful in the identification of this particular species. The obtained research results may be important for further taxonomic studies of representatives of these genera.

## Acknowledgements

This study was partially funded by the statutory funds of the University of Lodz and grant number 2/IDUB/SNU/22.



## ETHICS DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

## ORCID

O.M Tsarenko:  <https://orcid.org/0000-0002-1216-6628>

M.M. Fedoronchuk:  <https://orcid.org/0000-0002-8653-0904>

G.M. Shykhaleyeva:  <https://orcid.org/0000-0002-1475-4415>

L.M. Felbaba-Klushyna:  <https://orcid.org/0000-0002-4891-4229>

A. Bomanowska:  <https://orcid.org/0000-0001-5648-2852>

A. Rewicz:  <https://orcid.org/0000-0002-8228-6406>

## REFERENCES

- Adams L.G., West J.G., Cowley K.J. 2008. Revision of *Spergularia* (*Caryophyllaceae*) in Australia. *Australian Systematic Botany*, 21: 251–270. <https://doi.org/10.1071/SB08015>
- Atazadeh N., Keshavarzi M., Sheidai M., Gholipour A. 2017. Seed morphology of *Silene commelinifolia* Boiss. complex (*Caryophyllaceae* Juss.). *Modern Phytomorphology*, 11: 5–13. <https://doi.org/10.5281/zenodo.344558>
- Abdel-Maksoud H.S., Fawzi N. 2016. Seed morphology of some taxa of *Caryophyllaceae*. *The Bulletin, Faculty of Agriculture -- Cairo University*, 67: 213–227. <http://dx.doi.org/10.21608/ejarc.2016.212976>
- Barthlott W. 1981. Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordic Journal of Botany*, 1(3): 345–355. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1981.tb00704.x>
- Chang C.-S., Kim H., Chang K.S. 2021. *Caryophyllaceae*. In: *Checklist of Far East Asian Vascular Flora*. Vol. 2. Seoul: EABCN, pp. 627–1887.
- Crow G.E. 1978. A taxonomic revision of *Sagina* (*Caryophyllaceae*) in North America. *Rhodora*, 80: 1–91.
- Crow G.E. 1979. The systematic significance of seed morphology in *Sagina* (*Caryophyllaceae*) under scanning electron microscopy. *Brittonia*, 31(1): 52–63.
- Fawzi N.M., Fawzy A.M., Mohamed A.A. 2010. Seed morphological studies on some species of *Silene* L. (*Caryophyllaceae*). *International Journal of Botany*, 6: 287–292. <https://doi.org/10.3923/ijb.2010.287.292>
- Feekes W. 1936. De ontwikkeling van de natuurlijke vegetatie in de Wieringermeerpolder, de eerste groote droogmakerij van de Zuiderzee. *Nederlandsch Kruidkundig Archief*, 46: 1–295.
- Dobignard A., Chatelain C. 2011. *Index synonymique de la flore d'Afrique du nord*. Vol. 3. *Dicotyledoneae: Balsaminaceae–Euphorbiaceae* Genève: Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève, 455 pp.
- Fedoronchuk M.M. 2022. Ukrainian flora checklist. 5: family *Caryophyllaceae* (incl. *Illecebraceae*) (*Caryophyllales*, *Angiosperms*). *Chornomorski Botanical Journal*, 19(1): 5–57. <https://doi.org/10.32999/ksu1990-553X/2023-19-1-1>
- Gviniandze Z.I., Fedotova T.A. 1991. *Caryophyllaceae*. In: *Comparative anatomy of seeds*. Vol. 3. Ed. A. Takhtajan. Leningrad: Nauka, pp. 59–74. [Гвиниандзе З.И., Федотова Т.А. 1991. *Caryophyllaceae*. В кн.: *Сравнительная анатомия семян*. Т. 3. Ред. А. Тахтаджян. Ленинград: Наука, с. 59–74].
- IPNI. 2024–onward. IPNI. *The International Plant Names Index*. Available at: <http://www.ipni.org> (Accessed 20 June 2024).
- Klokov M.V. 1952. *Caryophyllaceae*. In: *Flora URSS*. Vol. 4. Ed. M.I. Kotov. Kyiv: Vydavnytstvo AN URSS, pp. 421–649. [Клоков М.В. 1952. *Caryophyllaceae*. В кн.: *Флора УРСР*. Т. 4. Ред. М.И. Котов. Київ: Вид-во АН УРСР, с. 421–649].
- López González G. 2010. Sobre el género *Spergula* L. [incl. *Spergularia* (Pers.) Pers. ex J. Presl & C. Presl, nom. cons.] (*Caryophyllaceae*) y sus especies en la Península Ibérica e Islas Baleares. *Lagascalia*, 30: 7–18.
- Kool A. 2012. *Desert Plants and Deserted Islands: Systematics and Ethnobotany in Caryophyllaceae*. Doctoral thesis. Uppsala, Uppsala University, 52 pp. Available at: <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:546726/FULLTEXT01.pdf>
- Kurtto A. 2001. *Spergularia*. In: *Flora Nordica (Chenopodiaceae to Fumariaceae)*. Vol. 2. Ed. B. Jonsel. Stockholm: Bergius Foundation, the Royal Swedish Academy of Sciences, pp. 92–96.
- Martyniuk V.O., Karpenko N.I., Tsarenko O.M. 2015a. Some micromorphological features of *Atocion lithuanicum* (Zapał.) Tzvel. and *A. armeria* (L.) Raf. in the flora of Ukraine. *Biological Bulletin of B. Khmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*, 5(1): 8–23. [Мартинюк, В.О., Карпенко, Н.І., Царенко, О.М. 2015а. Деякі мікрморфологічні особливості *Atocion lithuanicum* (Zapał.) Tzvel. та *A. armeria* (L.) Raf. флори України. *Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета имени Богдана Хмельницкого*, 5(1): 8–23]. <https://doi.org/10.7905/bbmspu.v5i1.901>
- Martyniuk V.O., Karpenko N.I., Tsarenko O.M. 2015b. Micromorphological features of pollen grains, seeds and leaf surface of *Atocion hypanicum* (Klok.) Tzvel. and *A. compactum* (Fisch.) Tzvel. *Modern Pytomorphology*, 7: 95–100. [Мартинюк, В.О., Карпенко, Н.І., Царенко О.М. 2015б. Мікрморфологічні особливості пилоквих зерен, насинин та листової поверхні *Atocion hypanicum* (Klok.) Tzvel. та *A. compactum* (Fisch.) Tzvel. *Modern Pytomorphology*, 7: 95–100].
- Martyniuk V.O., Karpenko N.I., Tsarenko O.M. 2015c. Morphology of seeds and seedlings of *Atocion* Adans species in the flora of Ukraine. In: *Materials of XII International Science Conference of Young Scientists "Shevchenko Spring 2015: Biology" (April 1–3, 2015, Kyiv)*. Kyiv, p. 64. [Мартинюк В.С., Карпенко Н.І., Царенко О.М. Морфологія насинин та проростків видів роду *Atocion* Adans. флори України. В зб: *Матеріали XIII Міжнародної наукової конференції молодих науковців "Шевченківська весна 2015: Біологія" (1–3 квітня, 2015 р., Київ)*. Київ, с. 64].

- Martyniuk V.O., Karpenko N.I., Tsarenko O.M. 2018. Comparative analysis of micromorphological features of related species *Silene syreistschikowii* and *S. supina* (Caryophyllaceae). *Scientific Bulletin of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems)*, 10(1): 84–93.
- Memon R.A., Bhatti G.R., Khalid S., Arshad M., Mirbahar A.A., Qureshi R. 2010. Microstructural features of seeds of *Spergularia marina* (L.) Griseb. (Caryophyllaceae). *Pakistan Journal of Botany*, 42(3): 1423–1427.
- Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. 1999. *Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist*, Kyiv, xxiii + 345 p. <https://doi.org/10.13140/2.1.2985.0409>
- Opredelitel vysshikh rastenyi Ukrainy. 1987. Eds Yu.N. Prokudin, D.N. Dobrochayeva, B.V. Zaverukha, V.I. Chopik, V.V. Protoporova, L.I. Kritskaya. Kyiv: Naukova Dumka, 548 pp. [*Определитель высших растений Украины*. 1987. Ред. Ю.Н. Прокудин, Д.Н. Доброчаева, Б.В. Заверуха, В.И. Чопик, В.В. Протопопова, Л.И. Крицкая. Киев: Наукова думка, 548 с.].
- POWO. 2024–onward. *Plants of the World Online*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Available at: [http://www-plantsoftheworldonline.org](http://www.plantsoftheworldonline.org) (Accessed 20 June 2024).
- Prockow J., Faltyn A., Jarzembowski P. 2011. *Spergularia arvensis* subsp. *maxima* (Caryophyllaceae) extinct flax weed in Lower Silesia. *Acta Botanica Silesiaca, Supplementum*, 1: 201–203.
- Rabeler R.K., Hartman R.L. 2005. *Caryophyllaceae*. In: Flora of North America Editorial Committee (eds.). *Flora of North America North of Mexico*. Vol. 5, Part 2. New York; Oxford: Oxford University Press, pp. 3–8.
- Ratter J.A. 1986. *Spergularia* and *Spergularia* in the British Islands. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh*, 43: 283–297.
- Salisbury E.J. 1958. *Spergularia salina* and *Spergularia marginata* and their heteromorphic seeds. *Kew Bulletin*, 13(1): 41–51.
- Sterk A.A. 1966. Some remarks on the variability of *Spergularia marginata* and *Spergularia salina* in the Netherlands. In: *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, C69: 50–57.
- Sterk A.A. 1969. Biosystematic studies on *Spergularia media* and *S. marina* in the Netherlands. IV. Reproduction, dissemination, karyogenetics and taxonomy. *Acta Botanica Neerlandica*, 18(5): 639–650. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1969.tb00087.x>
- Telenius A., Torstensson P. 1989. The seed dimorphism of *Spergularia marina* in relation to dispersal by wind and water. *Oecologia*, 80: 206–210.
- Telenius A., Torstensson P. 1991. Seed wings in relation to seed size in the genus *Spergularia*. *Oikos*, 61: 216–222.
- Telenius A., Torstensson P. 1999. Seed type and seed size variation in the heteromorphic saltmarsh annual *Spergularia salina* along the coast of Sweden. *Plant Biology*, 1: 585–593.
- Tsvelev N.N. 2000. Notulae de generibus nonnullis familiae *Caryophyllaceae* sensu lato in Europa Orientalis. *Novitates Systematicae Plantarum Vascularium*, 32: 26–36. [Цвелев Н.Н. 2000. Заметки о некоторых родах семейства гвоздичных (*Caryophyllaceae* sensu lato) в Восточной Европе. *Новости систематики высших растений*, 32: 26–36].
- Turland N.J., Wiersema J.H., Barrie F.R., Greuter W., Hawksworth D.L., Herendeen P.S., Knapp S., Kusber W.-H., Li D.-Z., Marhold K., May T.W., McNeill J., Monro A.M., Prado J., Price M.J., Smith G.F. 2018. *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress, Shenzhen, China, July 2017* [Regnum Vegetabile, vol. 159]. Glashütten: Koeltz Botanical Books, xxxviii + 254 pp. <https://doi.org/10.12705/Code.2018>
- Ziman S.M., Hrodzynskyi D.M., Bulakh O.V. 2011. *Latin-English-Russian-Ukrainian Dictionary of Terms on Morphology and Systematics of Vascular Plants*. Kyiv: Naukova Dumka, 284 pp.
- Wagner L.K. 1986. Variation in seed-coat morph ratios in *Spergularia arvensis* L. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 113: 28–35.
- WFO. 2024–onward. *Spergularia media*. In: *World Flora Online*. Available at: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000439919> (Accessed 20 June 2024).

**Морфологія насінин видів *Spergula* і *Spergularia* (*Caryophyllaceae*) флори України та її систематичне значення**

О.М. ЦАРЕНКО<sup>1,2,4</sup>, М.М. ФЕДОРОНЧУК<sup>1</sup>,  
Г.М. ШИХАЛЄЄВА<sup>2</sup>, Л.М. ФЕЛЬБАБА-КЛУШИНА<sup>3</sup>,  
А. БОМАНОВСКА<sup>4</sup>, А. РЕВИЧ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,  
вул. Терещенківська 2, Київ 01004, Україна

<sup>2</sup> Фізико-хімічний інститут захисту навколишнього середовища  
і людини МОН України та НАН України,  
вул. Преображенська 3, Одеса 65082, Україна

<sup>3</sup> Ужгородський національний університет,  
вул. А. Волошина 32, Ужгород 88000, Україна

<sup>4</sup> Лодзький університет, Vanacha, 12/16, Лодзь 90-237, Польща

**Реферат.** Досліджено мікро- та макроморфологічні характеристики насінин видів родів *Spergula* та *Spergularia* флори України з метою виявлення нових діагностичних ознак для вирішення таксономічних питань. Ультраструктуру поверхні насінин вивчали за допомогою сканувального електронного мікроскопа. Насінини деяких видів цих родів схожі за зовнішнім виглядом (особливо ті, що мають широке крило, наприклад *Spergula morisonii* і *Spergularia marina*). Це може бути одним з підтверджень таксономічної спорідненості цих родів. Результати показали, що ультраструктури поверхні насінин відрізняються всередині досліджених родів і для деяких видів можуть бути використані як допоміжні діагностичні ознаки для їхньої ідентифікації. Отримані дані підтверджують результати наших попередніх досліджень щодо таксономічного статусу представників досліджених таксонів. Зокрема, враховуючи подібність ультраструктури насінин та інші характеристики, які були запропоновані раніше, вважаємо *Spergula vulgaris* синонімом *Spergula arvensis* subsp. *arvensis*, *S. vernalis* — синонімом *S. morisonii*, *Spergularia media* — синонімом *Spergularia marina*, *Spergularia salina* — синонімом *Spergularia marina*. Виявлені відмінності в ультраструктурі поверхні насінин *Spergula sativa* та *Spergula arvensis* subsp. *arvensis* узгоджуються з нашим розумінням єдиного таксону як *Spergula arvensis* subsp. *sativa*. Відповідно, зважаючи на відмінності між *Spergula maxima* та *Spergula arvensis* subsp. *arvensis*, ми пропонуємо приймати назву *Spergula arvensis* subsp. *maxima*. Складені описи ультраструктури поверхні насінин видів *Spergula* та *Spergularia*, зібраних з території України, можуть бути корисними для оцінки можливої мінливості ознак цих видів з інших регіонів світу.


**Ключові слова:** мікроморфологія, скануючий електронний мікроскоп (СЕМ), ультраструктура, насінини, таксономія



<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.290>

RESEARCH ARTICLE

## Підвищення схожості та антиоксидантної активності старих зернівок пшениці і тритикале праймінгом гамма-аміномасляною кислотою

Іван В. ШАХОВ<sup>1,2</sup> , Олександр І. КОКОРЕВ<sup>1</sup> , Тетяна О. ЯСТРЕБ<sup>1</sup> ,  
Олександр П. ДМИТРИЄВ<sup>3</sup> , Юрій Є. КОЛУПАЄВ<sup>1,2,4\*</sup> 

<sup>1</sup> Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, проспект Героїв Харкова 142, Харків 61060, Україна

<sup>2</sup> Державний біотехнологічний університет, вул. Алчевських 44, Харків 61022, Україна

<sup>3</sup> Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України, вул. Академіка Заболотного 148, Київ 03143, Україна

<sup>4</sup> Полтавський державний аграрний університет, вул. Сковороди 1/3, Полтава 36003, Україна

\* Автор для листування: [plant\\_biology@ukr.net](mailto:plant_biology@ukr.net)

**Реферат.** Під час зберігання підвищені температура і вологість спричиняють прискорене старіння і псування насіння різних видів рослин, у тому числі важливих культурних злаків — пшениці і тритикале. Проростанню старих зернівок можуть сприяти процедури праймінгу насіння фізіологічно активними речовинами, що коригують про-/антиоксидантну рівновагу, зменшуючи розвиток окиснювального стресу. Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) належить до регуляторних сполук, що виявляють прямі й опосередковані антиоксидантні ефекти. Однак її вплив на проростання зернівок злаків із низькою схожістю майже не досліджений. Метою роботи було дослідження впливу праймінгу ГАМК на проростання старого насіння озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* 'Scorpion') та озимого тритикале (*×Triticosecale* 'Раритет'), інтенсивність окиснювального стресу та стан антиоксидантної системи в проростках. Встановлено, що 3-годинна обробка зернівок ГАМК в оптимальній концентрації (1 мМ) спричиняла істотне (на 18–21%) підвищення показників енергії проростання та схожості насіння, а також збільшення біомаси пагонів і коренів проростків обох видів. Водночас під впливом ГАМК зменшувалися величини маркерів окиснювального стресу (генерації супероксидного аніон-радикала, вмісту гідроген пероксиду та продукту пероксидного окиснення ліпідів малонового діальдегіду). Під впливом ГАМК у проростках пшениці зростав загальний вміст фенольних сполук, а у проростках тритикале майже вдвічі збільшувався вміст антоціанів. У проростках, отриманих із зернівок, праймованих ГАМК, також істотно зростала активність каталази за відсутності істотних змін активності супероксиддисмутази і пероксидази. Зроблено висновок щодо перспективності застосування праймінгу ГАМК для підвищення схожості насіння злаків зі зниженими посівними якість.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum*, *×Triticosecale*, антиоксидантна система, гамма-аміномасляна кислота, окиснювальний стрес, праймінг, проростання зернівок, старіння насіння

ARTICLE HISTORY. Submitted 20 May 2024. Revised 3 July 2024. Published 30 August 2024

CITATION. Shakhov I.V., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Dmitriev A.P., Kolupaev Yu.E. 2024. Increasing germination and antioxidant activity of aged wheat and triticale grains by priming with gamma-aminobutyric acid. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(4): 290–304. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.04.290>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

## Вступ

Здатність насіння до швидкого і рівномірного проростання критично важлива для формування посівів більшості сільськогосподарських культур. Неминуче зниження життєздатності насіння з віком визначає можливу тривалість його зберігання. Поліпшення цієї характеристики має першорядне значення не лише для підвищення урожайності сільськогосподарських культур, а й для збереження генетичного різноманіття диких видів (Pirredda et al., 2024). Збереження насінням схожості протягом певного часу залежить як від видових особливостей, так і від умов зберігання. Як відомо (Probert et al., 2007), підвищена вологість і температура прискорюють старіння насіння, що зрештою призводить до втрати ним життєздатності.

В Україні проблема дотримання належного зберігання зерна нині набула особливої актуальності через активні бойові дії, що відбуваються з лютого 2022 року. Також через форс-мажорні обставини можуть порушуватися регламенти пересіву насіння колекцій вітчизняних банків генетичних ресурсів. Зважаючи на це, пошук фізіологічних прийомів підвищення схожості насіння стає актуальним прикладним завданням. Водночас його вирішенню сприяють значний обсяг нових фундаментальних знань про механізми старіння насіння та інтенсивне накопичення відомостей про нові фізіологічно активні речовини (ФАР), що здатні поліпшувати посівні якості насіння (Deng et al., 2017; Kim et al., 2017; Sako et al., 2020).

Сьогодні існує досить широкий і доступний арсенал фізіологічних прийомів і сполук, застосування яких може підвищувати схожість насіння. Один з таких підходів — гідропраймінг, в основі якого лежить контрольоване зволоження з наступним висушуванням зернівок для посилення перебігу в них метаболічних процесів, необхідних для проростання (Waqas et al., 2019). Ефект гідропраймінгу може бути істотно посилений одночасним застосуванням різноманітних ФАР. Серед сполук, здатних посилювати проростання насіння та ріст проростків на ранніх стадіях розвитку за нормальних і особливо стресових умов, є класичні фітогормони, наприклад гібереліни (Kosakivska et al., 2022a) і цитокініни (Vedenicheva et al., 2022), сигнальні посередники, зокрема солі кальцію (Ashraf et

al., 2019), гідроген пероксид (Ellouzi et al., 2017), нітроген оксид (Bethke et al., 2004), гідроген сульфід (Zhou et al., 2018), а також інші молекули-медіатори — мелатонін (Jiang et al., 2016; Simlat et al., 2018), ацилгломосеринлактони (Babenko et al., 2022; Kosakivska et al., 2022b) тощо. У практиці праймінгу насіння ФАР застосовуються як технології, що передбачають висушування праймованого насіння (Waqas et al., 2019; Gelaw, Sanan-Mishra, 2024), так і висівання обробленого насіння без попереднього висушування (Mao et al., 2018).

У сучасних моделях, що описують зміни фізіологічних процесів при проростанні зернівок, проводяться паралелі між цими процесами і стресовою реакцією рослини (Kranner et al., 2010). Подібність полягає в тому, що в обох випадках відбуваються сприйняття клітинами зовнішніх сигналів (насамперед про зміни температури та вологості), активація сигнальної мережі і трансдукція сигналів у генетичний апарат (Paparella et al., 2015). Процеси проростання насіння супроводжуються посиленням генерації активних форм оксигену (АФО), які беруть участь у формуванні редокс-сигналів, необхідних для росту проростка (Kranner et al., 2010). Однак саме посилене утворення АФО у насінні може бути однією з головних причин їхнього старіння (Zhang et al., 2021). При неправильному зберіганні насіння, що спричинює його прискорене старіння, внаслідок утворення АФО активується пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ), що зрештою призводить до порушення цілісності мембран (Kurek et al., 2019). Розвиток окиснювального стресу також спричинює характерне для старіючого насіння карбонілювання білків (Rajjou et al., 2008), а в окремих випадках і пошкодження ДНК (Kurek et al., 2019; Afzal, 2023).

Зважаючи на істотний внесок окиснювального стресу в деструктивні процеси старіння насіння, можна очікувати, що застосування антиоксидантів або сполук, здатних активувати антиоксидантну систему, сприятиме нормальному проростанню зернівок. Останнім часом отримано відомості про позитивний вплив відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти та їхньої суміші на проростання старих зернівок вівса та відновлення такими обробками нормальної функціональної активності мітохондрій клітин зародкових корінців (Xia et al., 2020). Застосування екзогенного мелатоніну,

який також має високу антиоксидантну активність, сприяло проростанню старих зернівок жита і тритикале (Kolupaev et al., 2024a).

В останні роки зріс інтерес до функцій у рослин ще одного стресового метаболіту — гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК), яка має власну антиоксидантну та антирадикальну активність (Kozeko et al., 2024). Також її стрес-протекторну дію пов'язують з підтриманням пулу відновників за рахунок активації ГАМК-шунту (Vor, Turkan, 2019). Крім того, останнім часом отримано експериментальні докази залучення ГАМК у сигнальні процеси з участю АФО та іонів кальцію, які призводять до активації ферментативної антиоксидантної системи (Jin et al., 2019; Kolupaev et al., 2024b). Давно встановлено і позитивний зв'язок між кількістю ендогенної ГАМК, активністю ферментів її синтезу і метаболізму в зернівках та їхньою здатністю до проростання (Galleschi, Floris, 1978). Нещодавно встановлено, що праймінг ГАМК насіння гарбуза лікарського (*Cucurbita pepo* L. subsp. *pepo*), що піддавалося штучному старінню, перешкоджав зниженню у ньому вмісту ненасичених і поліненасичених жирних кислот. В кінцевому підсумку процедура праймінгу ГАМК сприяла збереженню життєздатності насіння *C. pepo* (Afshari, Seuyedi, 2020). У низці досліджень показаний позитивний вплив праймінгу насіння різних видів культурних рослин ГАМК на проростання за несприятливих умов. Наприклад встановлено, що праймінг насіння рису (*Oryza sativa* L.) сприяв його проростанню за умов осмотичного стресу, створюваного ПЕГ, і засолення (Sheteiwy et al., 2019). Цей ефект супроводжувався зростанням у проростках вмісту транскриптів і активності антиоксидантних ферментів та ензимів метаболізму фенолів. Обробка ГАМК зернівок конюшини білої (*Trifolium repens* L.) зменшувала зниження ендогенного вмісту цієї амінокислоти, спричинюване осмотичним стресом, та підвищувала схожість насіння (Zhou et al., 2021). Виявлено також, що гідропраймінг зернівок пшениці у поєднанні з дією ультразвуку підвищував енергію проростання і схожість з одночасним посиленням процесів синтезу і метаболізму ГАМК (Samarah Nezar et al., 2023). Проте, донині залишався не дослідженим вплив праймінгу екзогенною ГАМК на проростання старіючих зернівок пшениці, незважаючи на поширеність і продовольчу важливість цього злаку. Так само відсутні

відомості щодо впливу праймінгу ГАМК на зернівки тритикале — гібридного виду, отриманого схрещуванням пшениці й жита, що поєднує в собі цінні властивості харчової та кормової культури, проте вирізняється досить швидким зниженням схожості насіння при зберіганні за неоптимальних умов (Kolupaev et al., 2024a).

У зв'язку із викладеним, метою роботи було вивчення впливу праймінгу ГАМК на проростання зернівок пшениці (*Triticum aestivum* L.) і тритикале ( $\times$  *Triticosecale* Wittm. ex A. Camus), що зазнали природного старіння, та дії ГАМК на основні маркери стану антиоксидантної системи під час формування проростків.

## Матеріали та методи

### Рослинний матеріал та його обробка

Для експериментів використовували насіння м'якої озимої пшениці сорту 'Scorpion' (Чехія, Австрія) і тритикале озимого сорту 'Раритет' (Україна) генерації 2020 року. Пшениця 'Scorpion' має блакитні зернівки з підвищеним вмістом поліфенольних сполук (Martinek et al., 2013). Водночас повідомляється, що насіння цього сорту навіть при правильному зберіганні легко всихає, зморщується, що призводить до зниження його схожості (Martinek et al., 2013). Насіння тритикале сорту 'Раритет', як засвідчують отримані раніше дані (Kolupaev et al., 2024a), після зберігання протягом кількох років також помітно втрачає схожість. Перед проведенням експериментів насіння пшениці і тритикале протягом 3-х років зберігалось в приміщенні в неконтрольованих умовах (у літній період температура досягала 30–32 °С, в зимовий — опускалася до –6 ... –8 °С; відносна вологість повітря під час зберігання неодноразово змінювалася від 25–30 до 80–85%. Внаслідок цього схожість насіння за 3 роки зберігання знизилася приблизно до 50% у пшениці і до 40% у тритикале.

Насіння всіх варіантів дослідів незаражували 5%-м розчином гіпохлориту натрію протягом 15 хв і восьмиразово промивали стерильною дистильованою водою. Потім частину насіння протягом 3 год витримували в склянках з дистильованою водою (гідропраймінг). Як показано раніше, гідропраймінг дещо підвищує (приблизно в межах 10%) схожість насіння (Kolupaev et al., 2024a). Зважаючи на це, контролем вважали саме варіант з гідропраймінгом.

У варіантах з обробкою ГАМК насіння втримували протягом 3 год у її розчинах з концентрацією 0,2; 1 і 5 мМ у темному термостаті при 24 °С. В окремих серіях експериментів для доведення специфічної дії ГАМК на проростання насіння використовували для порівняння дві альфа-амінокислоти — гліцин і валін в концентрації 1 мМ. Всі досліджувані амінокислоти були L-ізомерами. Насіння, піддане гідропраймінгу або обробці ГАМК чи іншими амінокислотами, висушували в темному термостаті за температури 24 °С і вологості повітря 40% протягом доби. Після цього зернівки розкладали в чашки Петрі з двома шарами стерильного фільтрувального паперу, зволоженого дистильованою водою, і пророщували в темному термостаті за температури 24 °С протягом 3 діб. Через 2 доби пророщування оцінювали відносну кількість схожого насіння (показник енергії проростання) і масу стеблової та кореневої частини проростків, отриманих від нормально пророслих зернівок. На 3-ю добу пророщування оцінювали схожість (відносну кількість пророслого насіння). Пагони 3-добових проростків використовували для біохімічних аналізів.

### Аналіз біохімічних показників

*Визначення генерації супероксидного аніонрадикала.* В основі методу взаємодія  $O_2^{\bullet-}$  з нітросинім тетразолієм з утворенням формазану (Karpets et al., 2012). По 10 пагонів однакового розміру поміщали на 1 год в бюкси з 5 мл 0,1 М К, Na-фосфатного буферу (рН 7,6), що містив 0,05% нітросинього тетразолію, 10 мкМ ЕДТА та 0,1% тритону X-100. Після закінчення експозиції пагони обережно вилучали з бюксів та вимірювали оптичну густину інкубаційного розчину за довжини хвилі 530 нм на спектрофотометрі UV-1280 (Shimadzu, Японія). Показник генерації  $O_2^{\bullet-}$  розраховували в умовних одиницях ( $A_{530} \cdot 1000/\text{маса сирової речовини пагонів}$ ).

*Визначення вмісту гідроген пероксиду.* Наважки рослинного матеріалу масою 300 мг на льоду гомогенізували у 5%-му розчині трихлороцтової кислоти (ТХО). Проби центрифугували при 8000 g протягом 10 хв за температури 2–4 °С на центрифугі MPW 350R (MPW MedInstruments, Польща) і в супернатанті визначали концентрацію  $H_2O_2$  за допомогою феротіюціанатного методу (Sagisaka, 1976).

*Визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК).* Для аналізу продуктів ПОЛ (переважно малоновий діальдегід — МДА) наважку масою 300 мг гомогенізували у розчині 0,25% ТБК в 10% ТХО (дослідна проба) або у розчині лише 10% ТХО (контроль). Суміші кип'ятили в пробірках, закритих ковпачками з фольги, на водяній бані протягом 30 хв. Після цього охолоджували і центрифугували протягом 15 хв при 10000 g. Оптичну густину супернатанту вимірювали за довжини хвилі 532 нм (основний сигнал) та 600 нм (неспецифічне світлопоглинання, величину якого віднімали від основного результату  $A_{532}$ ) (Kolupaev et al., 2024a). Вміст МДА розраховували за молярним коефіцієнтом екстинкції  $1,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  і виражали в нмоль/г сирової речовини.

*Аналіз активності антиоксидантних ферментів.* При визначенні активності антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази (СОД), каталази і гваяколпероксидази наважки рослинного матеріалу гомогенізували на холоді в 0,15 М К, Na-фосфатному буфері (рН 7,6), що містив 0,1 мМ ЕДТА та 1 мМ дитіотрейтолу (Kolupaev et al., 2020). Гомогенат одразу аналізували. Активність ферментів визначали у супернатанті після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 10 хв при 4 °С.

Активність СОД (КФ: 1.15.1.1) аналізували при рН 7,6 за методом, в основі якого здатність ферменту до конкуренції з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, утворені аеробною взаємодією феназинметосульфату та НАДН. Абсорбцію вимірювали при 540 нм. Активність виражали в умовних одиницях як різницю у зміні оптичної густини контрольної (без рослинного матеріалу) і дослідної проб у розрахунку на 1 г сухої речовини і час реакції (хв).

Активність каталази (КФ 1.11.1.6) аналізували при рН 7,0 за кількістю пероксиду водню, розкладеного за одиницю часу, і виражали ммоль  $H_2O_2$  / (г сухої речовини × хв).

Активність гваяколпероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали з використанням гваяколу як донора водню та пероксиду водню як субстрату. Попередньо рН реакційної суміші доводили до 6,2 з використанням К, Na-фосфатного буферу. Оптичну густину тетрагваяколу визначали при 470 нм. Активність ферменту виражали в умовних одиницях/(г сухої речовини × хв).

Визначення вмісту фенольних речовин і антоціанів. Для визначення загального вмісту фенольних сполук і антоціанів 300 мг рослинного матеріалу гомогенізували в 6 мл 80%-го етанолу, екстрагували протягом 20 хв за кімнатної температури і центрифугували при 8000 g протягом 15 хв. Для оцінки вмісту фенольних сполук у реакційні пробірки вносили 0,5 мл супернатанту, 8 мл дистильованої води та 0,5 мл реактиву Фоліна, перемішували і через 3 хв додавали 1 мл 10%-го карбонату натрію. Через 1 годину абсорбцію реакційної суміші вимірювали при 725 нм (Bobo-García et al., 2015). Вміст фенольних сполук виражали у мкмоль галової кислоти на 1 г сирової речовини.

Перед визначенням вмісту антоціанів супернатант підкислювали HCl до кінцевої концентрації 1%. Поглинання визначали при 530 нм (Nogués, Baker, 2000). Результати виражені в умовних одиницях, як абсорбція у розрахунку на 1 г рослинного матеріалу.

### Статистична обробка результатів

При визначенні впливу обробки насіння ГАМК та іншими амінокислотами на проростання насіння і біомасу проростків кожна повторність складалася з 60 зернівок, а в кожному варіанті досліду було не менше 4-х повторень. Під час проведення біохімічних аналізів кожна наважка складалася щонайменше з 12 проростків, аналізи проводили у 3–4-разовому повторенні.

Значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Ст'юдента при  $p \leq 0,05$ , використовуючи пакет статистичного аналізу Statistica, версія 10.0. На рисунках наведені середні величини та їхні стандартні похибки. При побудові теплової карти змін досліджуваних показників всі величини (разом для обох видів) попередньо нормували від 0 до 1.

### Результати

#### Проростання зернівок і біомаса проростків

Праймінг зернівок ГАМК в концентраціях 0,2, 1 і 5 мМ спричинював підвищення енергії проростання і схожості насіння пшениці і тритикале (рис. 1, 2). Проте значиме при  $p \leq 0,05$  зростання цих показників спостерігали тільки при концентрації ГАМК 1 мМ. Хоча ефекти 0,2 і 5,0 мМ ГАМК відзначалися на рівні стійкої тенденції (рис. 2А).

Праймінг насіння пшениці ГАМК в концентраціях 0,2 і 1,0 мМ посилював накопичення біомаси коренів проростків (рис. 2В). При підвищенні концентрації ГАМК до 5 мМ її ефекти зменшувалися. Також за обробки насіння ГАМК підвищувалася біомаса пагонів проростків пшениці. Проте значимий при  $p \leq 0,05$  ефект спостерігали тільки для концентрації 1 мМ. Такі зміни позначилися і на величинах загальної біомаси проростків пшениці. Достовірно цей показник зростав при використанні концентрацій 0,2 і 1,0 мМ.

У проростків тритикале показники накопичення біомаси коренів зростали за дії 1 і 5 мМ ГАМК (рис. 2В). Водночас зростання біомаси пагонів було достовірним лише для концентрації ГАМК 1 мМ. Проте при порівнянні з контролем величин біомаси цілих проростків ефекти виявилися значимими при  $p \leq 0,05$  для всіх трьох досліджуваних концентрацій. Однак найбільш помітний ефект спостерігали за концентрації 1 мМ.

У наступних серіях експериментів для доведення специфічної дії ГАМК на проростання старих зернівок порівнювали вплив 1 мМ ГАМК з дією альфа-амінокислот — гліцину і валіну в такій самій концентрації. Праймінг зернівок пшениці і тритикале цими амінокислотами не призводив до суттєвих змін енергії проростання і схожості (рис. 3А). Так само обробка зернівок гліцином і валіном істотно не впливала на накопичення біомаси коренів, пагонів і проростків у цілому (рис. 3).

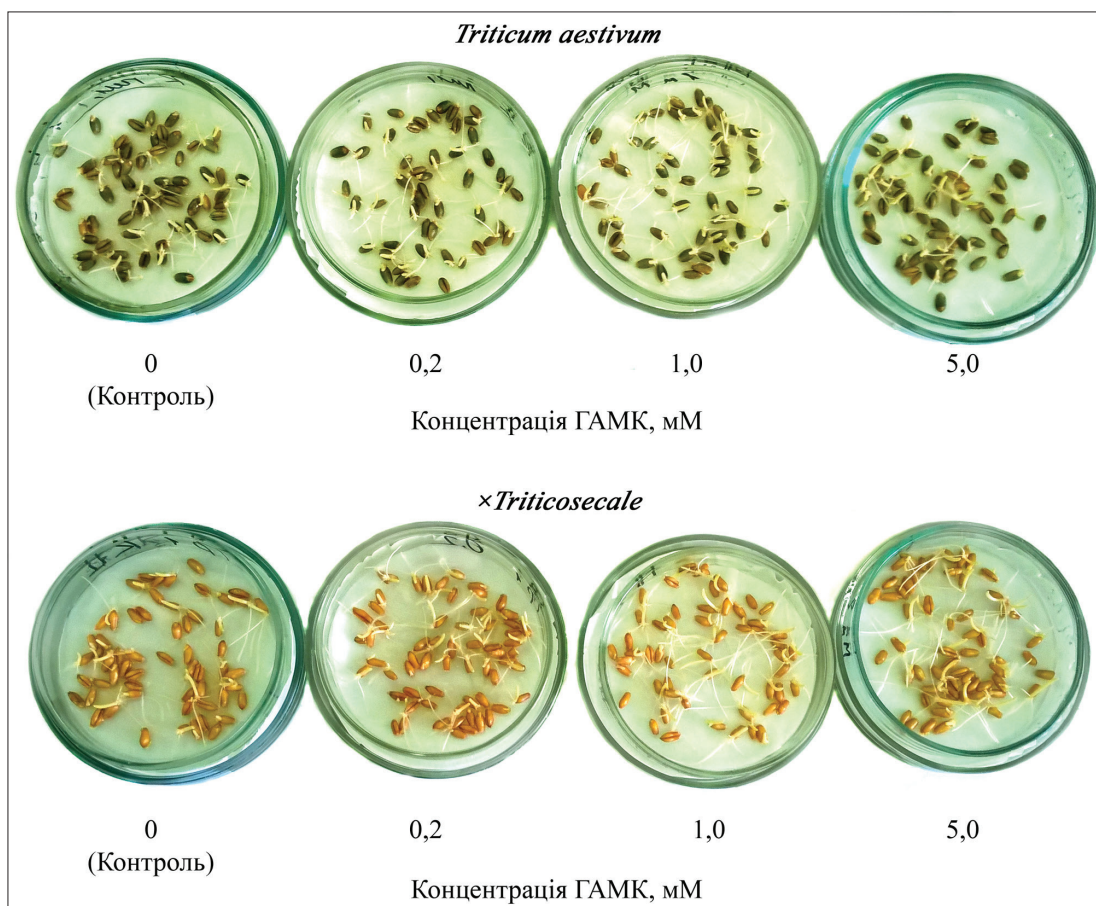
#### Генерація АФО і вміст МДА у пагонах проростків пшениці і тритикале

Обробка насіння ГАМК спричинювала зниження генерації супероксидного аніон-радикала пагонами обох видів злаків (рис. 4А). Разом із цим під впливом ГАМК відзначалося зменшення вмісту гідроген пероксиду в пагонах проростків пшениці і тритикале (рис. 4В). Так само у проростків пшениці і тритикале, вирощених із зернівок, праймованих ГАМК, знижувався вміст продукту ПОЛ МДА (рис. 4С).

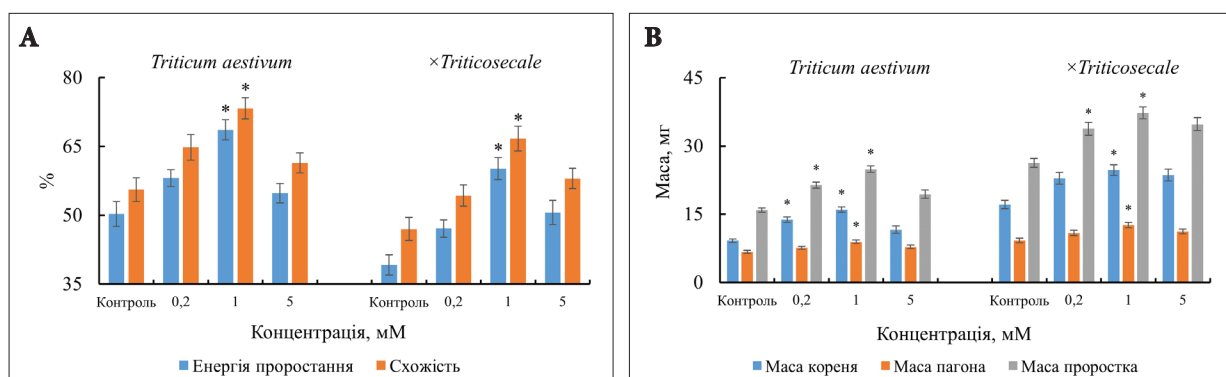
#### Активність антиоксидантних ферментів у пагонах проростків пшениці і тритикале

Праймінг зернівок ГАМК істотно не впливав на активність СОД у пагонах проростків пшениці і тритикале, хоча при цьому відзначалася



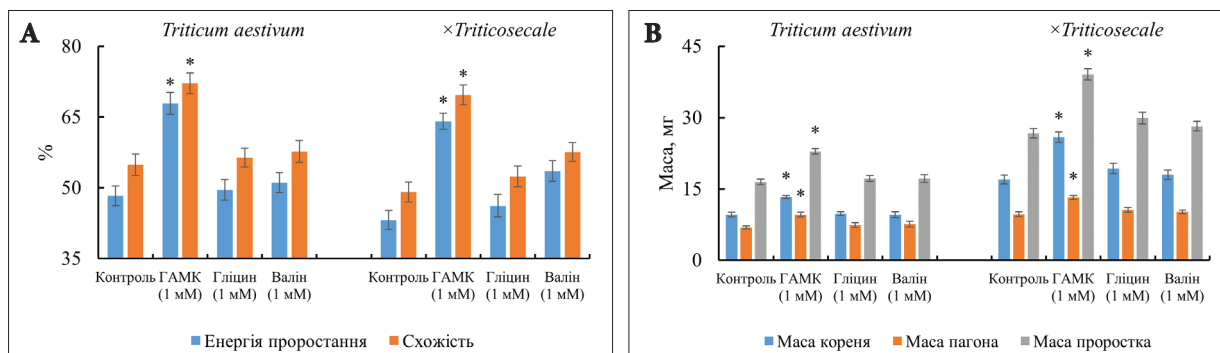


**Рис. 1.** Проростання зернівки пшениці і тритикале через 48 год перебування на вологому папері  
**Fig. 1.** Germination of wheat and triticale grains after 48 h on wet paper



**Рис. 2.** Концентраційна залежність впливу праймінгу ГАМК на енергію проростання, схожість насіння (А) та біомасу органів проростків пшениці і тритикале (В). Зірочкою позначені достовірні при  $p \leq 0,05$  відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

**Fig. 2.** Concentration dependence of the effect of GABA priming on germination energy, seed germination rates (A), and organ biomass of wheat and triticale seedlings (B). Asterisks indicate significant differences at  $p \leq 0.05$  between the control and experimental groups



**Рис. 3.** Порівняння впливу праймінгу ГАМК і α-амінокислотами в концентраціях 1 мМ на енергію проростання (А) та біомасу органів проростків пшениці і тритикале (В). Зірочкою позначені достовірні при  $p \leq 0,05$  відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

**Fig. 3.** Comparison of the effect of priming with GABA and α-amino acids at 1 mM on germination energy (A) and organ biomass of wheat and triticale seedlings (B). Asterisks indicate significant differences at  $p \leq 0.05$  between the control and experimental groups

тенденція до деякого зниження активності ферменту (рис. 5А). Водночас у пагонах проростків як пшениці, так і тритикале зафіксовано значне підвищення активності каталази (рис. 5В). Активність іншого ферменту, задіяного у регуляції вмісту гідроген пероксиду — гваяколпероксидази, за обробки зернівок ГАМК в обох видів злаків залишалася без істотних змін (рис. 5С).

### Вміст вторинних метаболітів у пагонах проростків пшениці і тритикале

Праймінг зернівок пшениці ГАМК спричинював помітне підвищення загального вмісту фенольних сполук (рис. 6А). Водночас обробка зернівок ГАМК не позначилась на такому ж показнику у тритикале.

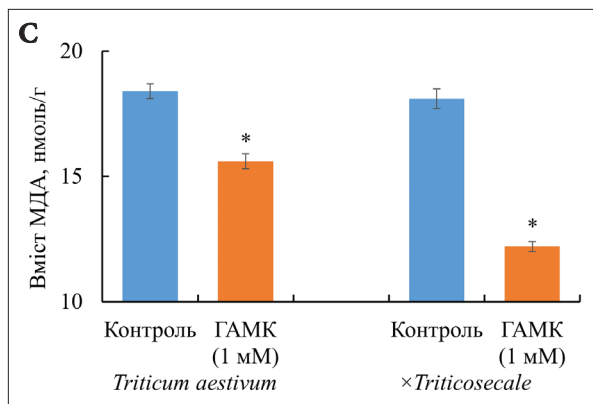
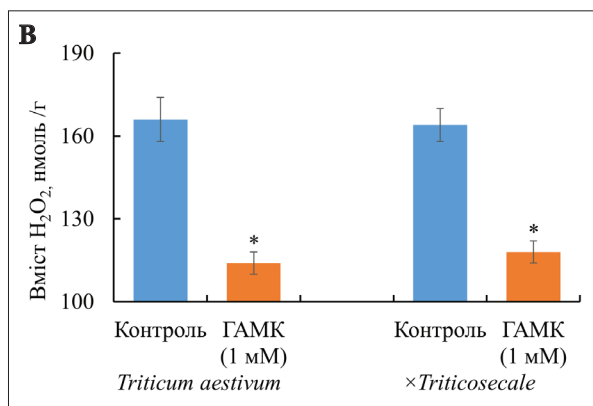
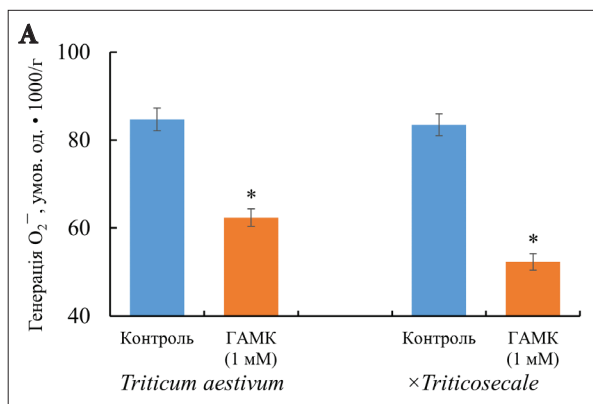
Протилежний характер змін спостерігали при визначенні вмісту антоціанів у пагонах проростків за праймінгу зернівок 1 мМ ГАМК. Обробка насіння ГАМК не впливала на вміст антоціанів у пагонах проростків пшениці. Проте у проростках тритикале спостерігали істотне (майже вдвічі) збільшення вмісту антоціанів за обробки зернівок 1 мМ ГАМК (рис. 6В).

### Обговорення

Отримані результати свідчать про те, що праймінг зернівок пшениці і тритикале, які мають знижені посівні якості через тривале зберігання за несприятливих умов, спричинює підвищення схожості та енергії проростання. Також у проростках, отриманих з насіння,

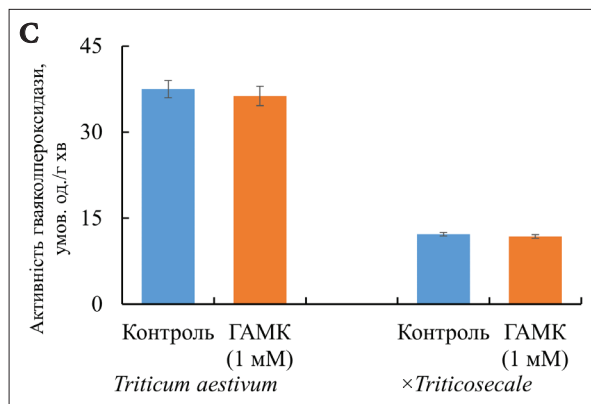
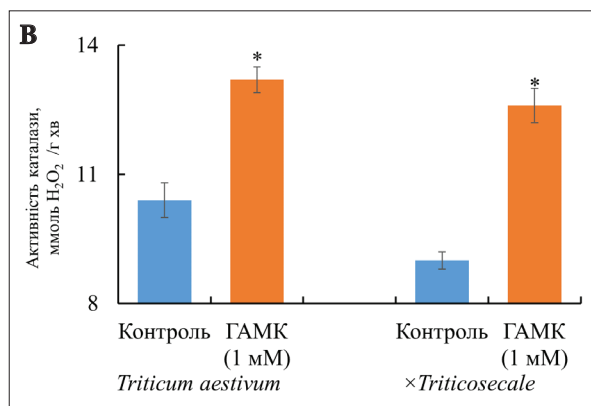
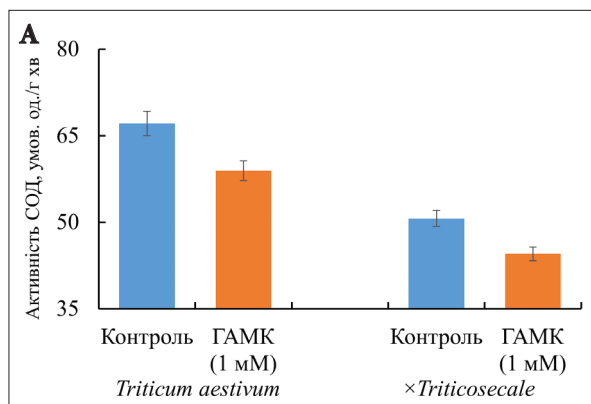
праймованого ГАМК, спостерігалися вищі порівняно з контролем (гідропраймінг) показники біомаси коренів і пагонів (рис. 1, 2, 7). Оскільки ефективними виявилися відносно високі концентрації ГАМК (оптимальна — 1 мМ), для доведення специфічності її дії ми порівнювали ефекти ГАМК під впливом праймування зернівок звичайними альфа-амінокислотами в L-формі — гліцином і валіном. Виявилось, що обидві ці амінокислоти істотно не впливали на проростання насіння та накопичення біомаси органами проростків пшениці і тритикале (рис. 3). Таким чином, є підстави вважати, що ГАМК виявляє специфічний регуляторний ефект, не пов'язаний з її використанням при проростанні зернівок як додаткового джерела нітрогену.

Як уже зазначалося, однією з основних причин зниження схожості насіння в часі (його старіння) є окиснювальні пошкодження ліпідів біомембран і, як наслідок, порушення їхньої здатності виконувати відповідні функції. Це стосується і структури та функцій мембран мітохондрій (Xia et al., 2020). Порушення функцій мембран, в яких локалізовані електрон-транспортні ланцюги, додатково підвищує ймовірність утворення АФО і розвитку окиснювального стресу. Відомо, що ГАМК здатна зменшувати окиснювальні пошкодження в мітохондріях та інших клітинних структурах (Bouché et al., 2003; Kolyraev et al., 2024c). Водночас відомо, що початок проростання зернівок супроводжується посиленням утворення АФО (Kranmer et al., 2010). При цьому обробка насіння різними



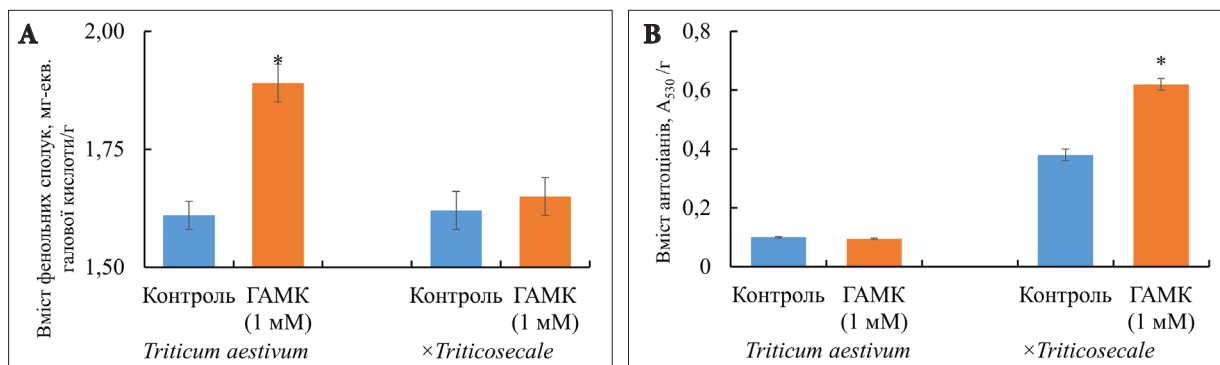
**Рис. 4.** Генерація супероксидного аніон-радикала (А), вміст гідроген пероксиду (В) і малонового діальдегіду (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Зірочкою позначені достовірні при  $p \leq 0,05$  відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

**Fig. 4.** Generation of superoxide anion radical (A), content of hydrogen peroxide (B) and malondialdehyde (C) in shoots of wheat seedlings and triticale. Asterisks indicate significant differences at  $p \leq 0.05$  between the control and experimental groups



**Рис. 5.** Активність СОД (А), каталази (В) і гваяколероксидази (С) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Зірочкою позначені достовірні при  $p \leq 0,05$  відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

**Fig. 5.** Activity of SOD (A), catalase (B), and guaiacol peroxidase (C) in shoots of wheat and triticale seedlings. Asterisks indicate significant differences at  $p \leq 0.05$  between the control and experimental groups



**Рис. 6.** Вміст фенольних сполук (А) і антоціанів (В) у пагонах проростків пшениці і тритикале. Зірочкою позначені достовірні при  $p \leq 0,05$  відмінності між показниками контрольної та експериментальної груп

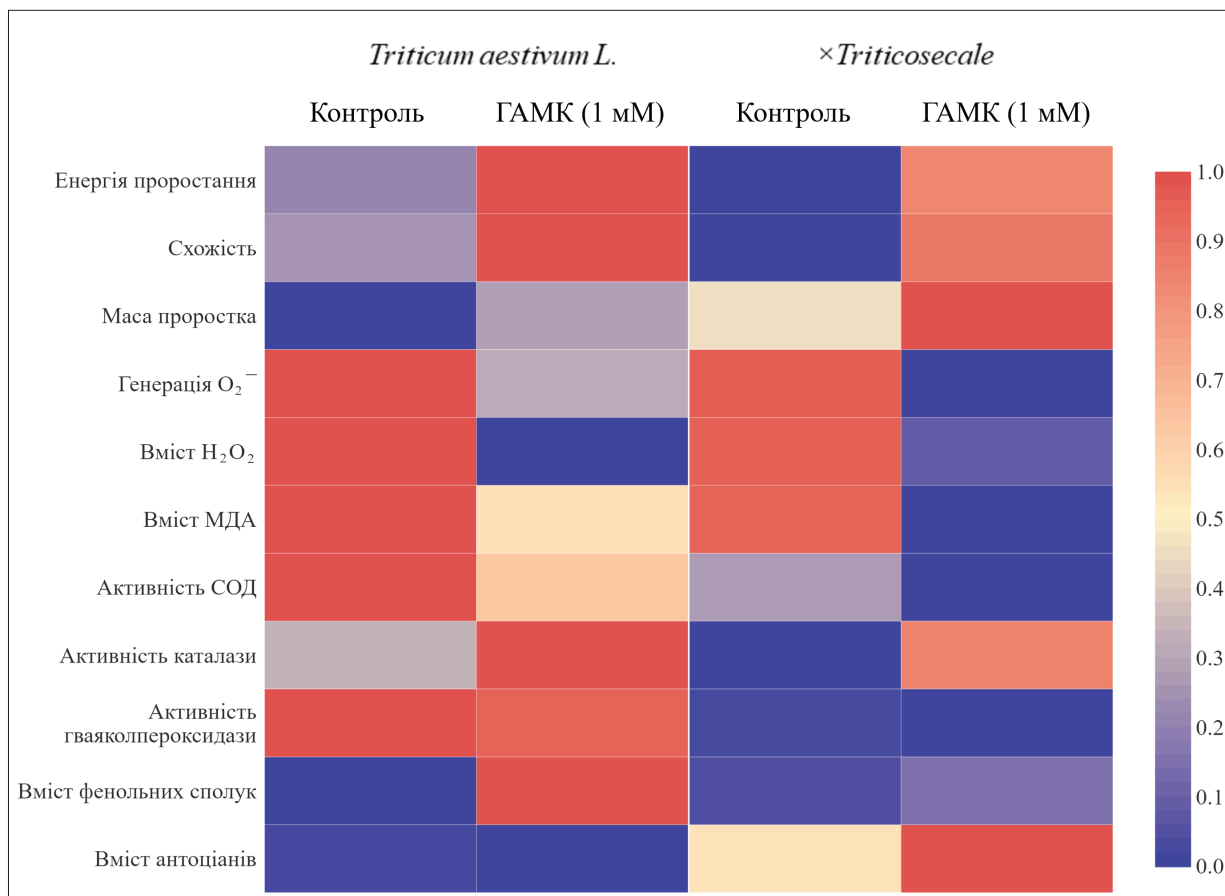
**Fig. 6.** Content of phenolic compounds (A) and anthocyanins (B) in shoots of wheat and triticale seedlings. Asterisks indicate significant differences at  $p \leq 0.05$  between the control and experimental groups

сполуками з антиоксидантною активністю, зокрема глутатіоном, аскорбіною кислотою, мелатоніном, може підвищувати життєздатність старого насіння (Xia et al., 2020; Kolupaev et al., 2024a). Даних щодо впливу праймінгу ГАМК на проростання старого насіння поки що в літературі замало. Водночас доведено, що попередній праймінг ГАМК насіння *S. pero* значно пом'якшував негативний вплив наступного штучного старіння на жирнокислотний склад і накопичення проростками біомаси (Afshari, Seyyedi, 2020).

Однією з причин підвищення схожості і накопичення біомаси проростками під впливом ГАМК можна вважати зменшення інтенсивності розвитку окиснювального стресу. Зокрема, у проростків пшениці і тритикале, отриманих з праймованого насіння, знижувалися величини генерації супероксидного аніон-радикала та вмісту гідроген пероксиду і МДА (рис. 4, 7). Це може бути пов'язане як зі зменшенням генерації АФО, так і з підвищенням активності антиоксидантних ферментів. Проте зниження вмісту  $O_2^{\cdot-}$  не супроводжувалося підвищенням активності СОД (рис. 5, 7). Отже, можна припустити, що істотний внесок у знешкодження супероксидного аніон-радикала робили низькомолекулярні антиоксиданти, зокрема, вторинні метаболіти. У проростках пшениці в наших експериментах спостерігалось підвищення загальної кількості фенольних сполук, а у тритикале — вмісту однієї з груп флавоноїдних сполук — антоціанів (рис. 6, 7). Ці вторинні метаболіти можуть ефективно знешкоджувати АФО, передусім їхні радикальні форми, в т.

ч. і супероксидний аніон-радикал (Neill, Gould, 2003). Таким чином, ймовірно, що під впливом ГАМК зменшувалось утворення супероксидного аніон-радикала і водночас посилювалося знешкодження низькомолекулярними антиоксидантами фенольної або поліфенольної природи. Проте зменшення вмісту гідроген пероксиду в проростках пшениці і тритикале за обробки насіння ГАМК може бути зумовлено зростанням активності каталази (рис. 5, 7). При цьому активність гваколпероксидази у пагонах двох досліджуваних видів злаків за умов наших експериментів під впливом праймінгу насіння ГАМК не змінювалася. Відомо, що неспецифічна пероксидаза (гваяколпероксидаза) може не тільки знешкоджувати АФО, а й брати участь в генерації супероксидного радикала і гідроген пероксиду, тобто виявляти прооксидантні ефекти (Kolupaev, Karpets, 2014). Через це підвищення активності пероксидази не завжди є ознакою активації антиоксидантних процесів. Натомість каталаза ефективно виконує саме функції зі знешкодження високих концентрацій  $H_2O_2$  (Scandalios, 1997).

З літератури відомі антиоксидантні властивості ГАМК. Зокрема, досить давно в системі *in vitro* була показана її здатність ефективно зв'язувати одну з найбільш агресивних АФО — гідроксильний радикал (Smirnoff, Cumbes, 1989), який знешкоджується тільки неферментативними антиоксидантами. Ще один механізм запобігання розвитку окиснювального стресу за обробки насіння ГАМК може бути зумовлений активацією реакцій ГАМК-шунту. За умов



**Рис. 7.** Теплова карта змін ростових показників і стану антиоксидантної системи проростків пшениці і тритикале за дії 1 мМ ГАМК. Усі показники нормовані від 0 до 1

**Fig. 7.** Heat map of changes in growth parameters and the antioxidant system of wheat and triticale seedlings under the influence of 1 mM GABA. All values are normalized from 0 to 1

стресу може відбуватися інгібування циклу трикарбонових кислот, що призводить до порушення дихання та накопичення АФО (Bouche et al., 2003). Оскільки ГАМК-шунт здатний постачати відновники НАДН або сукцинат, він може компенсувати спричинювані стресом порушення в циклі трикарбонових кислот. Завдяки цьому ГАМК-шунт допомагає зберегти роботу дихального ланцюга та запобігти надмірному утворенню АФО під час стресу (Kolupaev et al., 2024c).

У нашій роботі ми зосередили увагу на ролі ГАМК у підтриманні про-/антиоксидантної рівноваги при проростанні старих зернівок злаків. Безумовно, це не єдиний шлях впливу ГАМК на проростання зернівок. Ще однією вагомою складовою впливу ГАМК на проростання зернівок може бути посилення під її впливом експресії

генів і активності  $\alpha$ -амілази, що показано на прикладі зернівок ячменю (Sheng et al., 2018). Такий ефект може сприяти активнішому залученню запасних вуглеводів зернівок у метаболічні процеси, що активуються при проростанні насіння.

Проростання зернівок істотно залежить від синтезу ендогенної ГАМК. Відомо, що чинники, які сприяють підвищенню проростання насіння (наприклад, вплив гідропрямінгу та ультразвуку), можуть посилювати активність та експресію гена глутаматдекарбоксилази і, як наслідок, накопичення ендогенної ГАМК (Samarah Nezar et al., 2023). Підвищення схожості насіння томатів, спричинюване обробкою вуглецевими нановолокнами, супроводжувалось збільшенням вмісту ендогенної ГАМК та підвищенням активності ферментів її синтезу (Alquraan et al., 2021).

Також повідомляється, що і процес проростання насіння за звичайних умов супроводжується зростанням вмісту ГАМК (Baranzelli et al., 2018). Водночас зафіксовано підвищення вмісту ендогенної ГАМК у насінні кукурудзи, ячменю, томатів, білої конюшини за праймінгу ГАМК (Kumar et al., 2021). Не виключено, що відносно пролонговані ефекти екзогенної обробки ГАМК пов'язані саме з активацією її ендогенного синтезу. Підвищення вмісту ендогенної ГАМК за впливу теплового стресу у поєднанні з дією екзогенної ГАМК показано також у сочевиці (*Lens culinaris* Medik.) (Bhardwaj et al., 2021). Зрештою, можливі причини позитивного ефекту праймінгу насіння різними сполуками, що впливають на редокс-гомеостаз, включно з ГАМК можна розглядати і з позицій епігенетичних і транскриптомних змін, які здатні зумовлювати збереження так званої "стресової пам'яті" (Liu et al., 2022; Gelaw, Sanan-Mishra, 2024) та пом'якшувати наслідки окиснювального стресу при проростанні зернівок за рахунок швидшої активації стрес-протекторних систем. Проте участь цих процесів в реалізації впливу праймінгу ГАМК на проростання старих зернівок злаків може бути з'ясована лише у спеціальних дослідженнях.

Отже, праймінг насіння ГАМК напевно спричинює активацію широкого спектра фізіолого-біохімічних процесів, які розвиваються в часі, зокрема: посилення ГАМК-шунту в мітохондріях, що сприяє підтриманню редокс-гомеостазу і процесів генерації відновників; синтез окремих низькомолекулярних антиоксидантів та експресії генів антиоксидантних ферментів, а також викликає гідроліз запасних полімерів у зернівках. Як відомо, процеси проростання зернівок супроводжується істотними змінами гормонального балансу. Так, необхідна для проростання зародка активація клітинного циклу індукується підвищеним вмістом етилену і гіберелінів та зменшенням вмісту абсцизової кислоти (Kerczynski et al., 2017). Вплив ГАМК на ці процеси при проростанні насіння дотепер не досліджений. Водночас дані про складні перехресні зв'язки між ГАМК і основними фітогормонами інтенсивно накопичуються (Xu et al., 2021). Зокрема, виявлено ефект антагонізму між ГАМК і абсцизовою кислотою при регуляції ними стану продохів (Xu et al., 2021). Цілком ймовірно, що вплив ГАМК на проростання насіння також включає в себе функціональну взаємодію ГАМК

з ключовими гормонами, задіяними у регуляції цього процесу. Це питання виходить за рамки експериментального матеріалу, отриманого в даній роботі, але може бути перспективним напрямом подальших досліджень.

## Висновки

Праймінг старих зернівок пшениці і тритикале ГАМК істотно підвищував енергію проростання, схожість насіння та ріст проростків. Однією з причин підвищення схожості насіння досліджуваних злаків під впливом ГАМК може бути пом'якшення окиснювального стресу, що супроводжує проростання. На це вказує зменшення генерації супероксидного аніонрадикала та вмісту пероксиду водню і МДА у проростках. Ймовірно, цей ефект зумовлений менш інтенсивним стохастичним утворенням АФО за обробки ГАМК та посиленням під її впливом функціонування окремих складових антиоксидантної системи, зокрема, підвищенням активності каталази у обох видів злаків, зростанням загального вмісту фенольних речовин у пшениці і антоціанів у тритикале. Отже, праймінг зернівок злаків ГАМК може бути ефективним біотехнологічним прийомом для посилення їх проростання.

## Подяки

Робота виконувалася за часткової підтримки проектів 14.00.02.06.П "Розробка методів праймінгу насіння зернових злаків дією донорів газотрансмітерів та сполук з гормональною активністю" (номер держреєстрації 0124U000126) та III-2-23 "Генетичні та епігенетичні механізми і фактори захисних і адаптивних реакцій рослин" (номер держреєстрації 0123U101054).

## ДОТРИМАННЯ ЕТИЧНИХ НОРМ

Автори повідомляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

## ORCID

І.В. Шахов: [ID https://orcid.org/0009-0009-6378-9866](https://orcid.org/0009-0009-6378-9866)  
 О.І. Кокорев: [ID https://orcid.org/0000-0002-0429-0514](https://orcid.org/0000-0002-0429-0514)  
 Т.О. Ястреб: [ID https://orcid.org/0000-0003-3604-9028](https://orcid.org/0000-0003-3604-9028)  
 О.П. Дмитрієв: [ID https://orcid.org/0000-0003-2268-9104](https://orcid.org/0000-0003-2268-9104)  
 Ю.Є. Колупаєв: [ID https://orcid.org/0000-0001-7151-906X](https://orcid.org/0000-0001-7151-906X)

## СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Afshari R.T., Seyyedi S.M. 2020. Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid can alleviate the adverse effects of seed aging on fatty acids composition and heterotrophic seedling growth in medicinal pumpkin. *Industrial Crops and Products*, 153: 112605. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112605>
- Afzal I. 2023. Seed priming: what's next? *Seed Science and Technology*, 51(3): 379–405. <https://doi.org/10.15258/sst.2023.51.3.10>
- Alquraan N., Al-Omari M., Alaa A. 2021. Effect of ash carbon nanofibers on GABA shunt pathway in germinating seeds of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill., c.v. Rohaba.) under salt stress. *Turkish Journal of Botany*, 45(2): 124–139. <https://doi.org/10.3906/bot-2008-34>
- Ashraf M.A., Rasheed R., Hussain I., Iqbal M., Arif M.S. 2019. Chemical priming for multiple stress tolerance. In: *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Eds M. Hasanuzzaman, V. Fotopoulos. Springer: Singapore, pp. 385–415. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1\\_19](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_19)
- Babenko L.M., Kosakivska I.V., Romanenko K.O. 2022. Molecular mechanisms of N-acyl homoserine lactone signals perception by plants. *Cell Biology International*, 46(4): 523–534. <https://doi.org/10.1002/cbin.11749>
- Baranzelli J., Kringel D.H., Colussi R., Paiva F.F., Aranha B.C., de Miranda M.Z., da Rosa Zavareze E., Guerra D.A.R. 2018. Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination. *LWT — Food Science and Technology*, 90: 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.070>
- Bethke P.C., Gubler F., Jacobsen J.V., Jones R.L. 2004. Dormancy of *Arabidopsis* seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. *Planta*, 219: 847–855. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1282-x>
- Bhardwaj A., Sita K., Sehgal A., Bhandari K., Kumar S., Prasad P.V.V., Jha U., Kumar J., Siddique K.H.M., Nayyar H. 2021. Heat priming of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds and foliar treatment with  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA), confers protection to reproductive function and yield traits under high-temperature stress environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 5825. <https://doi.org/10.3390/ijms22115825>
- Bobo-García G., Davidov-Pardo G., Arroqui C., Virseda P., Marin-Arroyo M.R., Navarro M. 2015. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1): 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Bor M., Turkan I. 2019. Is there a room for GABA in ROS and RNS signalling? *Environmental and Experimental Botany*, 161: 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.015>
- Bouché N., Fait A., Bouchez D., Möller S.G., Fromm H. 2003. Mitochondrial succinic semialdehyde dehydrogenase of the  $\gamma$ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(11): 6843–6848. <https://doi.org/10.1073/pnas.1037532100>
- Deng B., Yang K., Zhang Y., Li Z. 2017. Can antioxidant's reactive oxygen species (ROS) scavenging capacity contribute to aged seed recovery? Contrasting effect of melatonin, ascorbate and glutathione on germination ability of aged maize seeds. *Free Radical Research*, 51(9–10): 765–771. <https://doi.org/10.1080/10715762.2017.1375099>
- Ellouzi H., Sghayar S., Abdelly C. 2017. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seed priming improves tolerance to salinity; drought and their combined effect more than mannitol in *Cakile maritima* when compared to *Eutrema salsugineum*. *Journal of Plant Physiology*, 210: 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.11.014>
- Galleschi L., Floris C. 1978. Metabolism of ageing seed: glutamic acid decarboxylase and succinic semialdehyde dehydrogenase activity of aged wheat embryos. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 173(2): 160–166. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30473-0](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30473-0)
- Gelaw T.A., Sanan-Mishra N. 2024. Molecular priming with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and proline triggers antioxidant enzyme signals in maize seedlings during drought stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1868(7): 130633. <https://doi.org/10.1016/j.bba-gen.2024.130633>
- Jiang X., Li H., Song X. 2016. Seed priming with melatonin effects on seed germination and seedling growth in maize under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany*, 48(4): 1345–1352.
- Jin X., Liu T., Xu J., Gao Z., Hu X. 2019. Exogenous GABA enhances muskmelon tolerance to salinity-alkalinity stress by regulating redox balance and chlorophyll biosynthesis. *BMC Plant Biology*, 19(1): 48. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1660-y>
- Karpets Y.V., Kolupaev Y.E., Yastreb T.O., Dmitriev O.P. 2012. Possible pathways of heat resistance induction in plant cells by exogenous nitrogen oxide. *Cytology & Genetics*, 46(6): 354–359. <https://doi.org/10.3103/S0095452712060059>
- Kepczynski J., Cembrowska-Lech D., Sznigir P. 2017. Interplay between nitric oxide, ethylene, and gibberellic acid regulating the release of *Amaranthus retroflexus* seed dormancy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39: article 254. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2550-2>
- Kim J.M., To T.K., Matsui A., Tanoi K., Kobayashi N.I., Matsuda F., Habu Y., Ogawa D., Sakamoto T., Matsunaga S., Bashir K., Rasheed S., Ando M., Takeda H., Kawaura K., Kusano M., Fukushima A., Takaho A.E., Kuromori T., Ishida J., Morosawa T., Tanaka M., Torii C., Takebayashi Y., Sakakibara H., Ogihara Y., Saito K., Shinozaki K., Devoto A.,

- Seki M. 2017. Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants. *Nature Plants*, 3: 17097. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.97>
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V. 2014. Reactive oxygen species and stress signaling in plants. *Ukrainian Biochemical Journal*, 86(4): 18–35. [Колупаєв Ю.Є., Карпец Ю.В. Активні форми кислорода і стресовий сигналінг у рослин. *Український біохімічний журнал*, 86(4): 18–35]. <https://doi.org/10.15407/ubj86.04.018>
- Kolupaev Yu.E., Horielova E.I., Yastreb T.O., Ryabchun N.I. 2020. State of antioxidant system in triticale seedlings at cold hardening of varieties of different frost resistance. *Cereal Research Communications*, 48(2): 165–171. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00022-3>
- Kolupaev Yu.E., Taraban D.A., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Pysarenko V.M., Sherstiuk E., Karpets Yu.V. 2024a. Effect of melatonin and hydropriming on germination of aged triticale and rye seeds. *Botanica*, 30(1): 1–13. <https://doi.org/10.35513/Botlit.2024.1.1>
- Kolupaev Yu.E., Shakhov I.V., Kokorev A.I., Dyachenko A.I., Dmitriev A.P. 2024b. The role of reactive oxygen species and calcium ions in implementing the stress-protective effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid on wheat seedlings under heat stress conditions. *Cytology & Genetics*, 58(2): 81–91. <https://doi.org/10.3103/S0095452724020063>
- Kolupaev Yu.E., Kokorev O.I., Shevchenko M.V., Marenych M.M., Kolomatska V.P. 2024c. Participation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in cell signaling processes and plant adaptation to abiotic stressors. *Studia Biologica*, 18(1): 125–154. [Колупаєв Ю.Є., Кокорев О.І., Шевченко М.В., Маренич М.М., Коломацька В.П. 2024с. Участь  $\gamma$ -аміномасляної кислоти у клітинних сигнальних процесах і в адаптації рослин до дії абіотичних стресорів. *Біологічні студії*, 18(1): 125–154]. <https://doi.org/10.30970/sbi.1801.752>
- Kosakivska I.V., Vasyuk V.A., Voytenko L.V., Shcherbatiuk M.M. 2022a. Effect of priming with gibberellic acid on acorn germination and growth of plants of *Quercus robur* and *Q. rubra* (Fagaceae). *Ukrainian Botanical Journal*, 79(4): 254–266. [Косаківська І.В., Васюк В.А., Войтенко Л.В., Щербатюк М.М. 2022а. Вплив праймування гіберелловою кислотою на проростання жолудів та ріст рослин *Quercus robur* і *Q. rubra* (Fagaceae). *Український ботанічний журнал*, 79(4): 254–266]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.04.254>
- Kosakivska I.V., Vasyuk V.A., Voytenko L.V., Shcherbatiuk M.M., Babenko L.M., Romanenko K.O. 2022b. Effects of exogenous bacterial quorum-sensing signal molecule/messenger N-hexanoyl-L-homoserine lactone (C6-HSL) on acorn germination and plant growth of *Quercus robur* and *Q. rubra* (Fagaceae). *Ukrainian Botanical Journal*, 79(5): 329–338. [Косаківська І.В., Васюк В.А., Войтенко Л.В., Щербатюк М.М., Бабенко Л.М., Романенко К.О. 2022б. Вплив екзогенної обробки водним розчином сигнальної молекули-медіатора бактеріального походження N-гексанойл-L-гомосеринлактону (C6-ГГЛ) на проростання жолудів і ріст рослин *Quercus robur* і *Q. rubra* (Fagaceae). *Український ботанічний журнал*, 79(5): 329–338]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.05.329>
- Kozeko L., Jurkonienė S., Jankovska-Bortkevič E. 2024. GABA as a regulator of plant growth and stress tolerance. In: *Regulation of adaptive responses in plants*. Eds T.O. Yastreb, Yu.E. Kolupaev, A.I. Yemets, Ya.B. Blume. New York: Nova Science Publishers, Inc., pp. 259–284. <https://doi.org/10.52305/TXQB2084>
- Kranmer I., Minibayeva F.V., Beckett R.P., Seal C.E. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, 188(3): 655–673. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x>
- Kumar A., Choudhary A., Kaur H., Javed M., Mehta S. 2021. Plant performance and defensive role of  $\gamma$ -gamma amino butyric acid under environmental stress. In: *Plant Performance Under Environmental Stress*. Ed. A. Husen. Cham: Springer, pp. 277–299. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-78521-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-78521-5_11)
- Kurek K., Plitta-Michalak B., Ratajczak E. 2019. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. *Plants (Basel)*, 8(6): 174. <https://doi.org/10.3390/plants8060174>
- Liu H., Able A.J., Able J.A. 2022. Priming crops for the future: rewiring stress memory. *Trends in Plant Science*, 27(7): 699–716. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.11.015>
- Mao C., Zhu Y., Cheng H., Yan H., Zhao L., Tang J., Ma X., Mao P. 2018. Nitric Oxide regulates seedling growth and mitochondrial responses in aged oat seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4): 1052. <https://doi.org/10.3390/ijms19041052>
- Martinek P., Skorpik M., Chrpova J., Schweiger J. 2013. Development of the new winter wheat variety Skorpion with blue grain. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 49: 90–94. <https://doi.org/10.17221/7/2013-CJGPB>
- Neill S.O., Gould K.S. 2003. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biology*, 30(8): 865. <https://doi.org/10.1071/fp03118>
- Nogués S., Baker N.R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany*, 51(348): 1309–1317. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.348.1309>
- Paparella S., Araújo S.S., Rossi G., Wijayasinghe M., Carbonera D., Balestrazzi A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*, 34(8): 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>
- Pirredda M., Fañanás Pueyo I., Oñate-Sánchez L., Mira S. 2024. Seed longevity and ageing: a review on physiological and genetic factors with an emphasis on hormonal regulation. *Plants*, 13(1): 41. <https://doi.org/10.3390/plants13010041>
- Probert R., Adams J., Coneybeer J., Crawford A., Hay F. 2007. Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. *Australian Journal of Botany*, 55: 326–335.



- Rajjou L., Lovigny Y., Groot S.P.C., Belghaz M., Job C., Job. D. 2008. Proteome-wide characterization of seed aging in *Arabidopsis*: a comparison between artificial and natural aging protocols. *Plant Physiology*, 148: 620–641. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123141>
- Sagisaka S. 1976. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiology*, 57: 308–309. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308>
- Sako K., Nguyen M.H., Seki M. 2020. Advances in chemical priming to enhance abiotic stresstolerance in plants. *Plant and Cell Physiology*, 61(12): 1995–2003. <https://doi.org/pcp/pcaa119>
- Samarah N.H., Al-Quraan N.A., Al-Wraikat B.S. 2023. Ultrasonic treatment to enhance seed germination and vigour of wheat (*Triticum durum*) in association with  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) shunt pathway. *Functional Plant Biology*, 50: 277–293. <https://doi.org/10.1071/FP22211>
- Scandalios J.G. 1997. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. 1<sup>st</sup> ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 890 pp.
- Sheng Y., Xiao H., Guo C., Wu H., Wang X. 2018. Effects of exogenous gamma-aminobutyric acid on  $\alpha$ -amylase activity in the aleurone of barley seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127: 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.030>
- Sheteiwiy M.S., Shao H., Qi W., Hamoud Y.A., Shaghaleh H., Khan N.U., Yang R., Tang B. 2019. GABA-alleviated oxidative injury induced by salinity, osmotic stress and their combination by regulating cellular and molecular signals in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22): 5709. <https://doi.org/10.3390/ijms20225709>
- Simlat M., Ptak A., Skrzypek E., Warcho M., Moraska E., Pirkowska E. 2018. Melatonin significantly influences seed germination and seedling growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PeerJ*, 6: e5009. <https://doi.org/10.7717/peerj.5009>
- Smirnoff N., Cumbes Q.J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28: 1057–1060. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80182-7](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80182-7)
- Vedenicheva N., Futorna O., Shcherbatyuk M., Kosakivska I. 2022. Effect of seed priming with zeatin on *Secale cereale* L. growth and cytokinins homeostasis under hyperthermia. *Journal of Crop Improvement*, 36(5): 656–674. <https://doi.org/10.1080/15427528.2021.2000909>
- Waqas M., Korres N.E., Khan M.D., Nizami Al.-S., Deeba F., Ali I., Hussain H. 2019. Advances in the concept and methods of seed priming. In: *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Eds M. Hasanuzzaman, V. Fotopoulos. Singapore: Springer, pp. 11–41. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_2)
- Xia F., Cheng H., Chen L., Zhu H., Mao P., Wang M. 2020. Influence of exogenous ascorbic acid and glutathione priming on mitochondrial structural and functional systems to alleviate aging damage in oat seeds. *BMC Plant Biology*, 20(1): 104. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2321-x>
- Xu B., Sai N., Gilliam M. 2021. The emerging role of GABA as a transport regulator and physiological signal. *Plant Physiology*, 187(4): 2005–2016. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab347>
- Zhou Z.-H., Wang Y., Ye X.-Y., Li Z.-G. 2018. Signaling molecule hydrogen sulfide improves seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under high temperature by inducing antioxidant system and osmolyte biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 9: 1288. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01288>
- Zhang K., Zhang Y., Sun J., Meng J., Tao J. 2021. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158: 475–485. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.031>
- Zhou M., Hassan M.J., Peng Y., Liu L., Liu W., Zhang Y., Li Z. 2021.  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) priming improves seed germination and seedling stress tolerance associated with enhanced antioxidant metabolism, DREB expression, and dehydrin accumulation in white clover under water stress. *Frontiers in Plant Science*, 12: 776939. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.776939>

**Increasing germination and antioxidant activity of aged wheat and triticale grains by priming with gamma-aminobutyric acid**

I.V. SHAKHOV<sup>1,2</sup>, A.I. KOKOREV<sup>1</sup>, T.O. YASTREB<sup>1</sup>, A.P. DMITRIEV<sup>3</sup>, Yu.E. KOLUPAEV<sup>1,2,4\*</sup>

<sup>1</sup> Yuriev Institute of Plant Production, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, 142 Heroiv Kharkova Ave., Kharkiv 61060, Ukraine

<sup>2</sup> State Biotechnological University, 44 Alchevskykh Str., Kharkiv 61022, Ukraine

<sup>3</sup> Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, 148 Akademika Zabolotnogo Str., Kyiv 03143, Ukraine

<sup>4</sup> Poltava State Agrarian University, 1/3 Skovorody Str., Poltava 36003, Ukraine

**Abstract.** During storage, elevated temperature and humidity cause accelerated aging and deterioration of seeds of various plant species, including important cultivated cereals, such as wheat and triticale. Germination of old seeds can be facilitated by seed priming with physiologically active substances that correct the pro/antioxidant balance and reduce the development of oxidative stress. Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a regulatory compound with direct and indirect antioxidant effects. However, its effect on the germination of grains of cereals with low germination has not been extensively studied. The objective of this study was to examine the impact of GABA priming on the germination of aged grains of winter bread wheat (*Triticum aestivum* 'Scorpion') and winter triticale ( $\times$ *Triticosecale* 'Raritet'). the extent of oxidative stress and the state of the antioxidant system in seedlings. The results indicated that a three-hour treatment of grains with GABA at the optimal concentration (1 mM) resulted in a significant (18–21%) increase in germination energy and seed germination rate, as well as an increase in the biomass of shoots and roots of seedlings of both species. Concomitantly, the influence of GABA resulted in a reduction in oxidative stress markers, including the generation of superoxide anion radicals, hydrogen peroxide content, and the product of lipid peroxidation malondialdehyde. In wheat seedlings, the total content of phenolic compounds increased, while in triticale seedlings, the content of anthocyanins increased almost twofold. In seedlings derived from GABA-primed grains, catalase activity was also significantly elevated in the absence of notable alterations in superoxide dismutase and peroxidase activity. It was postulated that GABA priming is a promising approach for enhancing the germination of cereal seeds with diminished sowing quality.

**Keywords:** antioxidant system, gamma-aminobutyric acid, oxidative stress, priming, seed aging, seed germination,  $\times$ *Triticosecale*, *Triticum aestivum*

