

Міністерство освіти і науки України  
Запорізький національний університет

Заснований  
у 1998 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого  
засобу масової інформації  
Серія КВ № 15436-4008 ПР  
22 червня 2009 р.

**Адреса редакції:**  
Україна, 69600,  
м. Запоріжжя, МСП-41,  
вул. Жуковського, 66

**Телефон**  
для довідок:  
(061) 228-75-99

**Вісник**  
**Запорізького національного**  
**університету**

**Біологічні науки**

**№ 1, 2018**

**Запоріжжя 2018**

Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки. – Запоріжжя: Запорізький національний університет, 2018. – № 1. – 100 с.

Затверджено постановою президії ВАК України від від 13.07.2015 № 747 як наукове фахове видання в галузі «Біологічні науки», у якому можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук.

Рекомендовано до друку та поширення через мережу Internet вченою радою Запорізького національного університету (протокол засідання № 11 від 29.05.2017 р.). **Офіційний сайт видання** <http://web.znu.edu.ua/herald/pages/1765.ukr.html>.

«Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки» включений до міжнародної наукометричної бази **Index Copernicus**.

Відповідно до ліцензійного договору № 85-02/2015 від 18.02.2015 р. «Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки» включений до міжнародної наукометричної бази **РІНЦ (Російський індекс наукового цитування)**.

### **РЕДАКЦІЙНА РАДА:**

- Головний редактор** – Омелянчик Л. О., доктор фармацевтичних наук, професор
- Заступник головного редактора** – Лях В. О., доктор біологічних наук, професор
- Відповідальні редактори** – Задорожня В. Ю., кандидат біологічних наук, доцент  
Лебедева Н. І., кандидат біологічних наук, доцент

### **Редакційна колегія:**

- Бессонова В. П. – доктор біологічних наук, професор, Дніпровський державний аграрно-економічний університет (Дніпро, Україна)
- Бовт В. Д. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Бражко О. А. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Гусейнов Маїр Алі огли – доктор біологічних наук, головний науковий співробітник, доцент, Інститут зоології НАН Азербайджану (Баку, Азербайджан)
- Домніч В. І. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Зачиняєв Я. В. – доктор хімічних наук, доктор біологічних наук, професор, Російський державний педагогічний університет ім. О.І. Герцена (Санкт-Петербург, Російська Федерація)
- Маліков М. В. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Мицик Л. П. – доктор біологічних наук, професор, Дніпровський національний університет Дніпро, Україна)
- Приходько О. Б. – доктор біологічних наук, доцент, Запорізький державний медичний університет (Запоріжжя, Україна)
- Сарабєєв В. Л. – кандидат біологічних наук, доцент, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Сибірна Н. О. – доктор біологічних наук, професор, Львівський національний університет ім. І. Франка (Львів, Україна)
- Рильський О. Ф. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Фролов О. К. – доктор медичних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
- Juan A. Balbuena – доктор біології, професор, Marine Zoology Unit Cavanilles Institute of Biodiversity and Evolutionary Biology University of Valencia (Valencia, Spain)

## ЗМІСТ

### **РОЗДІЛ I. ГЕНЕТИКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ТА ПРИКЛАДНА БОТАНІКА**

**ВЕДМЕДЕВА К. В., МАХОВА Т. В.**

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКА ВЫСОКОГО СОДЕРЖАНИЯ  
ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ В МАСЛЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА..... 7

**ПРИСТУПА І. В., КЛОЧКО В. О.**

МІНЛИВІСТЬ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК *HIBISCUS SYRIACUS L.* В УМОВАХ м. ЗАПОРІЖЖЯ ..... 15

### **РОЗДІЛ II. ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ ТВАРИН**

**АНАНЬЄВА Т. В., ФЕДОНЕНКО О. В., КЛИМЕНКО О. Ю.**

ОСОБЛИВОСТІ НАКОПИЧЕННЯ РАДІОНУКЛІДІВ  
БІЛИМ ТОВСТОЛОБИКОМ ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА ..... 23

**ИБРАГИМОВА Н. Э.**

ДИНАМИКА И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАРАЗИТОФАУНЫ  
РЕЧНОГО СУДАКА (*STIZOSTEDION LUCIOPERCA L.*) В СОВРЕМЕННЫХ  
ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ БАСЕЙНА РЕКИ КУРЫ В ПРЕДЕЛАХ АЗЕРБАЙДЖАНА . 29

### **РОЗДІЛ III. ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН**

**АМІНОВ Р. Ф.**

ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ НЕЛІНІЙНИХ  
САМИЦЬ ЩУРІВ, ЇХ ПРИПЛОДУ НА РАННІХ ЕТАПАХ  
ПОСТЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ НА ФОНІ ГРУДОВПЛИВУ..... 40

**АМІНОВ Р. Ф., ФРОЛОВ О. К., ФЕДОТОВ Є. Р.**

РЕАКЦІЯ БЛАСТНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ НЕЛІНІЙНИХ  
САМИЦЬ ЩУРІВ, ЇХ ПРИПЛОДУ НА РАННІХ ЕТАПАХ ПОСТЕМБРІОНАЛЬНОГО  
РОЗВИТКУ НА ФОНІ ВПЛИВУ СОЛЬОВОГО ЕКСТРАКТУ *HIRUDO VERBANA* ..... 46

**БОНГО Н. Б., НОВОСАД Н. В.**

ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ У ХВОРИХ  
НА ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ С, ЩО МАЮТЬ РІЗНУ ТРИВАЛІСТЬ ЗАХВОРЮВАННЯ..... 52

**ДІОРДІЦА Я. В., ГАРКОВИЧ О. Л., ЄЗІКОВ В. І.**

ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ  
ТА СИСТЕМИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ  
ЗА УМОВ ОКИСНОГО СТРЕСУ ПРИ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ АНТИОКСИДАНТІВ ..... 58

**РОМАНОВА М. Д., ЄЩЕНКО Ю. В., БОВТ В. Д., ДОБРОДУБ І. В., ЯКУБЕНКО Д. С.**

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕЯКУЛЯТУ ЧОЛОВІКІВ  
НА ФОНІ РІЗНОГО ГОРМОНАЛЬНОГО СТАНУ..... 63

**СТЕПАНОВА Н. В., СКОБА В. С., МІКАЄЛЯН Г. Р.,**

**ПРОКОПЧЕНКО О. Є., ПОТОЦЬКА О. І.**

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗУПИНКИ КРОВОТЕЧІ  
ЗА ДОПОМОГОЮ «СІЧ-ТУРНИКЕТА»..... 70

**РОЗДІЛ IV. ЕКОЛОГІЯ ТА ОХОРОНА ПРИРОДИ****ДОМБРОВСЬКИЙ К. О., ГВОЗДЯК П. І.***ПЕРИФІТОН ВОЛОКНИСТОГО НОСІЯ «ВІЯ» АЕРОТЕНКУ ОЧИСНИХ СПОРУД..... 76***КРАЙНЮКОВ О. М., КРИВИЦЬКА І. А.***УДОСКОНАЛЕННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ЗАБРУДНЕНOSTI  
ГРУНТІВ МЕТОДОМ БІОТЕСТУВАННЯ..... 83***РОЗДІЛ V. МІКРОБІОЛОГІЯ****КРУПЕЇЙ К. С.***МЕТОДИ ОЦІНКИ ІНТЕНСИВНОСТІ ПІГМЕНТОУТВОРЕННЯ  
МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ ІДЕНТИФІКАЦІЯ..... 90***ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ У «ВІСНИК ЗАПОРІЗЬКОГО  
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ. БІОЛОГІЧНІ НАУКИ»..... 97**

## CONTENCE

### **SECTION I. GENETICS, PLANT PHYSIOLOGY AND APPLIED BOTANY**

<b>VEDMEDEVA K. V., MACHOVA T. V.</b> <i>INHERITANCE OF THE SIGN OF THE HIGH CONTENT OF OLEIN ACID IN SUNFLOWER OIL.....</i>	7
<b>PRYSTUPA I. V., CLOCHKO V. O.</b> <i>VARIABILITY OF QUANTITATIVE TRAITS IN HIBISCUS SYRIACUS L. IN CONDITIONS OF ZAPORIZHZHYA.....</i>	15

### **SECTION II. ZOOLOGY AND ANIMAL ECOLOGY**

<b>ANANIEVA T. V., FEDONENKO O. V., KLYMENKO O. Yu.</b> <i>PECULIARITIES OF RADIONUCLIDE ACCUMULATION BY SILVER CARP IN THE ZAPORIZHZHIA RESERVOIR .....</i>	23
<b>IBRAHIMOVA N. E.</b> <i>DYNAMICS AND COMPARATIVE ANALYSIS OF PARASITOFUNA OF THE RIVER ZANDER (STIZOSTEDION LUCIOPERCA L.) IN THE MODERN ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF THE KURA RIVER BASIN IN THE AREAL OF AZERBAIJAN .....</i>	29

### **SECTION III. HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY**

<b>AMINOV R. F.</b> <i>PROLIFERATIVE ACTIVITY OF BLOOD LYMPHOCYTES OF NONLINEAR RATS, THEIR OFFSPRING AT THE EARLY STAGES OF POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT ON THE FOND .....</i>	40
<b>AMINOV R. F., FROLOV A. K., FEDOTOV Ye. R.</b> <i>REACTION OF BLOOD TRANSFORMATION OF BLOOD LYMPHOCYTES OF NONLINEAR FEMALES RATS, THEIR OFFSPRING AT THE EARLY STAGES OF POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT ON THE BASIS OF THE INFLUENCE OF SALINE EXTRACT HIRUDO VERBANA .....</i>	46
<b>BONGO N. B., NOVOSAD N. V.</b> <i>HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD IN PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS C UNDER DIFFERENT DISEASE DURATION.....</i>	52
<b>DIORDITSA Y., GARKOVICH A., YEZIKOV V.</b> <i>DYNAMICS OF ACTIVITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND SYSTEM OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE LIVER OF RATS IN CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS BY CORRECTION WITH ANTIOXIDANT COMPLEX.....</i>	58
<b>ROMANOVA M. D, ESHENKO Yu. V., BOVT V. D., DOBRODUB I. V., JAKUBENKO D. S.</b> <i>MORPHO-FUNCTIONAL FEATURES OF MEN'S EJACULATE ON THE BACKGROUND OF DIFFERENT HORMONAL STATE.....</i>	63
<b>STEPANOVA N. V., SKOBA V. S., MIKAELIAN G. R., PROKOPCHENKO E. E., POTOTSCKAYA H. I.</b> <i>STUDY OF THE EFFICIENCY OF THE BLEACHING STOCK WITH «SICH-TOURNICKET» ASSISTANCE.....</i>	70

**SECTION IV. ECOLOGY AND CONSERVANCY**

<b>DOMBROVSKYI K. O., GVOZDIAK P. I.</b>	
<i>PERIPHYTON OF FIBROUS CARRIER «VIYA» IN THE AERATION TREATMENT FACILITIES.....</i>	<b>76</b>
<b>KRAINIUKOV O. M., KRIVITSKA I. A.</b>	
<i>IMPROVING THE METHOD OF DEFINING STEP POLLUTION OF SOILS.....</i>	<b>83</b>

**SECTION V. MICROBIOLOGY**

<b>KRUPEY K. S.</b>	
<i>METHODS OF ESTIMATION OF INTENSITIVITY OF PIGMENT FORMATION OF MICROORGANISMS AND THEIR IDENTIFICATION.....</i>	<b>90</b>
<b>REQUIREMENTS FOR THE ARTICLES TO THE «VISNYK OF ZAPORIZHZHYA NATIONAL UNIVERSITY. BIOLOGICAL SCIENCES».....</b>	<b>97</b>

## РОЗДІЛ I. ГЕНЕТИКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ТА ПРИКЛАДНА БОТАНІКА

УДК 575.22: 633.854.78

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-01>

### НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКА ВЫСОКОГО СОДЕРЖАНИЯ ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ В МАСЛЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Ведмедева К. В., Махова Т. В.

*Институт масличных культур Национальной академии аграрных наук Украины  
69093, Украина, Запорожская обл., Запорожский р-н, пос. Солнечное, ул. Институтская, 1*

vedmedeva.katerina@gmail.com

Коллекция линий подсолнечника Института масличных культур НААН изучалась по составу масла с использованием метода газожидкостной хроматографии. Оцененная коллекция разделена на две группы линий с обычным содержанием кислот в масле (при 25-36 % олеиновой кислоты) и с повышенным (более 75 %) содержанием олеиновой кислоты. Промежуточные показатели содержания олеиновой кислоты в масле от 50 до 70 % встречались в коллекции не регулярно. Группа линий со стабильным высоким содержанием олеиновой кислоты имела интервал изменчивости 77,41-96,37 %. При изучении линий путем скрещивания обнаружено два разных по наследованию источника повышенного содержания олеиновой кислоты – ЛВО7 и Ех6/1.

Вывявлено, что высокое содержание олеиновой кислоты более 82 % у линии ЛВО7 обусловлено действием гомозиготного состояния одного гена. Гетерозигота по этому гену обуславливает повышенное содержание олеиновой кислоты в диапазоне 63-77 %, что свидетельствует о неполном доминировании аллеля, обуславливающего повышение содержания олеиновой кислоты.

Установлено наличие у линии Ех6/1 повышенного содержания олеиновой кислоты (89 %). При скрещивании линии Ех6/1 с линиями, имеющими обычный состав масла наблюдалось расщепление на фенотипы с обычным составом кислот и с повышенным содержанием олеиновой кислоты, но только до 77 %, что наблюдалось и в следующих поколениях беккроссов.

*Ключевые слова: подсолнечник, коллекция, линия, ген, жирнокислотный состав масла, олеиновая кислота.*

Ведмедева К. В., Махова Т. В. УСПАДКУВАННЯ ОЗНАКИ ВИСОКОГО ВМІСТУ ОЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ В ОЛІЇ СОНЯШНИКА / Інститут олійних культур Національної академії аграрних наук України; 69093, Україна, Запорізька обл., Запорізький р-н, с. Сонячне, вул. Інститутська, 1

Коллекція ліній соняшника Інституту олійних культур НААН вивчалася за складом олії з використанням методу газорідинної хроматографії. Оцінена колекція розділена на дві групи ліній з нормальним вмістом кислот в олії і з підвищеним вмістом олеїнової кислоти. Проміжні показники вмісту олеїнової кислоти в олії від 50 до 70 % зустрічалися в колекції не регулярно. Група ліній зі стабільним високим вмістом олеїнової кислоти мала довірчий інтервал мінливості 77,41-96,37 %. При вивченні ліній шляхом схрещування виявлено два різні за успадкуванням джерела підвищеного вмісту олеїнової кислоти – ЛВО7 і Ех6 / 1.

Високий вміст олеїнової кислоти більше 82 % в лінії ЛВО7 зумовлено дією гомозиготного стану одного гена. Гетерозигота з цього гена зумовлює підвищений вміст олеїнової кислоти в діапазоні 63-77 %, що свідчить про неповне домінування алеля, який зумовлює підвищення вмісту олеїнової кислоти.

Встановлено наявність у лінії Ех6 / 1 підвищеного вмісту олеїнової кислоти 89 %, при схрещуванні якої з лініями, які мають звичайний склад олії, спостерігалось розщеплення на фенотип зі звичайним складом кислот і з підвищеним вмістом олеїнової кислоти, але тільки до 77 %, що спостерігалось і в наступних поколіннях беккросів.

*Ключові слова: соняшник, колекція, лінія, ген, склад олії, олеїнова кислота.*

Vedmedeva K. V., Machova T. V. INHERITANCE OF THE SIGN OF THE HIGH CONTENT OF OLEIN ACID IN SUNFLOWER OIL / Institute of Oilseeds of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine; 69093, Ukraine, Zaporozhye region, Zaporozhye district, sett. Sunny, Institutskaya str., 1

The material for the study was the collection of sunflower lines of the Institute of Oilseeds of the National Academy of Sciences of Ukraine in the number of 180 lines. The collection of sunflower was studied for 15 years. Only lines were included in the study. The composition of the oil was determined by gas-liquid chromatography according to DSTU 30418-96. Determination of the oil composition of hybrids of the second generation was determined from the part of the achenes, namely the cotyledons for the purpose of further generation of the offspring of the following generations. Analysis of the composition of oil in self-pollinated plants of backcross progeny, hybrids of the first generation and baselines was carried out by means of an average oil from the whole basket. To carry out the analysis, only the seeds of isolated plants were used.

Samples with a high oleic acid content of more than 75 % (13 samples) and a low of less than 45 % (160 samples) are clearly identified in the collection. The latter are divided into at least 4 groups. Pairwise comparison of them using a single-factor analysis of variance indicates a significant difference in the mean.

Another part of the collection of 13 lines is characterized by a high content of oleic acid. These include the selection line of LBO7B, which is already used in commercial hybrids. All thirteen lines they have an oleic acid content above 77 % and are stable in composition of the oil. The average content of oleic acid in the oil of this group of lines is  $86.89 \pm 9.48$  %. The confidence interval is 77.41- 96.37 %. All of them are characterized by low coefficients of variation, which indicates the stability of the manifestation of the feature in different years of the study.

Analogues of selection lines with a high content of oleic acid have been created. The maternal line of the usual oil composition was crossed with paternal oil having a high oleic acid content of 80 %. The hybrid of the first generation was self-pollinated, and the pollen was used as a paternal component for crossing with a normal starting line. The process was repeated up to 7 generations. The composition of the oil in subsequent generations was tested in seed oil from the self-pollination of the plant from which the pollen was taken. All plants that had an intermediate oleic acid content of 55-75 %, in the subsequent generation showed a cleavage in the offspring. The work was carried out along eight lines. In each generation, not a large number of plants were evaluated, usually 6 in some cases up to 20.

As the donors of the high oleic acid content indicator, the lines of LBO7 and Ex6 / 1 were used. All crossings, in which the line Ex6 / 1 acted as a donor of high oleininity, showed splitting in the progeny into two classes, but plants with an oleic acid content of more than 76 % were never obtained. The initial line Ex6 / 1 had an average oleic acid content of 89.45 %. To the observed splittings, one can hypothesize the 1: 1 or 9: 7 splitting model. When summing all the descendants of self-pollination, 27:21 corresponds to the model completely 9: 7 ( $\chi_{20,05}^2 = 0,00 < \chi_{20,05}^2 (df=1) = 3,81$ ), and the 1: 1 model is reliable ( $\chi_{20,05}^2 = 0,75 < \chi_{20,05}^2 (df=1) = 3,81$ ). In this case, a low content of oleic acid predominates. The data obtained are not consistent with the generally accepted model of the dominant inheritance of the high-oleonicity characteristic. Perhaps this is due to the presence in the line Ex6 / 1 of other genes that affect the composition of the oil.

The splitting in the second generation of the combination VIR199  $\times$  LVO7 was studied. A large number of plants were obtained and analyzed for the composition of the oil. All the plants of the first generation fall into a narrow range of oleic acid content – above 60 %. Line IVO7 has oleic acid more than 80 %. The distribution of second generation offspring by the content of oleic acid is not smooth. There are five peaks. This fact corresponds to the maximum published number of genes. Dividing the second generation offspring into plants corresponding to the paternal component – from 83 % of oleic acid and above and to all the rest, we get 37: 109, which corresponds to the 1: 3 model ( $\chi_{20,05}^2 = 0,09$ ). Having counted the same for the second parent with a low oleic acid content, we get 112: 34 (3: 1  $\chi_{20,05}^2 = 0,23$ ).

We can draw a conclusion that our studies with the participation of the LOV7 line confirm the monogenic model. Further study of the generations from the crossing of the line of the IVO7 shows that the homozygous form for the isolated gene determines the content of oleic acid from 82 % and higher. All typical plants with an oleic acid content below 80 % have a cleavage in descendants for several classes.

Employee of the Breeding and Genetics Institute Solodenko A.E. when studying our lines LBO7 and VIR199 with the use of primers that make it possible to determine the presence of insertion in the delta-12 desaturase gene, two alleles were identified. DNA marker 900 bp identifies the high-oleic sunflower line LV07.

*Key words: sunflower, collection, line, gene, fattyacidcompositionofoil, oleicacid.*

## ВВЕДЕНИЕ

С тех пор как в 1976 году был создан первый высокоолеиновый сорт подсолнечника на основе мутанта, полученного К. И. Солдатовым, многие ученые обращались к теме изучения



состава масла подсолнечника и проводили опыты по установлению наследования признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле подсолнечника. Исследователями представлены данные о контроле повышенного содержания олеиновой кислоты в масле от одного до пяти генов с разными типами взаимодействия. Первые исследователи (Солдатов К.И. [1-3]) сообщали, что повышенное содержание олеиновой кислоты в масле подсолнечника определяется одним доминантным или кодоминантным геном OI. Потом был обнаружен ген, mпрецессивный аллель которого проявляет эпистатическое действие и понижает содержание олеиновой кислоты в масле при наличие доминантного аллеля гена OI [4]. Velasco L. установил наличие пяти доминантных генов [5]. Кроме этого, Демури Я. М. [6] показал неполную пенетрантность доминантной мутации высокоолеиновости гена OI за счет действия нестабильного супрессора, также наличие мозаичных семян, в которых геммула имела высокое содержание олеиновой кислоты, а семядоли – низкое.

Обобщая сказанное, в изучении наследования признака высокого содержания олеиновой кислоты в семени подсолнечника существует один общий вывод о наличии доминантного гена OI, обуславливающего его контроль [7].

В Институте масличных культур имеется коллекция подсолнечника, насчитывающая около 700 образцов. Из этой коллекции выделена специальная коллекция из 180 стабильных линий для изучения состава масла. Мы предположили наличие в этих образцах сходных моделей наследования и наличие тех же самых генов, о которых сообщали другие исследователи. Целью данной работы было изучение изменчивости признака состава масла и типа наследования повышенного содержания олеиновой кислоты.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Материалом для изучения послужила коллекция линий подсолнечника Института масличных культур НААН Украины в количестве 180 наименований. Состав масла определялся методом газожидкостной хроматографии по ДСТУ 30418-96 [8]. Состав масла гибридов второго поколения определялся с части семянки, а именно семядоли, с целью дальнейшего получения потомств следующих поколений. Анализ состава масла у самоопыленных растений беккроссных потомств, гибридов первого поколения и исходных линий осуществлялся по усредненному маслу со всей корзинки. Коллекция подсолнечника изучалась на протяжении 15 лет. Практически все линии выращивались не ежегодно, а один раз в 3-5 лет. Беккросные потомства получали на протяжении всего этого периода, их анализ был проведен в 2010-2016гг. Для проведения анализа использовались семена лишь изолированных растений. Растения выращивали на опытных полях Института масличных культур НААН Украины (г. Запорожье) по классической технологии в открытом грунте с использованием ручного посева, кастрации, опыления, изоляции и обмолота корзинок. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью расчета ошибок, коэффициента вариации и критерия Пирсона [9].

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

В начале 2000-х годов в ИМК выделилось целое направление – селекция высокоолеинового подсолнечника. Высокоолеиновый исходный селекционный материал создавался на основе мутанта с высоким содержанием олеиновой кислоты в жирнокислотном составе масла и селекционного материала на основе производственных гибридов и сортов. В начале создания в коллекцию были включены синтетические популяции – доноры, объединяющие признак высокоолеиновости с другими полезными признаками. Сегодня мы предпочитаем пополнять коллекцию линиями, поскольку линии поддерживать значительно проще, и они не расщепляются, в том числе и по составу масла. Сейчас в коллекции уже имеется ряд линий со стабильно высоким содержанием олеиновой кислоты – выше 75 %. В исследование были включены только линии.

За все годы изучения (начиная с 2005) наблюдалось разнообразие по составу масла в коллекции. В коллекции четко выделяются образцы с высоким содержанием олеиновой кислоты более 75 % (13 образцов) и с низким менее 45 % (160 образцов). Последние мы выделили в группу классических линий с обычным составом масла. Промежуточные показатели встречаются, но не повторяются ежегодно (7 образцов). Низкоолеиновых образцов в коллекции большинство. Представить такой объем изменчивости в статье сложно. Поэтому мы из общего массива коллекции отобрали 5 обычных по составу масла линий, которые выращены в одни и те же годы на протяжении 5 сезонов. Полученные данные усреднили и получили картину изменчивости состава масла классического подсолнечника. Результаты представлены в таблице 1.

Представленные данные указывают на достаточно хорошую повторяемость полученных результатов. Метод газожидкостной хроматографии обнаруживает в подсолнечном масле содержание пяти кислот. Его ошибка достигает 1 % и содержание линоленовой кислоты, обнаруженное в малом количестве, на наш взгляд, принимать во внимание не стоит. Проверка полученных данных на вариацию показала наличие высоких коэффициентов этого показателя для стеариновой и олеиновой кислот, которые составили от 12 до 39 %.

Таблица 1 – Изменчивость доли жирных кислот в обычном по составу масле подсолнечника за пять лет 2006, 2013-2016

Название линии	Номер регистрации НЦГРУ	Состав масла в % $\pm$ ошибка				
		Пальме-тиновая	Стеари-новая	Олеино-вая	Линоле-вая	Линоле-новая
I2K2003-1	UE0100597	6,7 $\pm$ 1,1	2,9 $\pm$ 1,1	36,2 $\pm$ 5,1	56,9 $\pm$ 1,9	0,3 $\pm$ 0,2
InK404	UE0100533	6,2 $\pm$ 0,4	1,8 $\pm$ 0,9	29,7 $\pm$ 9,6	62,3 $\pm$ 9,3	0,1 $\pm$ 0,1
LD4	UE0100566	6,6 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,7	24,7 $\pm$ 5,9	66,7 $\pm$ 5,8	0,1 $\pm$ 0,1
LD72/2	UE0100568	5,9 $\pm$ 1,5	2,1 $\pm$ 0,5	19,8 $\pm$ 5,8	71,6 $\pm$ 6,2	0,2 $\pm$ 0,1
КГ16	UE0100523	6,0 $\pm$ 1,2	1,6 $\pm$ 0,6	26,0 $\pm$ 5,6	66,4 $\pm$ 6,0	0,1 $\pm$ 0,1

По результатам изучения всех образцов коллекции обычных по составу масла линий подсолнечника, была определена встречаемость образцов определенного содержания олеиновой кислоты в процентах. На рис. 1 видно, что коллекционные образцы содержат до 50 % олеиновой кислоты. Можно так же выделить группы линий с соответствующим содержанием кислот. Возможно, они имеют какие-то генетические отличия, но наличие высоких коэффициентов вариации содержания олеиновой кислоты и недостаточное количество данных не позволяет утверждать о наличии генетических различий в материале этих группах. Хотя попарное сравнение многих из них с помощью однофакторного дисперсионного анализа указывает на достоверное отличие средних.

Вторая – меньшая часть коллекции изучаемых линий, состоящая из 13 образцов, характеризуется высоким содержанием олеиновой кислоты. Среди них селекционная линия с содержанием олеиновой кислоты более 80 % ЛВО7В, которая уже используется в коммерческих гибридах. Другие линии были получены с использованием беккроссирования линии ЛВО7 на другие линии или путем самоопыления исходного материала не известного происхождения. Содержание олеиновой кислоты в масле этих линий представлено в таблице 2.

Как видно, все они имеют содержание олеиновой кислоты выше 77 % и, что самое важное, не расщепляются в последующих поколениях. Среднее содержание олеиновой кислоты в масле этой группы линий  $86,89 \pm 9,48$  %. Доверительный интервал: 77,41-96,37 %. В дальнейшем мы рассматриваем эти показатели как интервал содержания олеиновой кислоты для высокоолеиновых линий. Кроме того, все эти образцы характеризуются достаточно низкими коэффициентами вариации, что свидетельствует о стабильности проявления признака в разные годы исследования.

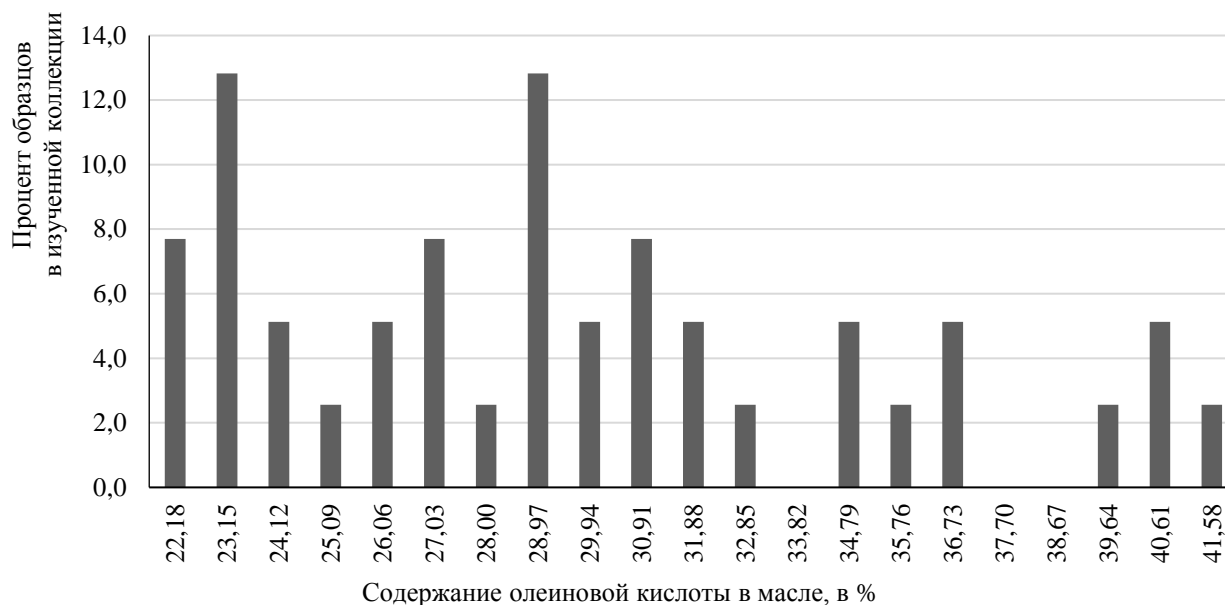


Рис. 1. Распределение линий подсолнечника по содержанию олеиновой кислоты в коллекции

В таблице 2 также представлены несколько линий неизвестного происхождения, полученных в селекционной работе из производственных гибридов. Сравнение их между собой не выявляет существенных отличий. Из представленных линий в скрещивание были вовлечены только две – исходная ЛВО7 и ветвистая высокоолеиновая Ех6/1.

Таблица 2 – Содержание олеиновой кислоты в масле высокоолеиновой линии ЛВО7 и ее производных, %

Тип создания	Название	Среднее	Ошибка	Вариация
Исходный источник олеиновости и линии на его основе	ЛВО7В	87,96	4,00	4,55
	ЛВО7В 6 часов мутагена	92,04	2,59	2,82
	ЛВО7/ 1020	89,85	1,09	1,21
	ЛВО7/ 786	78,25	4,19	5,35
	ЛВО7/ 1020	89,85	4,00	4,55
Линия полученная, в селекционной работе из производственных гибридов	Олив	93,22	1,09	1,21
	239	89,96	3,10	3,45
	215	87,71	7,99	9,10
	206	91,72	2,98	3,24
	237	90,01	2,92	3,24
	2232	83,09	10,74	12,93
	2233	92,14	1,69	1,84
	Ех6/1	89,45	2,07	2,32

При создании высокоолеиновых аналогов линий нами проведено беккроссирование. Материнскую линию обычную по составу масла скрещивали с отцовской высокоолеиновой. Гибрид первого поколения самоопыляли, а пыльцу использовали в качестве отцовского компонента для скрещивания с обычной по составу исходной линией.

Процесс повторяли в некоторых случаях до 7 поколений. Скрещивания проводили по несколько пар вслепую. Состав масла в последующих беккроссах проверяли в масле смеси

семян от самоопыления растения, с которого брали пыльцу. Все растения, имевшие промежуточное содержание олеиновой кислоты 55-75 %, в последующем поколении показали расщепление в потомстве. Работа была проведена по восьми линиям, из которых часть были восстановителями фертильности, как ЛВО7, а часть – закрепителями стерильности. В каждом поколении оценивалось не большое количество растений, обычно 6, в некоторых случаях до 20 (табл. 3).

Таблица 3 – Расщепление в потомствах от самоопыления беккроссов и гибридов

Комбинация скрещивания	Содержание олеиновой кислоты в масле семян одного растения от самоопыления	Число потомков от самоопыления следующего поколения с содержанием олеиновой кислоты		
		19-45 %	50-76 %	77-96 %
F2(Днестр x Eх6/1)	71,36	0	3	0
F2(КЛВ80/1x Eх6/1)	76,43	4	3	0
F2(ЗЛ22Б x Eх6/1)	68,72	4	3	0
F2(Зевс x ЛВО7)	67,04	0	3	0
F2(ДС201xЛВО7)	79,26	1	1	5
F2(Тиса x ЛВО7)	71,32	1	1	1
F2(Л13Б x ЛВО7)	-	14	3	6
F2(L-1988 x AR 17).	70,00	1	1	1
F2(ВИР199 x ЛВО7)	72,90	35	54	57
Днестр x (Днестр x Eх6/1)	71,72	5	1	0
ЗЛ22Бx (ЗЛ22БxEх6/1)	74,52	7	6	0
Зевс (Зевс x ЛВО7)	77,91	0	9	2
Днестр (Днестр x ЛВО7)	69,10	0	4	0
Тиса x (ЛВО7 x Тиса)	64,4	2	1	2
	68,52	1	1	1
ЗЛ22Бx [ЗЛ22Бx (ЗЛ22БxEх6/1)]	65,76	5	4	0
МД156 x [МД156 x (МД156 x ЛВО7)]	65,87	4	3	1
ЗЛ102Б x {ЗЛ102Б x [ЗЛ102Б x (ЗЛ102Б x ЛВО7В)]}	76,02	0	2	2
X712 x {X712 x [X712 x (X712 x Eх6/1)]}	67,18	2	1	0
(Сx908xЛВО-7) x Eх6/1	52,02	3	1	2

Полученные выборки каждая сама по себе не дают возможность проверки статистической достоверности по расщеплениям. Однако общий массив данных по разным скрещиваниям позволяет оценить наследуемость этого признака. Среди представленного материала в качестве доноров признака высокого содержания олеиновой кислоты использованы линии ЛВО7 и Eх6/1. Наиболее низкое исходное содержание олеиновой кислоты (52,02 %) наблюдалось у сложного гибрида (Сx908xЛВО-7)x Eх6/1. В эту комбинацию скрещивания были включены обе высокоолеиновые линии, и при самоопылении получено расщепление на три класса. Все остальные скрещивания, где в качестве донора высокоолеиновости выступала линия Eх6/1, показывали расщепление в потомстве. Однако ни разу не

было получено растений с содержанием олеиновой кислоты более 76 %, хотя сама исходная линия имела среднее содержание олеиновой кислоты 89,45 %. К наблюдаемым данным можно выдвинуть гипотезу модели расщепления 1 : 1 или 9 : 7. При суммировании всех потомков самоопылений соотношения 27 : 21 соответствует модели полностью 9 : 7 ( $\chi_{20,05}^2 = 0,00 < \chi_{20,05}^2 (df=1) = 3,81$ ), и достоверно модели 1:1 ( $\chi_{20,05}^2 = 0,75 < \chi_{20,05}^2 (df=1) = 3,81$ ).

В данном случае доминирует низкое содержание олеиновой кислоты. Полученные данные не согласуются с общепринятой моделью о доминантном наследовании признака высокоолеиновости. Возможно, это вызвано присутствием в этой линии других генов, влияющих на проявление этого признака.

По второму источнику высокоолеиновости были также рассмотрены все потомства со средним проявлением олеиновости от 64,4 до 79,26. В последующих поколениях наблюдалось расщепление на все три класса. В беккроссных потомствах все три класса в общей сложности встречались в равных пропорциях. В расщеплении же второго поколения от скрещивания Л13Б x ЛВО7 наблюдалось преобладание низкоолеиновых потомков.

В таблице 3 также представлены данные по расщеплению во втором поколении комбинации ВИР199 x ЛВО7. Поскольку было получено и проанализировано большое количество растений по составу масла, мы обработали также эти данные согласно методике генетических исследований полигенных признаков и получили распределения, представленные на рис 2.



Рис. 2. Содержание олеиновой кислоты в родительских линиях и потомствах от скрещивания ЛВО7 x ВИР199

На рис. 2 видно, что все растения первого поколения попадают в достаточно узкий диапазон высокоолеиновости – выше 60 % олеиновой кислоты. В то время как высокоолеиновый родитель имеет олеиновую кислоту на уровне выше 80 %. Но распределение во второго поколения наблюдается не плавное нормальное, как можно предполагать в случае полигенных признаков, а имеется наличие нескольких пиков. Число пиков соответствует 5 – максимально опубликованному числу генов. Если разделить потомство второго поколения на растения, соответствующие отцовскому высокоолеиновому компоненту – от 83 % олеиновой кислоты и выше и на все остальные, получим 37:109, что соответствует модели 1 : 3 ( $\chi_{20,05}^2 = 0,09$ ). Если проделать то же самое по низкоолеиновому родителю, получим 112 : 34 т.е. 3 : 1  $\chi_{20,05}^2 = 0,23$ .

Можем сделать вывод, что наши исследования с участием линии ЛВО7 подтверждают моногенную модель. В первом поколении наблюдается содержание олеиновой кислоты более близкое к высокоолеиновому родителю. Но все дальнейшие поколения от этих скрещиваний и беккроссы потомства показывают, что гомозиготная форма по выделенному гену обуславливает содержание олеиновой кислоты от 82 % и выше. Все типичные растения с содержанием олеиновой кислоты ниже 80 % в дальнейшем расщепляются на несколько классов. Согласно устным данным о происхождении линии ЛВО7, она произошла из мутантного источника, полученного в ВНИИМК Демуриным Я.М.

Сотрудником Селекционно-генетического института ННАН Солоденко А. Е. при исследовании наших линий ЛВО7 и ВИР199 с использованием праймеров, позволяющих определить наличие инсерции в гене дельта-12-десатуразы, выявлены два аллеля. ДНК-маркер 900 п.н. идентифицирует высокоолеиновую линию подсолнечника ЛВО7 [9].

В перспективе планируется проведение молекулярных исследований на популяции второго поколения. Полученный материал высокоолеиновых линий подсолнечника использован в селекционной работе. На его основе будут переданы новые высокоолеиновые линии подсолнечника в государственное сортоиспытание. Подобранный источник высокоолеиновости – линия Ех6/1 – будет включен в дальнейшие генетические исследования.

### ВЫВОДЫ

В коллекции линий подсолнечника Института масличных культур обнаружено два разных по наследованию источника повышенного содержания олеиновой кислоты ЛВО7 и Ех6/1.

Высокое содержание олеиновой кислоты более 82 % у линии ЛВО7 обусловлено действием гомозиготного состояния одного гена. Гетерозигота по этому гену обуславливает повышенное содержание олеиновой кислоты, в диапазоне 63-77 %, что свидетельствует о неполном доминировании аллеля обуславливающего повышение содержания олеиновой кислоты

Установлено наличие в линии Ех6/1 повышенного содержания олеиновой кислоты (89 %), при скрещивании которой с линиями, имеющими обычный состав масла, наблюдалось расщепление на фенотипы с обычным составом кислот и с повышенным содержанием олеиновой кислоты но только до 77 %, что наблюдалось и в следующих поколениях беккроссов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Солдатов К. И. Воскобойник Л. К., Харченко Л. Н. Высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец. *Бюл. НТИ по масличным культурам*. Краснодар. 1976. Вып. 3. С. 3-7.
2. Fick G. N. Inheritance of high oleic acid in the seed oil of sunflower. *National Sunflower Association (ed.), Proc. Sunflower Research Workshop, Bismark, ND, USA, February 1, 1984*. P. 18-19.
3. Urie A. L. Inheritance of very high oleic acid content in sunflower. *Proc. 6th Sunflower Res. Workshop. Natl. Sunflower Assooc., Bismarck, ND, USA, February 1, 1984*. P. 9-10.
4. Miller J. F., Zimmerman D. C., Vick B. A. Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil. *CropSci.* 1987. № 27. P.923-926.
5. Velasco L., Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J. M. Inheritance of oleic acid content under controlled environment. *Proc. 15th International Sunflower Conference. 12-15 June, Toulouse, France. Vol. 1. 2000*. P.31-36.
6. Demurin Y., Skoric D. Unstable expression of Ol gene for high oleic acid content in sunflower seeds. *Proc. 14th Int. Sunflower Conf., Beijing/Shenyang, China: 1996*. P.145-150.

7. Škorić D., Seiler G. J., Zhao L., Chao-Chien J., Miller J. F., Charlet L. D. Sunflower genetics and breeding. International Monography. Serbian Acad. of Sci. and Arts, Branch in Novi Sad. 2012. 520 p.
8. Межгосударственный стандарт ДСТУ 30418-96. Масла растительные. Метод определения жирно-кислотного состава Введ. 01.01.98. Минск: Издательство стандартов, 1996. 7 с.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия. М. : Высшая школа. 294 с.
10. Ведмедева К. В., Махова Т. В., Солоденко А. Е. Изучение признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле подсолнечника и идентификация высокоолеинового генотипа по маркеру гена дельта-12-десатуразы. *Conferința științifică internațională (Ediția a VI-a) «GENETICA, FIZIOLOGIA ȘI AMELIORAREA PLANTELOR» 9-10 octombrie 2017. SECȚIA II. Principii și procedee de majorare și cuantificare a variabilității ereditare.* Moldova. 2017. P.166-169.

УДК 635.648:575.2(477.64-2)

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-02>

## МІНЛИВІСТЬ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК *HIBISCUS SYRIACUS* L. В УМОВАХ м. ЗАПОРІЖЖЯ

Приступа І. В., Клочко В. О.

*Запорізький національний університет*

*69600, Україна, м. Запоріжжя, вул. Жуковського 66*

*artemisia.iryna@gmail.com*

Розглядається важливість розширення асортименту деревних рослин в озелененні. Одним із перспективних видів є гібіск сирійський. На підставі трирічних досліджень дається порівняльна характеристика морфометричних показників та декоративних якостей двох сортів гібіску *cv. Namabo* та *cv. Red Heart*, які використовуються в озелененні м. Запоріжжя. Проведена оцінка морфометричних показників і показників якості насіння двох сортів та їхніх гібридів.

*Ключові слова: гібіск сирійський, асортимент рослин, сорт, морфометричні показники, річний приріст, лабораторна схожість, гібридизація.*

Prystupa I. V., Clochko V. O. VARIABILITY OF QUANTITATIVE TRAITS IN *HIBISCUS SYRIACUS* L. IN CONDITIONS OF ZAPORIZHZHYA / Zaporizhzhya national university; 69600, Ukraine Zaporizhzhya, Zhukovsky str., 66

Proper choice of assortment helps to increase the quality of green plantings. Recently, the assortment of plants is constantly expanding at the expense of introducing species. Hibiscus Syrian - a deciduous bush or a small tree up to 5-6 m high. Today, a large number of varieties of Syrian hybrid are used in landscaping, which differ in many ways. In the culture of Hibiscus, the Syrian is used for solitary and group plantings, the creation of cropped and free hedges and alleys, or as an independent single decoration of flower arrangement. The Syrian Hibiscus in Ukraine was introduced in 1811. The potential of the hybrid is not yet fully disclosed.

The purpose of the study is to study the variability of the quantitative characteristics of the hybrids of two varieties Syrian Hibiscus, to assess their potential, to identify the best options for further use in landscaping and breeding work.

Subsequently, it is planned to study the quantitative and qualitative characteristics of the seed generation of varieties and hybrids that have been obtained from reciprocal crossings; assessment of the decorative character of promising varieties of Syrian hybrid.

Field experiments were carried out during 2015-17. As objects, 2 sorts of Syrian hybrid were used. A comparative study was conducted to evaluate the variability of quantitative characteristics. The following features were taken into account: annual growth, flower diameter, flowering intensity, morphometric parameters of seeds, weight of 1000 seed, number of seeds in a pod, laboratory similarity. The assessment of decorative was carried out on a 4-point scale. The intensity of flowering was evaluated on a 5-point scale and the number of flowers per model line was studied by the method of recording. The results obtained are

statistically processed. Seasonal rhythm and plant development were studied according to the phenological observation technique. For hybridization on the mother plant, the best flowers were selected, located on the illuminated side, in the phase of painted buds were castrated, using insulating bags.

The *cv. Hamabo* variety comes from Southeast Asia. Characterized by large flowers with pinkish-red veins on pale pink or almost white petals, each of which is decorated with a dark red spot in the center. The *cv. Red Heart* variety has large, spectacular white flowers with a bright red middle.

The Syrian Hibiscus is characterized by deep tranquility in the autumn-winter period. Vegetation begins late, usually in late April-early May. This biological feature allows plants to avoid dipping during inverse early spring frost. And since the flowers are laid on the shoots of the current year, you can regularly observe a full blossom. The flowering period is quite long (begins at the end of June, ends in early October). At the same time, the laying and ripening of the fruits is in progress.

The coefficient of variation of annual growth is very significant. It ranged from 24.4 % to 101.3 %. There is a significant variability of this feature within the range too.

The evaluation of flowering in balls showed that both varieties have a good and full flowering - on plants about 75-100 % of blossoming flowers, from the full. The decorative character of the experimental plants of both varieties is estimated by us at 3 points - decorative plants during the vegetative period. This trait was stable.

In the course of experimental work in 2015-2017, we carried out a reciprocal crossing of the two varieties of Syrian's Hibiscus: direct – *Hamabo* × *Red Heart* and the reverse – *Red Heart* × *Hamabo*. Hybrid seed, like the parental form, is a renal, with a thick shell and a characteristic puffiness, dark brown. Compared to the morphometric parameters of the parent seed, the width and weight of the *Red Heart* × *Hamabo* hybrid seed are more than the *Hamabo* varieties, but the weight is lower compared to the 'Red Heart'. Width and length did not differ.

The annual growth rate for the *cv. Red Heart* and *cv. Hamabo* varieties for the 2015-2017 period was the same, but there was a significant variation in this trait.

The *cv. Red Heart* varieties had a larger diameter than *cv. Hamabo*. Over the years, the diameter of the flowers has not changed. The intensity of flowering and decorative character of both studied varieties did not change over the years.

The number of seeds in one box in both varieties of Sibian hybrid is 25 in average. The seed of *cv. Red Heart* is more than the width and weight. The number of viable seeds in one box and the laboratory similarity in the varieties *cv. Red Heart* and *cv. Hamabo* not different. The seeds have high crop quality.

As a result of reciprocal crossings in 2015-2017, hybrid seeds were obtained from crossing *Hamabo* × *Red Heart*, and from crossing *Red Heart* × *Hamabo* – only in 2016. The width and weight of 1000 Seeds are larger in hybrids *Red Heart* × *Hamabo* compared to *Hamabo* × *Red Heart*. The number of viable seeds in the pod and laboratory similarity is high in all variants of experiments.

*Key words:* Syrian Hibiscus, range of plants, sort, morphometric parameters, annual increment, laboratory similarity, hybridization.

## ВСТУП

Дерева й великі чагарники є структуроутворювальними елементами озеленення населених місць [1]. Правильний підбір асортименту сприяє більш високій якості зелених насаджень. Останнім часом асортимент рослин постійно розширюється за рахунок інтродуцентів. Гібіск сирійський – листопадний кущ або невелике дерево до 5-6 м висотою [2]. Первісний ареал точно встановити неможливо, тому що ця рослина здавна широко культивується. Вірогідно, природний ареал – Мала Азія, Індія, Китай, тому існує багато синонімічних назв: гібіск сирійський, троянда сирійська, кетмія тощо (*Hibiscus syriacus* L. var. *chinensis* Lindl., *Althaea furtx* hort. ex Mill., *Ketmia syriaca* Scopoli, *Ketmia arborea* Moench., *Ketmia syrorum* Medic., *Hibiscus acerifolius* Salisb., *Hibiscus chinensis* Auct., *Hibiscus floridus* Salisb., *Hibiscus rhombifolius* Cavan.).

У сучасному місті формуються різноманітні екологічні умови. У великих промислових містах, до яких відноситься м. Запоріжжя, для рослин особливо складні умови, що зумовлюють особливості розвитку. У результаті в більшості рослин знижується декоративність. У міських насадженнях використовуваний видовий склад деревних інтродуцентів за кількістю видів перевищує аборигенні види. Це пояснюється тим, що в



умовах міського середовища вони виявляються більш декоративними, стійкими і довговічними, ніж місцеві види [3].

Сьогодні в озелененні використовується велика кількість сортів гібіску сирійського, які відрізняються за багатьма ознаками. В Україні культивуються такі форми й сорти: *cv. Alba*, *cv. Totus albus*, *cv. Rosea*, *cv. Grandiflorus superbus*, *cv. Ardens*, *cv. Blue Bird*, *cv. Red Heart*, *cv. Hamabo*, *cv. Coelestis*, *cv. Woodbridge* та ін. У культурі гібіск сирійський використовується для солітерних і групових саджань, створення стрижених та вільних живоплотів і алей, або ж як самостійну одиночну прикрасу квіткової композиції. Гібіск сирійський в Україну інтродукований в 1811 р. [4]. Потенціал гібіску повністю ще не розкритий.

Вивчення мінливості кількісних ознак та використання цих даних у подальшій селекції гібіску сирійського, а також при виборі сортового матеріалу, є актуальною проблемою. Тому що зовнішні умови постійно змінюються, та сама ознака виражається в різних величинах. Якісні ознаки мають більшу стійкість порівняно з кількісними. Унаслідок меншої стійкості та значної залежності від коливання зовнішніх умов розвиток кількісних ознак має безперервний характер. Основним критерієм мінливості кількісних ознак є середнє значення та коефіцієнт варіації.

Мета дослідження – вивчення мінливості кількісних ознак гібіску сирійського двох сортів, проведення оцінки їхнього потенціалу, виявлення найкращих варіантів для подальшого використання в озелененні та селекційній роботі.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Польові досліді проводили протягом 2015-17 рр. Як об'єкти були використані 2 сорти гібіску сирійського. Порівняльне вивчення проводили з метою оцінки мінливості кількісних ознак. Враховували такі ознаки: річний приріст, діаметр квітки, інтенсивність цвітіння, морфометричні показники насіння, масу 1000 шт. насінин, кількість насінин у коробочці, лабораторну схожість. Експериментальні дані обробляли за допомогою програми Microsoft Excel. Насіння пророщували в чашках Петрі по 20 штук в 3-х кратній повторності протягом 14 діб при нормальних умовах – вологості 70-80 % і температурі +22-25 °С. Морфометричні вимірювання проводилися за загальноприйнятими методиками [5]. Оцінку декоративності проводили за 4-бальною шкалою [6]. Інтенсивність цвітіння оцінювали за 5-бальною шкалою [7] та вивчали методом обліку кількість квіток на модельній гілці. Одержані результати статистично оброблені [8].

Сорт *cv. Hamabo* походить із Південно-Східної Азії. Характеризується великими квітками з рожево-червоними прожилками на блідо-рожевих або майже білих пелюстках, кожна з яких прикрашена темно-червоною плямою в центрі. Листки чергові, яйцевидні, 3-лопатові, зелені, розпускаються пізно. Кущ прямий, досягає 1,5-2 м, із віком трохи росте вшир. Цей сорт росте порівняно повільно. У ландшафтному дизайні можна використовувати для вуличних насаджень, парків, скверів, озеленення приватних садів.

Сорт *cv. Red Heart* має великі, ефектні білі квіти з яскравою червоною серединою. Листки чергові, яйцевидні, 3-лопатові, зелені, нагадують листки хризантеми, розпускаються пізно. Цей великий (до 3 м) і широкий (до 1,5 м) чагарник може стати центральним елементом композиції. Він не любить застою води, тому поливати його потрібно в міру. Відноситься до відносно зимостійких сортів і при мінімальній обрізці швидко відновлює втрачене за один сезон [9].

Сезонний ритм та розвиток рослин досліджували згідно з методикою фенологічних спостережень [10].

Для гібридизації на материнській рослині вибирали найкращі квітки, розташовані на освітленій стороні, у фазі забарвлених бутонів піддавали кастрації, використовували ізоляційні мішечки [11, 12].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Зміна сезонного ритму розвитку та його синхронізація з новими умовами середовища є важливою ознакою пристосування рослин до нових умов, що визначає успішність акліматизації [13]. Гібіск сирійський – інтродуцент, і для нього важливе проходження всіх фенологічних стадій. На сезонний розвиток рослин впливають внутрішні чинники, зумовлені історичним минулим та закладені у фенотипі рослин, а також і зовнішні – умови навколишнього середовища р-ону інтродукції. З особливостями сезонних ритмів росту і розвитку рослин пов'язане різноманіття за строками цвітіння та періодом загальної декоративності, що має важливе значення у фітодизайні [14, 15].

Аналіз росту та розвитку рослин по роках показав, що календарні строки й тривалість фенологічних фаз не співпадали. Тривалість міжфазних періодів вегетації значною мірою залежала від суми ефективних температур та опадів за ці періоди.

Батьківщиною *Hibiscus syriacus* є країни, у яких не буває зим із морозами. На південному сході України зовсім інші кліматичні умови – зима з низькими температурами і відлигами. Тому, як показують дослідження, у гібіску сирійського в цих умовах під дією низьких від'ємних температур відбувається обмерзання верхівки пагонів. Однак кущ має добру здатність до відростання пагонів [16]. Індекс обмерзання від 15,5 до 27,1. Гібіск сирійський погано переносить морози у молодому віці. Також виявлено, що рослини зі світлим забарвленням квітів (світло-рожеві, білі) сильніше ушкоджуються морозом. Більш стійкі генотипи – з пурпуровим забарвленням квітів [17].

Для гібіску сирійського характерний глибокий спокій у осінньо-зимовий період. Вегетація починається пізно, зазвичай наприкінці квітня-початку травня. Ця біологічна особливість дозволяє рослинам уникнути підмерзання під час зворотних ранньовесняних приморозків. Оскільки квіти закладаються на пагонах поточного року, можна регулярно спостерігати повноцінне цвітіння. Період цвітіння досить тривалий (починається в кінці червня, закінчується на початку жовтня). Одночасно йде зав'язування та дозрівання плодів. Набухання бруньок у гібіску сирійського починається в 1-й декаді березня, а закінчується в 2-й декаді квітня (табл. 1). Період спокою триває з 3-ї декади листопада по 1-й декаду березня. Фенофази обох досліджених сортів проходять в однакові строки.

Таблиця 1 – Ритми розвитку сортів *cv. Hamabo* та *cv. Red Heart* гібіску сирійського в умовах м. Запоріжжя

Фенофаза	Терміни проходження
набухання бруньок	1 декада березня – 2 декада квітня
розпускання бруньок	2 декада квітня – 3 декада квітня
поява листя	1 декада травня – 3 декада травня
бутонізація	1 декада червня – 2 декада червня
цвітіння	3 декада червня – 1 декада жовтня
дозрівання плодів	1 декада липня – 3 декада жовтня
листопад	3 декада жовтня – 2 декада листопада
період спокою	3 декада листопада – 1 декада березня

За нашими даними, річний приріст у 2015 році склав  $14,4 \pm 2,83$  см для сорту *cv. Hamabo* та  $21,2 \pm 7,16$  см для сорту *cv. Red Heart* (табл. 2). У 2016 році річний приріст склав  $15,5 \pm 1,26$  см для сорту *cv. Hamabo* і  $19,7 \pm 2,61$  см для сорту *cv. Red Heart*. У обох сортів річний приріст за роки досліджень був стабільним. Різниці по цьому показнику між сортами також немає.

Мінливість прийнято вважати незначною, якщо коефіцієнт варіації не перевищує 10 %, середньою, якщо цей показник вищий за 10 %, але менший за 20 %, і значною, якщо коефіцієнт варіації більший за 20 %. Коефіцієнт варіації річного приросту дуже значний. Він коливався від 24,4 % до 101,3 %. Спостерігається значна мінливість цієї ознаки в межах сорту.

Як видно з таблиці 2, діаметр квітки в обох сортів у середньому не змінювався за роками. Так, у сорту *cv. Hamabo* він дорівнював  $7,9 \pm 0,30$  см у 2015 році,  $8,0 \pm 0,23$  см у 2016 році та  $7,8 \pm 0,15$  см у 2017 році. Однак у сорту *cv. Red Heart* квітки мають більший діаметр у порівнянні з сортом *cv. Hamabo*. Коефіцієнт варіації цієї ознаки у 2016 та 2017 рр. був нижчим, ніж у 2015 році. Так, у сорту *cv. Hamabo* у 2015 році він був середнім та дорівнював 11,4 %, а у 2016-2017 рр. – незначним (8,6 % та 5,8 % відповідно).

Оцінка цвітіння в балах показала, що обидва сорти мають добре та повне цвітіння – на рослинах приблизно 75-100 % квіток, що розпустилися, від повного. Інтенсивність цвітіння у 2015 році склала в середньому 4,5 бала для сорту *cv. Hamabo* та 4,2 бала для сорту *cv. Red Heart* (табл. 2). У наступні роки цей показник не змінювався, різниця статистично недостовірна. Коефіцієнт варіації був значним, тільки для сорту *cv. Red Heart* у 2017 році він був середнім (14,3 %).

Декоративність дослідних рослин обох сортів оцінена нами в 3 бали – рослини декоративні протягом вегетативного періоду (табл. 2). Цей показник був стабільним.

Різні автори у своїх працях вказують, що насінневе розмноження посилює стійкість наступного покоління до несприятливих кліматичних умов регіону [16, 17]. Насіння гібіску сирійського ниркоподібне, з щільною оболонкою і характерним опушенням, темно-коричневе або сірувате. В одній коробочці його в середньому 25 штук. Як видно з таблиці 3, кількість життєздатного насіння у обох сортів висока. Ширина та маса 1000 штук насінин більше у сорту *cv. Red Heart*. Маса 1000 шт. насінин у цього сорту дорівнювала  $14,0 \pm 0,13$  г. Довжина насіння у обох сортів однакова (4,1-4,5 мм).

Деякі автори відмічають, що після дії морозу життєздатність насіння знижується, але схожість насіння залишається достатньо високою [16]. Наші дослідження показали, що лабораторна схожість однаково висока у обох сортів (табл. 3). Для сорту *cv. Hamabo* вона була 80,0 %, для сорту *cv. Red Heart* – 75,1 %.

Під час експериментальної роботи у 2015-2017 рр. ми проводили реципрокне схрещування 2-х сортів гібіску сирійського: пряме – *Hamabo* × *Red Heart* і зворотне – *Red Heart* × *Hamabo*. У результаті проведеного експерименту в 2015 та 2017 роках було отримане гібридне насіння тільки в результаті прямого схрещування. А при зворотному схрещуванні плоди не зав'язувались. На це, можливо, вплинули такі фактори: 1) індивідуальні особливості рослини, 2) екологічні фактори (кліматичні та антропогенні).

Гібридне насіння, як і батьківська форма, ниркоподібне, з щільною оболонкою і характерним опушенням, темно-коричневе. Як видно з таблиці 4, кількість життєздатного гібридного насіння висока у всіх варіантах дослідів. Так, для *Hamabo* × *Red Heart* у 2015 році вона склала 84,4 %. Цей показник не змінювався за роки досліджень.

Дуже важливим показником є вага 1000 штук насінин, оскільки він дозволяє оцінити ступінь забезпеченості зародка поживними речовинами. Ширина та маса 1000 штук насінин більші у гібридів *Red Heart* × *Hamabo*, ніж у гібридів *Hamabo* × *Red Heart*. Різниця за довжиною насіння немає. Якщо порівнювати з морфометричними показниками батьківського насіння, то ширина та маса гібридного насіння *Red Heart* × *Hamabo* більші ніж показники сорту *cv. Hamabo*, але маса менша порівняно з сортом *cv. Red Heart*. Ширина та довжина не відрізнялися.

Таблиця 2 – Оцінка декоративних якостей двох сортів гібіску сирійського

Сорт	Рік	Річний приріст, см	C <sub>v</sub> , %	t <sub>d</sub>	Діаметр квітки, см	C <sub>v</sub> , %	t <sub>d</sub>	Інтенсивність цвітіння, бал	C <sub>v</sub> , %	t <sub>d</sub>	Декоративність, бал
<i>Hamabo</i>	2015	14,4 ± 2,83	59,0		7,9 ± 0,30	11,4		4,5 ± 0,42	28,0		Д <sub>3</sub>
	2016	15,5 ± 1,26	24,4	0,4*	8,0 ± 0,23	8,6	0,3*	4,6 ± 0,51	33,3	0,2*	Д <sub>3</sub>
	2017	17,3 ± 3,53	61,2	0,6*	7,8 ± 0,15	5,8	0,3*	4,2 ± 0,43	30,7	0,6*	Д <sub>3</sub>
<i>Red Heart</i>	2015	21,2 ± 7,16	101,3		9,9 ± 0,74	22,4		4,2 ± 0,61	43,6		Д <sub>3</sub>
	2016	19,7 ± 2,61	39,7	0,2 <sup>#</sup>	10,2 ± 0,60	17,6	0,3 <sup>#</sup>	4,3 ± 0,48	33,5	0,1 <sup>#</sup>	Д <sub>3</sub>
	2017	22,5 ± 4,72	62,9	0,2 <sup>#</sup>	9,7 ± 0,54	16,7	0,2 <sup>#</sup>	4,4 ± 0,21	14,3	0,3 <sup>#</sup>	Д <sub>3</sub>

Примітка: \*порівнювали дані для сорту *cv. Hamabo* у різні роки; <sup>#</sup> порівнювали дані для сорту *cv. Red Heart* у різні роки.

Таблиця 3 – Морфометричні показники та схожість насіння двох сортів гібіску сирійського (2015 р.)

Сорт	Ширина, мм	t <sub>d</sub>	Довжина, мм	t <sub>d</sub>	Маса 1000 шт., г	t <sub>d</sub>	Кількість життєздатного насіння в коробочці, %	t <sub>d</sub>	Лабораторна схожість, %	t <sub>d</sub>
<i>Hamabo</i>	3,2 ± 0,12		4,1 ± 0,17		10,5 ± 0,22		89,5 ± 3,63		80,0 ± 6,20	
<i>Red Heart</i>	3,8 ± 0,09	4,3	4,5 ± 0,16	1,7	14,0 ± 0,13	15,9	85,4 ± 5,12	0,7	75,1 ± 8,10	0,5

Таблиця 4 – Морфометричні показники та схожість гібридного насіння

Гібрид	Рік	Ширина, мм	t <sub>d</sub>	Довжина, мм	t <sub>d</sub>	Маса 1000 шт., г	t <sub>d</sub>	Кількість життєздатного насіння в коробочці, %	t <sub>d</sub>	Лабораторна схожість, %	t <sub>d</sub>
<i>Hamabo</i> × <i>Red Heart</i>	2015	3,4 ± 0,14		4,2 ± 0,15		11,3 ± 0,56		84,4 ± 4,63		76,7 ± 1,58	
	2016	3,4 ± 0,15	0,0 <sup>#</sup>	3,9 ± 0,17	1,4 <sup>#</sup>	11,6 ± 0,02	0,5 <sup>#</sup>	90,1 ± 1,35	1,2 <sup>#</sup>	80,0 ± 3,10	1,0 <sup>#</sup>
	2017	3,5 ± 0,16	0,5 <sup>#</sup>	3,8 ± 0,22	1,6 <sup>#</sup>	11,1 ± 0,03	0,5 <sup>#</sup>	90,3 ± 0,77	1,3 <sup>#</sup>	75,0 ± 3,00	0,5 <sup>#</sup>
<i>Red Heart</i> × <i>Hamabo</i> '	2016	3,8 ± 0,12	2,4*	4,4 ± 0,15	1,0*	13,1 ± 0,04	3,3*	82,1 ± 1,83	0,5*	68,4 ± 2,52	2,8*

Примітка: \*між показниками *Hamabo* × *Red Heart* та *Red Heart* × *Hamabo* у 2016 році; <sup>#</sup> між показниками *Hamabo* × *Red Heart* у різні роки. P < 0,05

Лабораторна схожість гібридного насіння висока, не відрізнялась від показників батьківських форм. Але у *Red Heart* × *Namabo* вона була нижче, ніж у *Namabo* × *Red Heart*.

У подальшому планується вивчення кількісних та якісних ознак, насінневого покоління сортів та гібридів, які були отримані від реципрокного схрещування; оцінка декоративності перспективних сортів гібіску сирійського.

### ВИСНОВКИ

1. Річний приріст у сортів *cv. Red Heart* та *cv. Namabo* за період 2015-2017 років був однаковий, але спостерігалась значна варіативність цієї ознаки.
2. У сорту *cv. Red Heart* квітки мали більший діаметр у порівнянні з сортом *cv. Namabo*. По роках діаметр квіток не змінювався. Інтенсивність цвітіння та декоративність обох досліджених сортів не змінювалася по роках.
3. Кількість насінин в одній коробочці у обох сортів гібіску сирійського в середньому дорівнює 25 штук. У сорту *cv. Red Heart* насіння більше за шириною та масою. Кількість життєздатного насіння в одній коробочці та лабораторна схожість у сортів *cv. Red Heart* та *cv. Namabo* не відрізняється. Насіння має високі посівні якості.
4. У результаті реципрокних схрещувань у 2015-2017 рр. було отримане гібридне насіння від схрещування *Namabo* × *Red Heart*, а від схрещування *Red Heart* × *Namabo* – тільки в 2016 році. Ширина та маса 1000 штук насінин більша у гібридів *Red Heart* × *Namabo* у порівнянні з *Namabo* × *Red Heart*. Кількість життєздатного насіння в коробочці та лабораторна схожість високі у всіх варіантах дослідів.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Рековец П. Декоративные деревья и крупные кустарники в ландшафтном дизайне. *Нескучный сад*. 2013. №1. С. 33.
2. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Довідник: у 2 ч. / за ред. М. А. Кохна. Київ : Фітосоціоцентр, 2002. Ч. 1. 448 с.
3. Бученков И. Э., Нилова О. В. Декоративная дендрология: краткий курс лекций. Минск: ПолесГУ, 2012. Ч. 1. 96 с.
4. Деревья и кустарники декоративных городских насаждений Полесья и Лесостепи УССР / ред. Н. А. Кохно. Киев: Наук. думка, 1980. 236 с.
5. Клейн Р. М., Клейн Д. Т. Методы исследования растений. Москва: Колос, 1974. 528 с.
6. Котелова Н., Гречко Н. Оценка декоративности. *Цветоводство*. 1969. № 10. С. 11-12.
7. Головач А. Г. Деревья, кустарники и лианы Ботанического сада БИН АН СССР. Ленинград : Наука, 1980. 188 с.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия. Москва : Высш. шк., 1990. 352 с.
9. Венгловский А. Гибискус – Ван Гог современного сада. *Нескучный сад*. 2014. № 6. С. 26-29.
10. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР. Москва : Изд-во АН СССР, 1990. 28 с.
11. Тулинцев В. Г. Цветоводство с основами селекции и семеноводства. Москва : Стройиздат, 1977. 288 с.
12. Ryan N., Mara F., Jason D. Relative Fertility and Ploidy Levels of Selected Rose of Sharon Cultivars. 2013. С. 233. URL: <http://www.oregon.gov/ODA/shared/Documents/Publications/NurseryChristmasTree/NurseryResearchPloidy.pdf> (дата звернення: 20.10.2017).
13. Булах П. Є. Теоретичні основи оптимізації інтродукційного процесу: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.05. Київ, 2007. 31 с.

14. Лапин П. И. Значение исследований ритмики жизнедеятельности растений для интродукции. *Бюл. ГБС АН СССР*. 1974. Вып. 91. С. 3-8.
15. Трулевич Н. В. Эколого-фитоценотические основы интродукции растений. Москва : Наука, 1991. 216 с.
16. Фендюр Л. М., Дубовая Е. В. Морозоустойчивость *Hibiscus syriacus* L. как показатель интродукции. *Запорожский медицинский журнал*. 2008. № 2. С. 19-20.
17. Тыщенко Е. Л., Ненько Н. И., Киселева Г. К. Перспективные сорта гибискуса сирийского для создания устойчивых агроценозов в ландшафтном строительстве на Юге России. *Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ*. 2014. Т. 5. С. 80-85.

## РОЗДІЛ II. ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ ТВАРИН

УДК 574.24:57.043

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-03>

### ОСОБЛИВОСТІ НАКОПИЧЕННЯ РАДІОНУКЛІДІВ БІЛИМ ТОВСТОЛОБИКОМ ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА

Ананьєва Т. В., Федоненко О. В., Клименко О. Ю.

*Дніпровський національний університет ім. Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49050, Україна*

hydro-dnu@ukr.net

Досліджено вміст радіонуклідів природного ( $^{232}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{40}\text{K}$ ) та штучного походження ( $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ) у рибах виду білий товстолобик Запорізького водосховища. Виявлено, що середній вміст радіонуклідів чорнобильського сліду  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  складав від 10 до 12 Бк/кг та від 2,5 до 6 Бк/кг відповідно. Рівні вмісту радіонуклідів нижчі за діючі в Україні допустимі рівні для рибної продукції. Сезонна динаміка вмісту радіонуклідів у тканинах білого товстолобика показала значне переважання концентрацій  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  навесні у порівнянні з осіннім періодом. За коефіцієнтами накопичення відносно води у м'язовій тканині білого товстолобика встановлена послідовність акумуляції радіонуклідів за вибуванням:  $^{137}\text{Cs} > ^{226}\text{Ra} > ^{232}\text{Th} > ^{90}\text{Sr} > ^{40}\text{K}$ . Отримані дані свідчать, що рибна продукція білого товстолобика є придатною для споживання людиною, а радіоекологічна ситуація в Запорізькому водосховищі – задовільна.

*Ключові слова: радіонукліди, питома активність, коефіцієнт накопичення, білий товстолобик, Запорізьке водосховище.*

Ananieva T. V., Fedonenko O. V., Klymenko O. Yu. PECULIARITIES OF RADIONUCLIDE ACCUMULATION BY SILVER CARP IN THE ZAPORIZHZHIA RESERVOIR / Oles Honchar Dnipro National University, 49050, Ukraine, Dnipro, Gagarin Ave., 72.

The purpose of the work was to determine the content levels and the features of accumulation of the main dose-forming radionuclides in the tissues of the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) in the Zaporizke Reservoir. The fish were selected at the lower part of the Zaporizke Reservoir (near the village of Viyskove) during spring and autumn period of 2016-2017. The fish was catch with shuttered nets with cells of 50 – 150 mm. Preparation of samples for radiospectrometric measurements consisted of separating tissues, chopping and drying at a temperature of 105°C in a dry-fryer box. Specific activity of radionuclides in prepared samples was determined using the scintillation spectrometer of gamma radiation energy SEG-001 «ACP-C» and the beta-spectrometer SEB-01-150. Specific radioactivity of radionuclides is given in Bequerels per kilogram (Bq/kg) of wet, natural weight. The muscle tissue, bone, scales, liver and gills of fish were selected for the assay. Statistical analysis of the research results was carried out by generally accepted methods of variation statistics for a small sample using the Excel 2007 software package. According to our research, the average contents of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$  in the silver carp tissues were significantly lower than the hygienic concentrations in Ukraine and were follows:  $^{137}\text{Cs}$  – from 10 to 11,5 Bq/kg,  $^{90}\text{Sr}$  – from 2,5 to 6 Bq/kg. The muscle and bone tissue had the greatest accumulation capacity for  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$ , and scales and liver of fish had the smallest one. The gill apparatus and the external surfaces of the fish body had low permeability to  $^{137}\text{Cs}$ . By the ability to  $^{90}\text{Sr}$  accumulation, the silver carp occupies an intermediate position between the benthophages and the ichthyophages. Relatively high levels of radioactive isotopes of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$  in fish meal and gills indicate an effective self-cleaning mechanism from incorporated radiation. Since the contents of radionuclides were low in water, the fish absorbed them mainly from the feed, but they were isolated by the covering tissues. In the spring, the indices of the artificial radionuclide contents in the silver carp significantly exceeded the autumn values. The distribution of  $^{137}\text{Cs}$  in the body of the silver carp occurs as follows: at spring – liver > gills > bones > scales > muscles; at autumn – bones > muscles > gills > scales > liver. For  $^{90}\text{Sr}$ , the following data series were observed: at spring – gills > bones > scales > liver > muscles; at autumn – bones > muscles > gills > scales > liver. The results of studies on the natural radionuclide contents of  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  and  $^{40}\text{K}$  in silver carp tissues showed that  $^{232}\text{Th}$  was most often found in bones and muscles of fish above 59 Bq/kg, the content of  $^{226}\text{Ra}$  was the highest in bone tissue – from 50 to 70 Bq/kg. The content of  $^{40}\text{K}$  was found at a level of 60–98 Bq/kg. The smallest average content of  $^{40}\text{K}$  was recorded in the muscle tissue of fish, the largest in the bone tissue. The natural isotope of potassium is fairly common, especially in the Dnipro region, which has a high radioactive background, and therefore its content in the fish of the Zaporizke Reservoir reaches high values. Specific radioactivity of natural potassium-40 was quite

high, and its content in any living cells is always very significant, since it belongs to macroelements. Spring values of  $^{232}\text{Th}$  in muscle tissue of fish were higher than at the autumn. In bone tissue, the content of  $^{232}\text{Th}$  increased at autumn. The content of  $^{40}\text{K}$  decreased by the fall, and the content of  $^{226}\text{Ra}$  remained at a constant level. At the spring, the arrival of radionuclides occurs due to surface runoff from adjacent areas and the outflow of radioactive substances from the upper reservoirs of the Dnipro cascade. Climatic conditions of the reservoir affect the withdrawal of radionuclides. Decrease of water temperature in the autumn period to  $5^{\circ}\text{C}$  inhibits the process of radionuclides removal and increases the half-life by 2–3 times. By the calculated coefficients of radionuclide accumulation relatively to water  $^{137}\text{Cs}$  was accumulated 3 times more intensively than  $^{90}\text{Sr}$  in muscle tissue of the silver carp. Radionuclides of  $^{137}\text{Cs}$  are the main factors of the internal dose of irradiation with artificial radionuclides for the silver carp of the Zaporizke Reservoir. The accumulation rate in the muscle tissue of the silver carp could accommodate the radioisotopes under study in the following sequence:  $^{137}\text{Cs} > ^{226}\text{Ra} > ^{232}\text{Th} > ^{90}\text{Sr} > ^{40}\text{K}$ . Radionuclides of  $^{40}\text{K}$  were found in fish at high concentrations, but accumulate from water much less than  $^{137}\text{Cs}$ , which is a chemical analogue of potassium. The results of the study of the radionuclide contents and their distribution in the tissues of the silver carp indicated that the largest amounts of radioactive substances were contained in both muscle and bone tissues, that can be explained by a slower exchange and rate of recovery of these tissues compared with liver parenchyma and gill epithelium. The revealed patterns of accumulation of natural and artificial radionuclides in the tissues of the silver carp of the Zaporizke Reservoir provide the basis for prediction and modeling of migration processes and radioactive contamination of the water ecosystem for further monitoring observations.

*Key words: radionuclides, specific activity, coefficient of accumulation, silver carp, the Zaporizke Reservoir.*

## ВСТУП

Водні екосистеми є кінцевою ланкою міграції радіонуклідів. Континентальні водойми можуть відігравати роль транспортних магістралей для перенесення радіонуклідів із забруднених до чистих водойм, а також резервуарів для накопичення радіонуклідів. Депонування та переведення радіонуклідів гідробіонтами з розчинного у зв'язаний стан призводить до очищення води, але в гідробіонтах відбувається накопичення радіоактивних речовин. Риба є кінцевою ланкою трофічного ланцюга та основним джерелом надходження радіонуклідів з водойми до організму людини. У зв'язку з цим процеси акумуляції радіоактивних елементів в організмі риб потребують особливої уваги й повинні перебували під постійним радіаційно-гігієнічним контролем [1-3].

Відомо, що кожен вид риб накопичує радіонукліди залежно від екологічної групи, до якої він належить. Білий товстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) – прісноводна риба родини коропових, один з основних промислових видів у Запорізькому водосховищі. Кормовою базою білого товстолобика є фітопланктон, який займає значні площі та накопичує радіонукліди у великій кількості. За добу риба може поглинути кількість їжі, що становить до 45 % маси її тіла. Інтродукція товстолобиків до водойм поліпшує гідрохімічний режим, покращує санітарний стан, змінює хід продукційних процесів, прискорює колообіг речовин й енергії в екосистемі. При цьому вселення товстолобиків до водойм є одним з аспектів ведення рибництва та дозволяє отримувати якісну цінну рибну продукцію [4].

У зв'язку з викладеним метою роботи з визначення рівнів вмісту та закономірностей накопичення основних дозоформувальних радіонуклідів у тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Рибу відбирали у нижній частині Запорізького водосховища (біля с. Військове) під час весняних та осінніх ловів протягом 2016-2017 рр. ставними сітками з вічками від 50 до 150 мм. Підготовка проб до радіоспектрометричних вимірювань полягала у відокремленні тканин, їх подрібненні та висушуванні за температури  $105^{\circ}\text{C}$  у сухо-жаровій шафі. Питому активність радіонуклідів у підготовлених зразках визначали за допомогою сцинтиляційного спектрометра енергії гамма-випромінювання СЕГ-001 «АКП-С» та спектрометра бета-випромінювання СЕБ-01-150. Питома радіоактивність радіонуклідів наведена в бекерелях на кілограм (Бк/кг) сирової, природної ваги. Для досліджень відбирали м'язову тканину, кістки, луску, печінку та збра риб. Статистична обробка результатів досліджень проводилася загальноприйнятими методами варіаційної статистики для малої вибірки з використанням програмного пакету Excel 2007.



## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Радіоекологічна ситуація Запорізького водосховища визначається особливостями природного радіаційного фону та впливом хронічних джерел радіонуклідного забруднення [5, 6].

У Придніпровському регіоні існує постійне джерело техногенно-підсилених радіонуклідів, утворене за рахунок функціонування підприємств первинного ядерного циклу. Зокрема, в басейні р. Коноплянка розміщені сховища радіоактивних відходів після переробки уранової сировини м. Кам'янське. Вони перебувають у водонасиченому стані, за рахунок чого забруднюють підземні води та під час підтоплення і повеней потрапляють до Запорізького водосховища.

Після аварії на Чорнобильській АЕС Запорізьке водосховище, входячи до каскаду дніпровських водосховищ, стало утримувачем радіонуклідів штучного походження. На теперішній час рівень забруднення води найбільш небезпечними штучними радіонуклідами  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  значно знизився за рахунок стоку та природного розпаду, але їх значний вміст ще виявляють у донних відкладеннях [7-10].

За результатами наших досліджень середні показники вмісту  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  у тканинах білого товстолобика були значно нижчими за встановлені в Україні гігієнічні концентрації та складали для  $^{137}\text{Cs}$  – від 10 до 11,5 Бк/кг, для  $^{90}\text{Sr}$  – від 2,5 до 6 Бк /кг (рис. 1.)

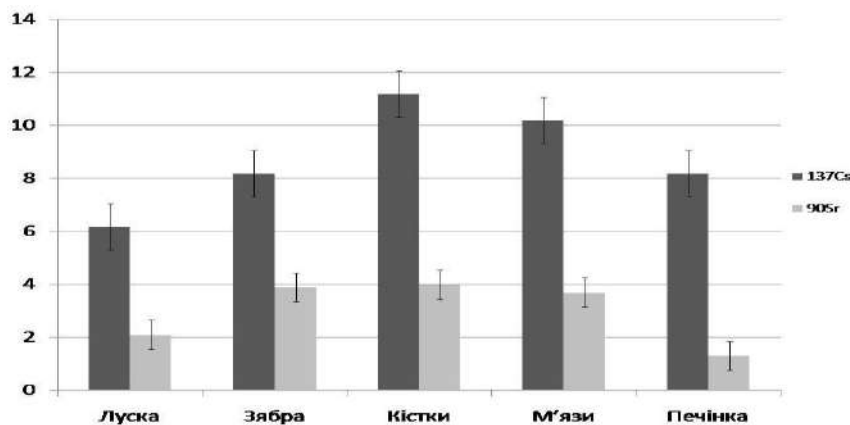


Рис. 1. Середній вміст  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  у тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища, Бк/кг  
Найбільшу накопичувальну здатність до  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  виявляли м'язова та кісткова тканини, найменшу – луска та печінка риб. Проникність зябрового апарату та зовнішніх поверхонь тіла риб до  $^{137}\text{Cs}$  низька. У м'язах кількість  $^{137}\text{Cs}$  зростає з віком риби, що пов'язується зі збільшенням щільності фіксації  $^{137}\text{Cs}$  м'язовою тканиною риб [4].

За здатністю накопичувати  $^{90}\text{Sr}$  білий товстолобик займає проміжне положення між бентофагами та іхтіофагами. Низький вміст радіонукліда в тканинах риби можна пояснити низьким його вмістом у воді [3].  $^{90}\text{Sr}$  є мобільним радіонуклідом, який швидко виноситься з водойми плином води. Деяка частина  $^{90}\text{Sr}$  затримується в донних відкладеннях. Екологічна якість води за вмістом  $^{90}\text{Sr}$  в дніпровських водосховищах стабільна, оскільки він слабо поглинається донними відкладеннями, тому вода відноситься до «слабко забрудненої». Розчинений у воді  $^{137}\text{Cs}$  інтенсивніше поглинається донними відкладеннями та гідробіонтами, тому відбувається самоочищення води від радіонуклідів цезію вниз по каскаду.

Відносно високий вміст штучних радіоізотопів  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  у лусці та зябрах риб свідчить про наявність ефективного механізму самоочищення від інкорпорованої радіації, оскільки за низького вмісту радіонуклідів у воді, риби поглинають їх в основному з кормом, а виділяють покривними тканинами.

Навесні показники вмісту штучних радіонуклідів у білого товстолобика значно перевищували осінні (рис. 2 ).

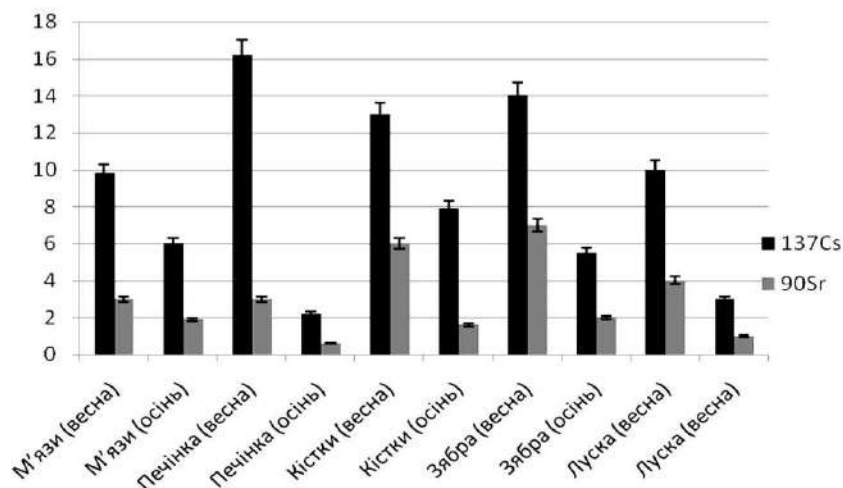


Рис. 2. Сезонна динаміка вмісту  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  у тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища, Бк/кг

Розподіл  $^{137}\text{Cs}$  в організмі білого товстолобика відбувається так: весна – печінка > зябра > кістки > луска > м'язи; осінь – кістки > м'язи > зябра > луска > печінка. Для  $^{90}\text{Sr}$  спостерігали такі ряди даних: весна – зябра > кістки > луска > печінка > м'язи; осінь – кістки > м'язи > зябра > луска > печінка.

Результати досліджень вмісту природних радіонуклідів  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  та  $^{40}\text{K}$  у тканинах білого товстолобика показали, що  $^{232}\text{Th}$  найбільше міститься в кістках та м'язах риб – до 59 Бк/кг, вміст  $^{226}\text{Ra}$  є найбільшим у кістковій тканині – від 50 до 70 Бк/кг (рис. 3). За хімічними властивостями  $^{226}\text{Ra}$  подібний до кальцію, тому до 80 % його кількості накопичується в кістковій тканині та збільшується зі збільшенням віку риби.

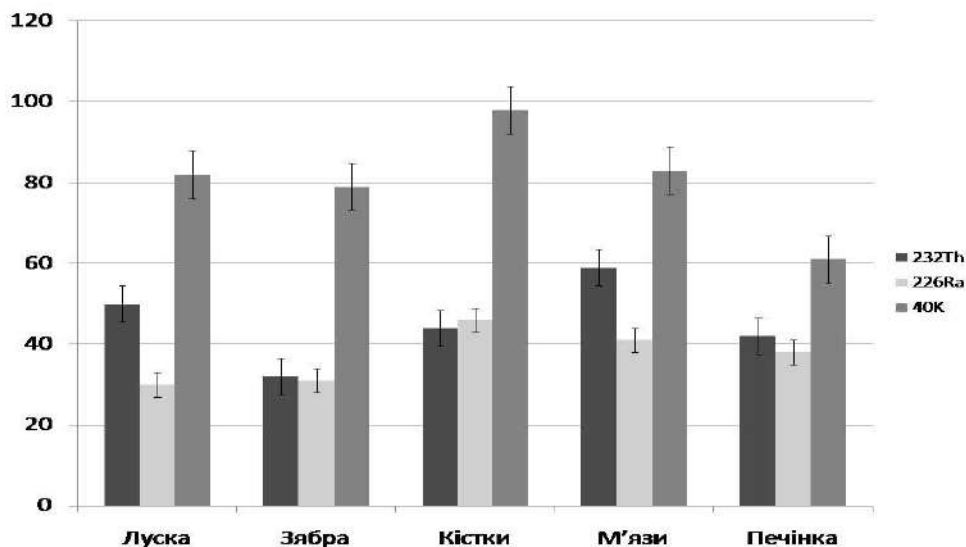


Рис. 3. Середній вміст  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  та  $^{40}\text{K}$  у тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища, Бк/кг

Вміст  $^{40}\text{K}$  виявляли на рівні від 60 до 98 Бк/кг. Найменший середній вміст  $^{40}\text{K}$  зафіксували в м'язовій тканині риб, найбільший – у кістковій тканині товстолобика. Природний ізотоп калію є досить поширеним, особливо в Придніпровському регіоні, який відрізняється підвищеним радіоактивним фоном, тому його вміст у рибі Запорізького водосховища досягає високих значень. Питома радіоактивність природного калію доволі висока, а вміст його в будь-яких живих клітинах завжди дуже значний, оскільки він належить до макроелементів.

Весняні показники вмісту  $^{232}\text{Th}$  у м'язовій тканині риб були вищими, ніж осінні (рис. 4). У кістковій тканині вміст  $^{232}\text{Th}$  восени збільшувався. Вміст  $^{40}\text{K}$  до осені зменшувався, а вміст  $^{226}\text{Ra}$  залишався на сталому рівні.

У весняний період відбувається надходження радіонуклідів за рахунок поверхневого стоку з прилеглих територій та відтоку радіоактивних речовин з верхніх водосховищ дніпровського каскаду [7, 10].

Кліматичні умови водойми впливають на виведення радіонуклідів. Зниження температури води в осінній період до  $5^\circ\text{C}$  гальмує процес виведення радіонуклідів та збільшує період напіввиведення у 2–3 рази.

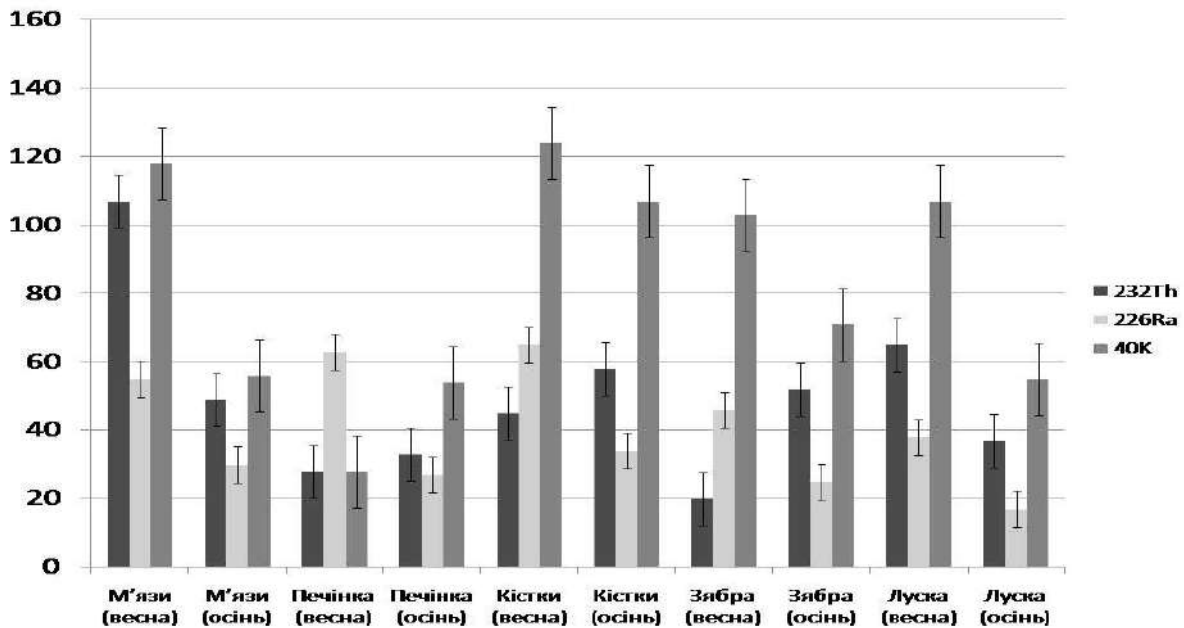


Рис. 4. Сезонна динаміка вмісту  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  та  $^{40}\text{K}$  у тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища, Бк/кг

Як правило, забруднення рибної продукції розраховується за коефіцієнтами накопичення Кн. У водній радіоекології Кн визначають як відношення питомої активності радіонукліда в організмі до питомого вмісту у воді.

За встановленими коефіцієнтами накопичення радіонуклідів відносно води у м'язовій тканині білого товстолобика  $^{137}\text{Cs}$  акумулюється в 3 рази інтенсивніше, ніж  $^{90}\text{Sr}$  (рис. 5).

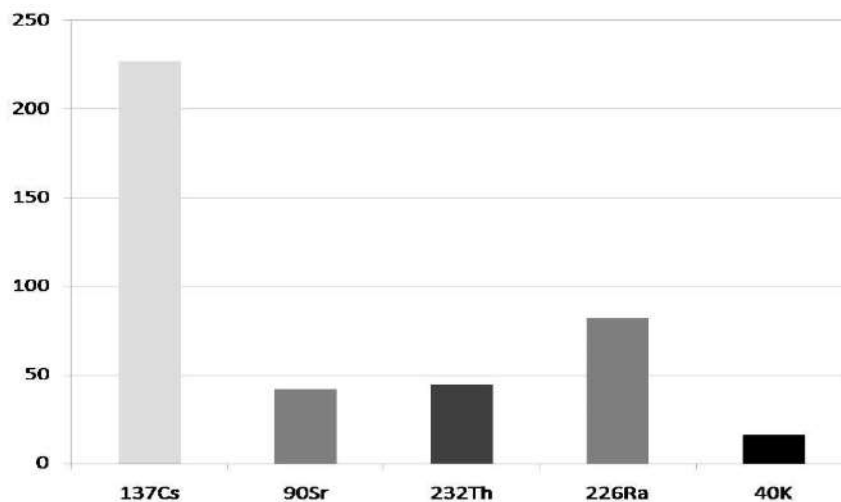
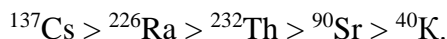


Рис. 5. Середні коефіцієнти накопичення радіонуклідів білим товстолобиком Запорізького водосховища

Радіонукліди  $^{137}\text{Cs}$  є основним чинником внутрішньої дози опромінення штучними радіонуклідами для білого товстолобика Запорізького водосховища. Швидкість акумуляції в м'язовій тканині білого товстолобика дозволяє розмістити досліджувані радіоізотопи в такій послідовності за вибуванням:



Радіонукліди  $^{40}\text{K}$  містяться в рибі у високих концентраціях, але накопичуються з води значно менше, ніж  $^{137}\text{Cs}$ , який є хімічним аналогом калію.

Отже, результати дослідження вмісту радіонуклідів та їх розподілу по тканинах білого товстолобика свідчать про те, що найбільша кількість радіоактивних речовин міститься в м'язовій і кістковій тканинах, що можна пояснити повільнішим обміном та швидкістю відновлення цих тканин у порівнянні з паренхімою печінки та зябровим епітелієм.

Перспективи подальших досліджень. Виявлені закономірності накопичення природних і штучних радіонуклідів у тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища дають підстави для прогнозування та моделювання міграційних процесів і радіоактивного забруднення водної екосистеми за подальших моніторингових спостережень.

### ВИСНОВКИ

1. У тканинах білого товстолобика Запорізького водосховища виявлені радіонукліди чорнобильського сліду  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$ , середній вміст яких складав від 10 до 12 Бк/кг та від 2,5 до 6 Бк/кг відповідно. Рівні вмісту радіонуклідів нижчі за діючі в Україні допустимі рівні для рибної продукції.
2. Сезонна динаміка вмісту радіонуклідів у тканинах білого товстолобика виявилась у значному переважанні концентрацій  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  навесні у порівнянні з осіннім періодом.
3. За коефіцієнтами накопичення відносно води у м'язовій тканині білого товстолобика встановлена послідовність акумуляції радіонуклідів за вибуванням:  
 $^{137}\text{Cs} > ^{226}\text{Ra} > ^{232}\text{Th} > ^{90}\text{Sr} > ^{40}\text{K}$ .
4. Отримані дані свідчать, що рибна продукція білого товстолобика є придатною для споживання людиною, а радіоекологічна ситуація в Запорізькому водосховищі – задовільна.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Ананьева Т. В., Маренков О. Н., Шаповаленко З. В. Биондикация радиоактивного загрязнения Запорожского водохранилища (Днепропетровская обл., Украина) по ихтиофауне. *Чернобыль: 30 лет спустя: материалы междунар. науч. конф.* (Гомель, 21-22 апреля 2016 г.). Гомель: Ин-т радиологии, 2016. С. 19-22.
2. Ananieva T., Fedonenko E., Shapovalenko Z. Contribution of environmental radiation into fish metabolic state at impacted reservoir. *Biodiversity after the Chernobyl accident: The scientific proceed. of the Int. network AgroBioNet / Ed.: Svitlana Klymenko, Olga Grygorieva, Erika Mňahončáková. Part II. Slovak University of Agriculture, Nitra, 2016. P. 15-19.*
3. Білоконь Г., Ананьева Т., Просяник Ю. Моніторингові дослідження накопичення радіонуклідів  $^{137}\text{Cs}$  та  $^{90}\text{Sr}$  рибами Запорізького водосховища. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* 2014. Вип.67. С. 123-128.
4. Волкова О. М., Беляєв В. В. Вплив гідрологічних факторів на формування радіонуклідного забруднення гідро біонтів. *Ядерна фізика та енергетика.* 2009. Т. 10, № 1. С. 80-84.
5. Ананьева Т. В., Федоненко О. В., Шаповаленко З. В. Міграція радіонуклідів у молоді плітки звичайної на акваторії Запорізького водосховища. *Питання біоіндикації та екології.* Запоріжжя: ЗНУ, 2016. Вип. 21, № 1–2. С. 110-121.

6. Белоконь А. С., Маренков О. Н., Дворецкий А. И. Содержание радионуклидов и тяжелых металлов в икре некоторых промысловых видов рыб Запорожского водохранилища. *Ядерная физика та енергетика*. 2013. Т. 14, № 1. С. 81-85.
7. Зарубин О. Л., Лактионов В. А., Мошна Б. А. Техногенные радионуклиды в пресноводных рыбах Украины после аварии на ЧАЭС. *Ядерная физика та енергетика*. 2011. Т. 12, № 2. С. 192-197.
8. Дворецкий А. И., Сапронова В. О. Прогнозування поведження радіоактивних речовин у Дніпровському водосховищі. *Вода: проблеми и решения: матер. X науч.-практ. конф.* Днепропетровск: Гамалія, 2012. С. 21-23.
9. Накопичення  $^{90}\text{Sr}$  представниками «мирних» видів риб у водоймах чорнобильської зони відчуження та інших водоймах України / Каглян О. Є. та ін. *Біологічні студії*. 2011. Т. 5, № 2. С. 113-120.
10. Удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  у рыб Украины. Современное состояние / Зарубин О. Л. и др. *Ядерная физика и енергетика*. 2013. Т. 14, №2. С. 177-182.

УДК 576.895.122

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-04>

**ДИНАМИКА И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАРАЗИТОФАУНЫ  
РЕЧНОГО СУДАКА (*STIZOSTEDION LUCIOPERCA* L.)  
В СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ  
БАСЕЙНА РЕКИ КУРЫ В ПРЕДЕЛАХ АЗЕРБАЙДЖАНА**

Ибрагимова Н. Э.

*Институт зоологии НАН Азербайджана  
1073, Азербайджан, Баку, ул. А. Аббасзаде, проезд 1128, квартал 504*

ibragimova.n.e@mail.ru

Работа посвящена особенностям паразитофауны и динамике заражения судака в современных экологических условиях реки Куры на территории Азербайджана, начиная от границы Грузией и до Каспийского моря. Проводится сравнительный анализ паразитофауны судака за последние 60 лет. Отмечены условно патогенные для судака, а также патогенные для человека виды паразитов.

*Ключевые слова: река Кура, речной судак, паразитофауна, динамика заражения, сравнительный анализ, экологические условия.*

Ибрагімова Н. Е. ДИНАМІКА І ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПАРАЗИТОФАУНИ РІЧКОВОГО СУДАКА (*STIZOSTEDION LUCIOPERCA* L.) У СУЧАСНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВАХ БАСЕЙНУ РІЧКИ КУРИ В МЕЖАХ АЗЕРБАЙДЖАНУ/ Інститут зоології НАН Азербайджану; 1073, Азербайджан, Баку, вул. А. Аббасзаде, проїзд 1128, квартал 504

Робота присвячена особливостям паразитофауны і динаміці зараження судака в сучасних екологічних умовах річки Кури на території Азербайджану, починаючи від кордону із Грузією і до Каспійського моря. Проводиться порівняльний аналіз паразитофауны судака за останні 60 років. Відмічені умовно патогенні для судака, а також патогенні для людини види паразитів.

*Ключові слова: річка Кура, річковий судак, паразитофауна, динаміка зараження, порівняльний аналіз, екологічні умови.*

Ibrahimova N. E. DYNAMICS AND COMPARATIVE ANALYSIS OF PARASITOFUNA OF THE RIVER ZANDER (*STIZOSTEDION LUCIOPERCA* L.) IN THE MODERN ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF THE KURA RIVER BASIN IN THE AREAL OF AZERBAIJAN / Institute of Zoology, NAS of Azerbaijan; 1073, Azerbaijan, Baku, Abbaszade str., Pass 1128, block 504

Every year, the Kura River is polluted intensely with industrial, domestic and agricultural waste, which is discharged by Georgia (260 million / l), Armenia (300 million / l), and Azerbaijan (25 million / l). The hydrobiological and ichthyologic studies of recent years in the basin of the Kura River within Azerbaijan

have shown significant changes in the composition of the fishes and the fodder invertebrates. So, the study of the parasitic fauna of valuable commercial fish species, including river pike-perch (zander) in modern ecological conditions has considerable scientific interest.

In the course of our research (1999-2015), 19 species of parasites were observed in the sander (pike-perch). There are Monogenea – 1 species, Cestoda – 1 species, Trematoda – 7 species, Nematoda – 5 species, Acanthocephala – 1 species, Mollusca – 1 species, Crustacean – 3 species. The greater number of species of parasites (14 species) was recorded in the mouth of the Kura River. Among the most frequent parasites are Monogenea – *A. paradoxus* and Cestoda – *P. percae* that noted in all the sites studied. Both of these parasites are narrowly specific for zander (pike-perch) and therefore their widespread is not surprising. Nematode – *R. acus*, a characteristic parasite for predatory fish, was present at all sites except Varnavinsky reservoir. Crustacean – *E. sieboldi* was not found only in the Kazakh section of the Kura River and in the Shamkir reservoir. Trematode – *B. polymorphus* and nematode – *E. exisus* were observed in 4 sectors. Trematode – *D. paracaudum*, nematode – *C. truncatus*, mollusca – *Glochidium sp.* and crustacean – *A. foliaceus* have been found in 3 sites investigated. Trematoda – *R. campanula*, *D. mergi*, *D. chromatophorum* and nematoda – *P. reticulatum* were recorded in 2 sites. All other parasites were met once. Of the parasites found, narrowly specific for pike-perch is only the Monogenean – *A. paradoxus*. Cestoda – *P. percae*, trematodes – *B. polymorphus* and *R. campanula*, nematoda – *R. acus* are specific for predatory fish.

An interesting fact is the significant infection of the pike-perch with chinks of the truly marine species of nematodes – *A. schupakovi*, *E. exisus*, *P. reticulatum*, which, apparently, is infected in the coastal zones of the Caspian Sea. In order to clarify the degree of changes in the pike-perch fauna during the last 60 years, we turned to the research data of T.K. Mikailov (1975), which were conducted in the 50s of last century, i.e. before changing the factors that influenced the testimony of our research. This work, like ours, was carried out almost simultaneously and covers the entire Kura River basin within the country. T.K. Mikailov noted 21 species of parasites at the pike-perch (zander), and in our studies 19 species. The total number of species of parasites over this period remained almost stable, however the species composition has changed. We observed the several categories of parasites -narrowly specific, typical predators, widespread in the parasitic fauna of the pike-perch (zander). Some parasites, such as *E. crassum*, *B. luciopercae*, *D. spathaceum*, *T. clavata*, *A. coleostoma*, *P. geometra*, *C. lacustris* and *A. persarum* was not noted in our studies. On the contrary, parasites such as *A. tincae*, *D. mergi*, *D. pracaudum*, *D. chromatophorum*, *A. schupakovi*, and *L. esocina* were not observed in the studies of the 1950s. But nematodes – *Eustrongylide sp.*, was found in the studies of T.K. Mikailov, in all probability, corresponds to the *E. exisus* we have noted. The fauna of trematode was predominant in previous and in our studies. At the same time, enrichment of the nematode fauna and depletion of the fauna of cestodes and crustaceans are observed in our studies. We also observed the disappearance of leeches. The significant differences in the species composition were observed in two groups of parasites: trematodes and crustaceans. Some parasites (larvae of *Anisakis*, *A. foliaceus*, etc.) have great practical importance. The parasites that found in pike-perch and pathogenic for humans are larvae – *A. schupakovi*, *C. complanatum*, *E. exisus*, *P. reticulatum*. Recently, the numerous cases of infection of humans with *Anisakis* larvae has noted in the literature, which led to fatal outcome. And *E. sieboldi* and *A. foliaceus* cause considerable damage to pond fish farms in the country.

*Key words: Kura River, pike-perch (zander), parasitic fauna, dynamics of infection, comparative analysis, ecological conditions.*

## ВВЕДЕНИЕ

На территории постсоветских республик и в том числе Азербайджана паразиты рыб изучены всесторонне. Подробно изучена паразитофауна рыб Каспийского моря, рек Кура и Аракс, водохранилищ, естественных и искусственных озер и т.д. [1-7]. Наравне с указанными успехами наблюдаются и некоторые недостатки (в систематике некоторых групп паразитов, в исследовании жизненных циклов хозяйственно важных видов, в биохимии и гистологии паразитов, в отношениях паразит-хозяин). Значительный научный интерес представляет изучение паразитофауны ценных промысловых видов рыб в современных экологических условиях.

Гидробиологические и ихтиологические исследования последних лет в бассейне реки Куры в пределах Азербайджана показали значительные изменения в составе рыб и кормовых беспозвоночных. В результате создания каскада водохранилищ (Мингечевирское – 1953 г., Варваринское – 1956 г., Шамкирское – 1982 г., Еникендское – 2000 г.) зарегулирования стока реки придаточные водоемы, питавшиеся при разливах Куры, значительно обмелели и, получая воду в основном из дренажных систем, осолонились и изменили минеральный состав воды.

Кура интенсивно загрязняется промышленными, бытовыми и сельскохозяйственными отходами, которые сбрасываются Грузией (260 млн/л), Арменией (300 млн/л), Азербайджаном (25 млн/л). Наиболее тяжелое экологическое положение на участке реки Куры после слияния с Араксом. Именно Аракс приносит со своими водами высокотоксичные отходы горнодобывающей промышленности Армении [8]. Вследствие этого у водных животных, в частности у рыб, произошло обеднение видового состава и ухудшение промышленного улова. Следствием сказанного является то, что улов судака, который до 50-х годов составлял 25-30 % от общего улова рыб, на период с 60-х до конца 90-х годов был так незначителен, что даже не указывался в статистических данных [9].

Паразитофауна судака в бассейне реки Куры в пределах Азербайджана была изучена около 50-ти лет тому назад [1]. Изменение экологического фона на данном участке дало нам основание вернуться к этой проблеме и провести сравнительный анализ наших исследований с литературными данными.

Судак – ценная промысловая полупроходная рыба, распространенная в прибрежных участках Каспия, реке Куре, в придаточных водоемах Куры, в низовьях Аракса, Варваринском, Мингчевирском, Шамкирском и Еникендском водохранилищах [10].

Цель данной работы – проследить динамику паразитофауны речного судака и провести сравнительный анализ паразитофауны на 7-ми участках, вовлеченных в исследования.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом послужили сборы паразитов судака, проведенные в 1999-2015 гг. в реке Кура от границы с Грузией и до Каспийского моря; в придаточных водоемах Куры, в Мингчевирском, Варваринском, Шамкирском и Еникендском водохранилищах, в реке Кура от Варваринской плотины до слияния с рекой Аракс, и от слияния с рекой Аракс до устья реки Куры (рис. 1).



Рис. 1. Участки проведения исследований: 1 – Газахский участок (41°14'48" N 45°26'34" E); 2 – Шамкирское водохранилище (40°59'18" N 46°03'04" E), 3 – Еникендское водохранилище (40°57'11" N 46°12'54" E); 4 – Мингечаурское водохранилище (40°59'34" N 46°59'12" E); 5 – Варваринское водохранилище (40°44'48" N 47°02'50" E); 6 – от Варваринской плотины до слияния с Араксом (40°01'21" N 48°25'50" E); 7 – устье Куры (39°22'45" N 49°20'04" E).

Из вышеуказанных участков было собрано 142 экземпляра судака (табл. 1):

Таблица 1 – Количество исследованных рыб за период 1999-2015 гг.

Районы исследования	Казахский участок	Шамкирское водохранилище	Еникендское водохранилище	Мингечаурское водохранилище	Варваринское водохранилище	от Варваринской плотины до слияния с Араксом	Устье Куры
Кол-во исследованных рыб (экз.)	7	13	68	14	11	12	17
ВСЕГО	142						

Рыбы исследовались методом полного паразитологического вскрытия, разработанным В. А. Догелем (1933) и дополненным А. П. Маркевичем (1950), а также И. Е. Быховской-Павловской (1952) [11-13]. Собранный материал фиксировался общеизвестными методами. Моногенеи – по методике В. А. Гусева (1983), нематоды – в 4 % формалине, трематоды и скребни – в 70 % спирте [14]. С целью камерального изучения паразитов моногенетические сосальщики заключались в глицерин-желатин, дигенетические сосальщики, цестоды и скребни окрашивались квасцовым кармином, а нематоды просветлялись молочной кислотой.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований у судака было отмечено 19 видов паразитов. Из них: моногеней – 1 вид, цестод – 1 вид, трематод – 7 видов, нематод – 5 видов, скребней – 1 вид, моллюсков – 1 вид, ракообразных – 3 вида (табл. 2). Собирались все паразиты, однако по ряду объективных причин (нерегулярное предоставление рыбы для вскрытий, высокая температура воздуха в летний период, нерегулярное обеспечение электроэнергией и т.д.) сбор простейших был затруднен, и поэтому данные по простейшим при анализе паразитофауны и динамики заражения ими в отдельных водоемах не были учтены.

Наибольшее количество видов паразитов зафиксировано в Устье реки Куры – 14 видов. В Еникендском водохранилище – 13, на участке реки Куры от слияния с Араксом до Варваринской плотины – 12, в Мингечевирском водохранилище – 7, в Варваринском водохранилище – 6, в Шамкирском водохранилище – 3 и на Казахском участке реки Куры 3 вида паразитов [15].

В числе наиболее часто встречающихся паразитов моногенея *A. paradoxus* и цестода *P. percae*, которые отмечены на всех исследованных участках. Оба паразита являются узкоспецифичными для судака и поэтому их широкое распространение не удивительно. Нематода *R. acus*, паразит характерный для хищных рыб, присутствовала на всех участках, кроме Варваринского водохранилища. Ракообразный *E. sieboldi* не был найден только на Казахском участке реки Куры и в Шамкирском водохранилище. Далее можно отметить трематоду *B. polymorphus* и нематоду *E. exisus*, которые были зарегистрированы на 4-х участках. Трематода *D. paracaudum*, нематода *C. truncatus*, моллюск *Glochidium sp.* и ракообразный *A. foliaceus* были зарегистрированы на 3 исследованных участках. Трематоды *R. campanula*, *D. mergi*, *D. chromatophorum* и нематода *P. reticulatum* были зарегистрированы на 2-х участках. Все остальные паразиты встречались по одному разу.



Вісник Закарпатського національного університету. Біологічні науки. № 1, 2018  
ISSN 2410-0943

Таблица 2 – Паразитофауна судака в реке Кура в пределах Азербайджана (наши данные)

№ п/п	Название паразита	1		2		3		4		5		6		7	
		Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.
1	<i>A. paradoxus</i>	100	25-100	69,2	10-75	57,3	2-50	64,3	18-30	100	20-100	100	5-100	100	2-100
2	<i>P. percae</i>	28,6	2-10	38,5	5-10	54,4	1-5	57,1	5-15	63,6	5-20	41,7	1-9	11,8	1-2
3	<i>B. polymorphus</i>	-	-	-	-	33,8	25-40	-	-	36,4	1-2	25	2-3	41,1	2-8
4	<i>R. campanula</i>	-	-	-	-	4,4	2-3	-	-	-	-	-	-	11,8	1-2
5	<i>A. tincae</i>	-	-	-	-	+	2	-	-	-	-	-	-	-	-
6	<i>D. mergi</i>	-	-	-	-	7,4	7-9	-	-	-	-	-	-	17,6	2-3
7	<i>D. paracaudum</i>	-	-	-	-	4,4	4-6	-	-	-	-	17,6	2-4	29,4	1-5
8	<i>D. chromatophorum</i>	-	-	-	-	-	-	14,3	2-4	27,3	1-3	-	-	-	-
9	<i>C. complanatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,8	2-4	-	-
10	<i>E. exisus</i>	-	-	-	-	+	2	+	2	-	-	6	2	17,6	3-4
11	<i>C. truncatus</i>	-	-	-	-	8,8	2-3	-	-	-	-	11,8	1-5	11,8	1-2
12	<i>A. schupakovi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17,6	1-5
13	<i>P. reticulatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,8	1-5	29	1-5
14	<i>R. acus</i>	+	2	15,4	2-5	8,8	5-8	50	2-10	-	-	33,3	1-15	17,6	2-12
15	<i>C. strumosum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	5-7
16	<i>Glochidium sp.</i>	-	-	-	-	+	2	42,9	1-4	36,4	2-5	-	-	-	-
17	<i>E. sieboldi</i>	-	-	-	-	10,3	3-7	28,6	2-5	27,3	1-4	29	2-8	11,8	1-2
18	<i>L. esocina</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33,3	2-5	-	-
19	<i>A. foliaceus</i>	-	-	-	-	11,8	2-5	-	-	-	-	50	3-16	6	9

Примечания: 1 – Газахский участок, 2 – Шамкирское водохранилище, 3 – Еникендское водохранилище, 4 – Мингечаурское водохранилище, 5 – Варваринское водохранилище, 6 – от Варваринской плотины до слияния с Араксом, 7 – устье Куры

Из найденных паразитов узкоспецифичным для судака является только моногенея *A. paradoxus*. Моногенеи в большинстве случаев проявляют узкую специфичность к своим хозяевам.

Обычно каждая рыба имеет от одной до нескольких специфичных моногеней. Очень редко один и тот же вид моногеней может встречаться и у других видов рыб, которые имеют родственное отношение к основному хозяину. *P. percae*, *B. polymorphus*, *R. companula* и *R. acus* характерны для хищников в целом. Остальные паразиты в акватории Каспия и в бассейне реки Куры имеют широкое распространение и встречаются у многих видов рыб: карповых, сельдевых и других. Моногенея *A. paradoxus* была отмечена у всех исследованных особей с большой интенсивностью до 100 экземпляров. Цестода *P. percae* – паразит, специфичный окуневым и характерный для хищных рыб, особенно окуня, щуки, судака, но есть случаи заражения им и мирных рыб.

Рыбы инвазируются этой цестодой, поедая промежуточных хозяев паразита, – веслоногих рачков. Трематоды *B. polymorphus* и *R. campanula* также являются специфичными для хищных рыб. Однако установлено, что эти паразиты избирательно относятся к своим хозяевам и обычно отдают предпочтение одному из них. Так, например, *B. polymorphus* встречается у судака со сравнительно большей экстенсивностью и интенсивностью инвазии, чем у других хищных рыб. Также обнаружены три вида личинок трематод рода *Diplostomum*, которые, свободно плавая, активно проникают в хозяина. Только однажды был зафиксирован случай заражения трематодой *S. complanatum*. Судак как пелагическая рыба слабо контактирует с местами накопления моллюсков, которые являются промежуточными хозяевами этих паразитов, что и приводит к слабому заражению их трематодами вообще.

Интересным фактом является значительное заражение судака личинками истинно морских видов нематод *A. schupakovi*, *E. exisus*, *P. reticulatum*, которыми он, по-видимому, заражается в прибрежных зонах Каспия. Нами они были обнаружены в основном на участке от устья Куры до слияния с рекой Аракс. Нематода *R. acus*, паразит, специфичный для хищников, была зафиксирована практически на всех участках. Скребень *S. caspicum* отмечен ближе к устью, что объясняется тем, что его окончательным хозяином является каспийский тюлень *Phoca caspica*. Было отмечено 3 вида ракообразных: *E. sieboldi*, *L. esocina*, *A. foliaceus*. Они встречались с большей экстенсивностью и интенсивностью инвазии на участке от слияния Куры с рекой Аракс и до Варваринской плотины.

### ДИНАМИКА И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАРАЗИТОФАУНЫ СУДАКА

Как было отмечено, паразитофауна судака в Куре и в ее водоемах в пределах Азербайджана была изучена во второй половине прошлого столетия. Эти исследования проводились Т. К. Микаиловым, Х. Г. Абдуллаевой, Н. Ш. Казиевой, Ш. Р. Ибрагимовым, Я. М. Сеидли в период 1950-90-х годов [1-3, 16, 17]. Однако почти все они охватывали паразитофауну судака лишь на каком-то одном конкретно взятом участке, что не дает нам общей картины для проведения сравнительного анализа.

Поэтому для выяснения степени изменений в паразитофауне судака за последние 60 лет мы обратились к данным исследований Т. К. Микаилова (1975), которые проводились в 50-х годах прошлого столетия, т.е. до смены факторов, повлиявших на показания наших исследований [1]. Эта работа, аналогично нашей, была выполнена почти одновременно и охватывает весь бассейн реки Куры в пределах республики (табл. 3).

Таблица 3 – Паразитофауна судака в реке Кура в пределах Азербайджана (литературные данные)

№ п/п	Название паразитов судака	Минге- чаурское в-ще		Варва- ринское в-ще		Озера нижней Куры		Река Кура		Южный Каспий	
		Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.	Э.И. %	И.И. экз.
1	<i>A.paradoxus</i>	+	2	17	1-5	13	1-5	10	2-25	90	2-46
2	<i>E. crassum</i>	-	-	-	-	-	-	+	2	-	-
3	<i>P.percae</i>	-	-	-	-	-	-	+	1	-	-
4	<i>B.polymorphus</i>	-	-	40	1-25	22	1-13	40	20-25	84	1-100
5	<i>R.campanula</i>	-	-	-	-	-	-	15	2-5	4	1
6	<i>B.luciopercae</i>	-	-	-	-	-	-	6,5	1-3	-	-
7	<i>D.spathaceum</i>	-	-	-	-	+	1	-	-	6,7	2-15
8	<i>T.clavata</i>	-	-	-	-	+	2	-	-	-	-
9	<i>C.complanatum</i>	-	-	+	1	-	-	-	-	-	-
10	<i>A.coleostoma</i>	-	-	-	-	-	-	20	5-60	10	10-15
11	<i>Eustrongylides sp.</i>	+	1	-	-	+	2	40	3-30	24	1-3
12	<i>C. truncates</i>	-	-	-	-	-	-	+	2	-	-
13	<i>P.reticulatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2
14	<i>R. acus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	4	1
15	<i>C.strumosum</i>	-	-	-	-	8,8	5-13	25	1-3	28	1-12
16	<i>P. geometra</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
17	<i>Glochidium sp.</i>	100	10-50	12	1-40	-	-	+	-	-	-
18	<i>E. sieboldi</i>	-	-	+	-	-	-	15	1-2	-	-
19	<i>C. lacustris</i>	-	-	-	-	-	-	5	1	36	1-3
20	<i>A.percarum</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	50	-
21	<i>A. foliaceus</i>	-	-	-	-	2,6	5-13	-	-	-	-

На основании таблиц 2 и 3 нами была составлена таблица, которая достоверно отражает состояние паразитофауны речного судака на период 1950-х годов и в наши дни, что дает возможность проследить изменения в зараженности судака паразитами, произошедшие за последние 60 лет (табл. 4).

Как видно из таблицы 4, Т. К. Микаилов у судака отмечает 21 вид паразитов, а в наших исследованиях 19 видов. Общее количество видов паразитов за этот период осталось почти стабильным, однако изменился видовой состав. В паразитофауне судака мы наблюдаем несколько категорий паразитов – узкоспецифичные, характерные хищникам, широко распространенные. Некоторые паразиты, такие как *E. crassum*, *B. luciopercae*, *D. spathaceum*, *T. clavata*, *A. coleostoma*, *P. geometra*, *C. lacustris* и *A. Percarum*, в наших исследованиях не отмечены. Напротив, такие паразиты, как *A. tincae*, *D. mergi*, *D. pracaudum*, *D. chromatophorum*, *A. schupakovi*, и *L. esocina*, не отмечались в исследованиях 50-х годов. А нематода *Eustrongylides sp.*, найденная Т. К. Микаиловым, по всей вероятности, соответствует отмеченной нами *E. exisus*.

Таблица 4 – Сравнительная зараженность речного судака паразитами в реке Кура в пределах Азербайджана в 1950-е и в 2010-е гг.

№ п/п	Название паразитов судака	Микаилов Т. К.	Ибрагимова Н. Э.
1	<i>Ancyrocephalus paradoxus</i>	+	+
2	<i>Eubothrium crassum</i>	+	-
3	<i>Proteocephalus percae</i>	+	+
4	<i>Bucephalus polymorphus</i>	+	+
5	<i>Rhipidocotyle campanula</i>	+	+
6	<i>Asymphyiodora tincae</i>	-	+
7	<i>Bunoderia luciopercae</i>	+	-
8	<i>Diplostomum mergi</i>	-	+
9	<i>Diplostomum paracaudum</i>	-	+
10	<i>Diplostomum chromatophorum</i>	-	+
11	<i>Diplostomum spathaceum</i>	+	-
12	<i>Tylodelphys clavata</i>	+	-
13	<i>Clinostomum complanatum</i>	+	+
14	<i>Ascocotyle coleostoma</i>	+	-
15	<i>Eustrongylides exisus</i>	-	+
16	<i>Eustrongylides sp.</i>	+	-
17	<i>Camallanus truncates</i>	+	+
18	<i>Anisakis schupakovi</i>	-	+
19	<i>Porrocaecum reticulatum</i>	+	+
20	<i>Raphidascaris acus</i>	+	+
21	<i>Corynosoma strumosum</i>	+	+
22	<i>Piscicola geometra</i>	+	-
23	<i>Glochidium sp.</i>	+	+
24	<i>Ergasilus sieboldi</i>	+	+
25	<i>Lernaea esocina</i>	-	+
26	<i>Caligus lacustris</i>	+	-
27	<i>Achtheres percarum</i>	+	-
28	<i>Argulus foliaceus</i>	+	+

Также была разработана диаграмма, на которой четко прослеживается доминирование тех или иных систематических групп паразитов для обоих периодов исследований (рис. 2).

Как видно на рисунке 2, и в предыдущих исследованиях преобладает трематодная фауна. В то же время нами зарегистрировано обогащение нематодной фауны и обеднение фауны цестод и ракообразных. Также мы наблюдаем исчезновение пиявок.

Таким образом, паразитофауна судака, оставшись относительно стабильной в количественном отношении, претерпела изменения с точки зрения зараженности отдельными взятыми систематическими группами паразитов.

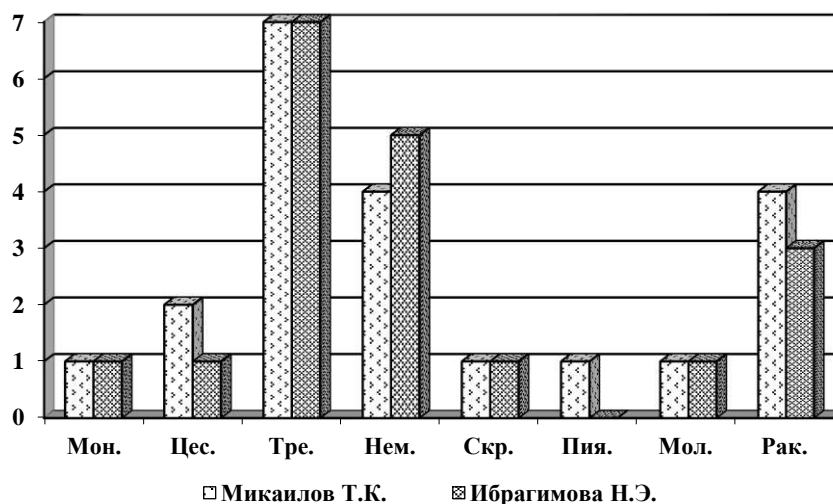


Рис. 2 Сравнительный видовой состав (по систематическим группам) паразитов судака в нижней Куре в 1950-е и в 2010-е гг.

Значительные различия в видовом составе наблюдаются в двух группах паразитов: трематод и ракообразных. Попробуем обосновать эти изменения.

Трематоды *B. polymorphus* и *R. campanula*, как это было отмечено выше, паразиты, характерные для хищных рыб и поэтому их присутствие в данных обоих исследований не удивительно.

Трематода *A. tincae* была нами зафиксирована лишь единожды в Еникендском водохранилище и только на одной особи. Но учитывая то, что один из промежуточных хозяев этого паразита моллюск *L. auricularia* нашел в водохранилище благоприятные условия для существования и на сегодня является одним из ведущих представителей малакофауны этого водоема, можно предположить, что и трематода *A. tincae* в ближайшее время будет более широко распространена на данном участке [18]. Трематоды *B. luciopercae* и *T. clavata* были отмечены Т. К. Микаиловым только однажды и с небольшой экстенсивностью инвазии в реке Куре и в придаточных озерах [1]. Эти паразиты не являются характерными представителями паразитофауны судака.

Основные изменения произошли в видовом составе представителей рода *Diplostomum*. В 50-х годах прошлого столетия в паразитофауне речного судака Т. К. Микаиловым был отмечен лишь один представитель этого рода *D. spathaceum*. В наших исследованиях их уже три: *D. mergi*, *D. paracaudum*, *D. chromatophorum*. Остановимся подробнее на этом факте. Сложный жизненный цикл, в котором присутствуют промежуточные и окончательные хозяева, отсутствие единой системы трематод и т.д. осложняют решение таксономических проблем трематодологии. Для внесения ясности мы обратились к работе А. А. Шигина (1986), в которой рассмотрены критерии видов, дана оценка их таксономической значимости, составлена определительная таблица видов рода *Diplostomum* по метацеркариям [19]. Работа была издана в 1986 году, то есть во время работы Т. К. Микаилова и других исследователей того периода этой определительной таблицы еще не было [20, 21, 22, 23, 24]. Исходя из этого, мы склонны предположить, что отмеченный Микаиловым Т.К. вид *D. spathaceum* является сборным [19, 25].

Трематода *C. complanatum* была отмечена в обоих исследованиях: в 50-е годы – в Варваринском водохранилище, а в наши дни – на участке реки Куры от Варваринской плотины и до слияния с рекой Аракс. В обоих случаях экстенсивность инвазии была очень мала, заражение – практически единичным. Личинки *A. coleostoma*, зарегистрированные Т. К. Микаиловым в устье реки Куры и в Южном Каспии, нами не отмечены. Необходимо подчеркнуть, что определить принадлежность указанных личинок трематод к какому-нибудь из фаунистических комплексов трудно, так как их окончательными хозяевами являются наземные (перелетные птицы) и они распространяют их на очень большие пространства [25]. Такие моменты случайного заражения особой аргументации не требуют.

Вторая группа, которая также претерпела значительные изменения в видовом составе, – ракообразные: *E. sieboldi*, *L. esocina*, *C. lacustris*, *A. percarum*, *A. foliaceus*. Эта группа эктопаразитов предъявляет к окружающей среде свои, особые требования. Здесь и насыщенность воды кислородом, прозрачность, соленость, минеральный состав, скорость течения, температура и т.д. и, конечно же, экология водоема. И это естественно, так как эктопаразиты подвержены непосредственному воздействию окружающей среды. Если учесть влияние плотности хозяина в данном водоеме на зараженность паразитом, то указанный список может иметь различные вариации [26].

Исходя из сказанного, мы делаем предположение, что в паразитофауне речного судака из эндопаразитов наиболее чувствительной оказалась группа дигенитических сосальщиков, а из эктопаразитов – группа ракообразных.

Некоторые паразиты (личинки анизакид, *A. foliaceus* и др.) имеют важное практическое значение. Из найденных у судака паразитов патогенными для людей являются личинки *A. schupakovi*, *C. complanatum*, *E. exisus*, *P. reticulatum*. В последнее время литературе отмечены многочисленные случаи заражения людей личинками анизакид, которые проводили к летальным исходам. Часто для избавления от паразита требуется только оперативное вмешательство. А *E. sieboldi* и *A. foliaceus* наносят ощутимый ущерб прудовым рыбохозяйствам страны. Например, в Азербайджане отмечены факты массовой гибели рыб от аргулеза в рыбохозяйстве, созданном на базе теплых вод Ширванского ГРЭС.

Перспективной дальнейших исследований является выявление влияния воздействия факторов окружающей среды на зараженность речного судака в реке Кура и в водоемах его бассейна, зависимость инвазированности судака от изменения экологической ситуации в водоемах и составление прогноза возможных изменений в ближайшем будущем.

### ВЫВОДЫ

1. За последние 60 лет можно отметить, что паразитофауна судака, оставшись относительно стабильной в количественном отношении, претерпела изменения с точки зрения зараженности отдельно взятыми систематическими группами паразитов (трематоде, ракообразные).
2. Паразиты, характерные для хищных рыб (*B. polymorphus*, *R. campanula*, *R. acus*), избирательно относятся к своим хозяевам и обычно отдают предпочтение одному из них. Например, *B. polymorphus* встречается у судака со сравнительно большей экстенсивностью и интенсивностью инвазии, чем у других хищных рыб.
3. Из найденных у судака паразитов патогенными для рыб являются *E. sieboldi* и *A. foliaceus*, а для людей представляют опасность личинки *A. schupakovi*, *C. complanatum*, *E. exisus*, *P. reticulatum*.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Микаилов Т. К. Паразиты рыб водоемов Азербайджана. Баку: Элм, 1975. 299 с.
2. Казиева Н. Ш. Паразиты рыб Варваринского водохранилища: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. 03.00.19. Баку, 1984. 20 с.
3. Сеидли Я. М. Паразитофауна рыб Большого Кызыл-Агачского залива Каспийского моря: авторефер. дисс. ... канд. биол. наук. 03.00.19. Баку. 1992. 18 с.
4. Микаилов Т. К., Ибрагимов Ш. Р. Биология Шамкирского водохранилища. Баку, 1997. С. 193-201.
5. Ибрагимова Н. Э., Микаилов Т. К. Паразитофауна рыб Еникендского водохранилища. Труды Зоологического Института. Баку: Элм, 2006. Т. XXVIII. С. 337-346.
6. Ибрагимов Ш. Р. Паразиты и болезни рыб Каспийского моря (эколого-географический анализ, эпизоотологическая и эпидемиологическая оценка). Баку : Элм, 2012. 400 с.

7. Абдуллаева Х. Г. Главнейшие паразитарные заболевания рыб и меры борьбы с ними в рыбоводных хозяйствах Азербайджана: дисс. ... док. биол. наук. 01.2429. Баку, 2014. 286 с.
8. Мансуров А. М., Салманов М. С. Экология реки Куры и водоемов ее бассейна. Баку: Элм, 1996. С. 3-159.
9. Аскерова Х. М., Сеидрзаев М. М., Агаярова А. Е., Агаева С. А. Биологическая характеристика рыб бассейна реки Куры. Баку: Элм, 2001. 300 с.
10. Абдурахманов Ю. А. Рыбы пресных вод Азербайджана. Баку: АН Азерб. ССР, 1962. 406 с.
11. Догель В. А. Проблемы исследования паразитологии рыб (Методика и проблематика ихтиопаразитологических исследований). *Тр. Ленингр. Общ-ва естествоисп.* 1933. Вып. 62(3). С. 247-268.
12. Маркевич А. П. Методика и техники паразитологического обследования у рыб. Киев: Киев. Ун-т., 1950. 24 с.
13. Быховская-Павловская И. Е. Паразитологическое исследование рыб. Москва-Ленинград: Изд. АН СССР, 1952. 63 с.
14. Гусев А. В. Методика сбора и обработка материалов по моногенням, паразитирующим у рыб. Ленинград: Наука, 1983. 47 с.
15. Ибрагимова Н. Э., Микаилов Т. К. Особенности паразитофауны популяций судака (*Stizostedion lucioperca* L.) в нижней Куре. *Проблемы современной паразитологии I. РАН, отд. биол. наук, Зоол. Инст. Инст. биол. Карельского науч. центра. Паразитол. общ-во.* Санкт-Петербург, 2003. С. 168-170.
16. Абдуллаева Х. Г. Паразиты и главнейшие паразитозы рыб придаточных водоемов нижней Куры: дисс. ... канд. биол. наук. 03.00.19. Баку, 1971. 178 с.
17. Ибрагимов Ш. Р. Паразиты рыб Каспийского моря (видовой состав, экология, происхождение и формирование фауны): дисс. ... док. биол. наук. Баку, 1991. 757 с.
18. Махмудова П. А. Эколого-фаунистический анализ партенит и личинок моллюсков Еникендского водохранилища: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Баку, 2009. 19 с.
19. Шигин А. А. Трематоды фауны СССР. Москва: Наука, 1986. 255 с.
20. Арыстанов Е. М. Метациркулярии рода *Diplostomum* Nordmann, 1832 в рыбах Аральского моря. *Вестник Каракалпак. Фил. АН УзССР.* 1971. №4. С. 52-54.
21. Атаев А. М., Алигаджиев А. Д., Газимагомедов А. А., Хайбулаев К. К. Рыбы Каспийского моря как окончательные и промежуточные хозяйства трематод. *Проблемы паразитологии.* 1975. Ч. 1. С. 43-44.
22. Бауер О. Н. Формирование паразитофауны и заболевания рыб в водохранилищах. *Изв. Гос. НИИ озер и реч. рыб. хоз-ва.* 1961. № 50. С. 445-451.
23. Жатканбаева Д. В. Видовой состав трематод рода *Diplostomum*, паразитирующих у рыб в водоемах Казахстана. *Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана.* Душанбе, 1976. С. 290-292.
24. Кулаковская О. П., Коваль В. П. Паразитофауна рыб бассейна Дуная. Киев: Наука думка, 1973. 210 с.
25. Мехралиев А. А. Партениты и личинки трематод пресноводных моллюсков Азербайджана (фауна, морфология, экология): дисс. ... докт. биол. наук. Баку, 1993. 584 с.
26. Изюмова Н. А. Паразитофауна рыб водохранилищ СССР и пути ее формирования. Ленинград: Наука, 1977. 284 с.

## РОЗДІЛ III. ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

УДК 577.2: 615. 811 : 612.112.9

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-05>

### ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ НЕЛІНІЙНИХ САМИЦЬ ЩУРІВ, ЇХ ПРИПЛОДУ НА РАННІХ ЕТАПАХ ПОСТЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ НА ФОНІ ГІРУДОВПЛИВУ

Амінін Р. Ф.

*Запорізький національний університет,  
69900, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

91\_amin\_91@ukr.net

Проаналізовано проліферативну активність лімфоцитів у цільній крові за допомогою реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) у статевозрілих щурів та їхнього приплоду на фоні гірудологічного впливу. Дорослим статевозрілим самицям нелінійних щурів масою 150-200 гр два тижні до парування та два тижні після, робилися приставки по одній голодній медичній п'явці *Hirudo verbana* (Carena, 1820), щотижня масою 400 мг (4 приставки). Досліджували самиць після вигодовування приплоду, а також приплід у динаміці на 45 та 60-ту добу. Усіх тварин декапітували під ефірним наркозом. Рівень РБТЛ оцінювали морфологічним методом з урахуванням 300-400 лімфоцитів. У результаті дослідження у статевозрілих самиць щурів контрольної та дослідної груп тварин та у їхнього приплоду при стимуляції рослинним мітогеном та антигенами п'явки збільшується відсоток бластотрансформованих клітин.

*Ключові слова: гірудовплив, біологічно активні речовини, проліферація.*

Aminov R. F. PROLIFERATIVE ACTIVITY OF BLOOD LYMPHOCYTES OF NONLINEAR RATS, THEIR OFFSPRING AT THE EARLY STAGES OF POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT ON THE FOND / Zaporizhzhya National University; 69900, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky str., 66

Nowadays, hirudotherapy, namely the treatment with medical leeches, is re-gaining momentum in the use with the prophylactic and therapeutic goal, because there are practically no diseases that can not be treated with leeches. Of the more than 200 kinds of leeches that live on the planet, only three types of medical leeches are most often used in treatment. Currently, medical leeches are grown on special biopharmic plants, after which they undergo surgical medical control. Leech is a single tool which eliminates patient infection diseases transmitted through blood. Hirudotherapy is a method of treatment that has no analogues in modern medicine. So, as now in the pharmacology more and more are shown by side effects from their use in the treatment of a number of diseases. Researchers are increasingly beginning to study and explore various natural-therapeutic methods of influencing the body of an animal and humans, one of which is hirudotherapy. In the saliva of a medical leech contain more than 100 substances that have many therapeutic effects. In the saliva of a medical leech contain more than 100 substances that have many therapeutic effects. Hirudotherapy and peptic salivary drugs are used effectively in medicine and in veterinary medicine. The main side effects of drugs are their negative effects on the proliferation of blood cells. Therefore, it is important to investigate the proliferative activity of lymphocytes by means of the reaction of blast transformation of lymphocytes in the whole blood of not only mature female rats, but also in their offspring against the background of hirudotherapy. Adult sexually mature female non-linear rats weighing 150-200 grams, two weeks prior to pairing and two weeks after, were prepared by one hungry medical leech *Hirudo verbana* (Carena, 1820), each week weighing 400 mg (4 consoles). Fixed animals using a fixing device. Animals were divided into two groups: the first experimental group of animals for the influence of biologically active substances *Hirudo verbana*; The second control group of animals without interference. The females were studied after feeding the offspring, as well as the growth in the dynamics at 45 and 60 days.

The proliferative activity of blood lymphocytes was evaluated in the whole blood by the reaction of blast transfection of lymphocytes (RBTL). Blood dissolved in 350  $\mu$ l of heparin and adjusted to 2,5 ml of medium (1: 5): 50 ml of medium 199, 5 ml of 10 % embryonal calf serum, 15 mg of glutamine, 119 mg of Hepes, 50  $\mu$ g / ml of gentamicin, 0,05 mM of 2 -mercaptoethanol. The mixture was poured into



penicillin vials and saturated with CO<sup>2</sup> pipettes. The culture mixture was introduced by mitogen – konkanavalin A (KonA, Germany) at a dose of 10 µg / ml. As antigens (AG), salt extract was used from bodies *N. verbana* Carena, 1820 at a dose of 5 µg / ml. The concentration of protein in the extract was determined by the Lowry method (Menshikov, 1987). The mitogenic stimulation of lymphocytes by plant lectin ConA was carried out to determine the conditionality of cell culture conditions, as well as to study the potential proliferative activity of the major populations of T-lymphocytes. The vials were sealed and cultured for 24 hours at a temperature of +37°. After 24 hours of cultivation, the samples were centrifuged (5 min at 1500 rpm), the culture supernatant was selected, and from the cell sieve, preparations were prepared, fixed with methanol, stained with Romanovsky-Gimza, followed by differentiation in acidified hydrochloric acid with distilled water. The level of RBTL was evaluated morphologically, taking into account 300 - 400 lymphocytes from the beginning of the brush to the basis of the drug. Statistical processing of data was carried out using the SPSS v.21,0 computer program. (IBM SPSS Statistics., USA). The sample parameters given in the table below have the following notation: X is the sample mean, SE is the standard error of the mean. The probability of differences between the average values was estimated according to the Student criterion. The differences were considered reliable at  $p < 0,05$ .

As a result of the study in mature females, scurries of the control and experimental groups of animals, when stimulated by plant mitogen and leech antigens, the percentage of blast cells increases  $p < 0,05$ . Comparing experimental with control groups of spontaneous cultures and stimulating vegetative mitogen almost did not differ from each other, with some the tendency to increase in the research group. And when stimulated by the AG, the experimental group significantly exceeded the figures in comparison with the control group, both in females and in their offspring,  $p < 0,05$ .

Blasters stimulated with plant lectin were typical, indicating a productive lymphogenesis. When stimulated by antigens, blastus had an underdeveloped cytoplasm and reduced its basophilicity, as a result of insufficient development of the protein-synthetic system.

*Key words: hirudo influence, biologically active substances, proliferation.*

## ВСТУП

У наш час гірудотерапія (ГТ) – лікування за допомогою медичних п'явок (МП), знову набирає обертів у сучасній медицині тому, що практично немає захворювань, які не можна лікувати п'явками. Із понад 650 видів п'явок, які живуть на планеті, тільки три види МП найчастіше використовують із лікувальною метою: аптечну (*H. verbana* Carena, 1820), медичну/українську (*H. medicinalis* Linnaeus, 1758), рідше – східну п'явку (*H. orientalis* S. Utevsky et Trontelj, 2005). Зараз МП вирощують на спеціальних біофермах, після чого вони проходять суровий медичний контроль. П'явка є одноразовим інструментом, що виключає інфікування пацієнта хворобами, які передаються через кров [1-3]. Гірудотерапія – метод лікування, що не має аналогів у сучасній медицині. При медикаментозній терапії все частіше виявляють побічні дії від їх використання у лікуванні ряду захворювань [4, 5]. У наш час все більше приділяється увага різним натуротерапевтичним методам, які впливають на організм тварини та людини, одним із яких є ГТ. У складі слини МП містяться понад 100 речовин, які володіють багатьма терапевтичними ефектами [6-15]. ГТ та фармакологічні препарати на основі слини п'явки ефективно використовують і в медицині [7, 10-14], і у ветеринарії [6, 8, 9, 15]. Основним побічним ефектом лікарських засобів є їхній негативний вплив на проліферацію клітин крові, тому актуальним виявляються дослідження проліферативної активності лімфоцитів за допомогою реакції бластної трансформації лімфоцитів у цільній крові не тільки статевозрілих самок щурів, а і у їхньому приплоді на фоні гірудовпливу.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дорослим статевозрілим самцям нелінійних щурів масою 150-200 гр два тижні до парування та два тижні після робилися приставки по одній голодній медичній п'явці *Hirudo verbana* (Carena, 1820), щотижня масою 400 мг (4 приставки). Фіксували тварин за допомогою фіксувального пристрою [16]. Тварин розподіляли на дві групи: перша дослідна група тварин, яким робили приставки *Hirudo verbana*; друга контрольна група тварин без втручання. Досліджували самок після вигодовування приплоду, а також приплід у динаміці на 45 та 60-ту добу постембріонального онтогенезу [17]. Експериментальні дослідження виконані з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист

хребетних тварин. Усього в експерименті використано 40 самок нелінійних щурів та 200 особин їхнього приплоду. Усіх тварин декапітували під ефірним наркозом. Брали кров, розведену гепарином 350 мкл, та доводили до 2,5 мл живильним середовищем (50 мл «Середовища 199», 5 мл 10 % ембріональної телячої сироватки, 15 мг глутаміну, 119 мг Нерес, 50 мкг/мл гентаміцину, 0,05 мМ 2-меркаптоетанолу). Розливали суміш у пеніцилінові флакони. У культуральну суміш вносили мітоген – конканавалін А (Кона, Німеччина) у дозі 10 мкг/мл. Як антигени (АГ) використовували сольову витяжку з тіл *H. verbana* Carena, 1820 у дозі 5 мкг/мл. Концентрацію білка в екстракті визначали за методом Лоурі. Культивували 24 години при температурі +37°. Через 24 години культивування зразки центрифугували (5 хв при 1500 об./хв), відбирали культуральний супернатант, а з осаду клітин готували препарати, фіксували метанолом, фарбували за Романовським-Гімзою. Рівень РБТЛ оцінювали морфологічним методом із урахуванням 300-400 лімфоцитів [18]. Активованими вважали: малі, середні та великі бласти. Лімфоцити з морфологічними ознаками апоптозу та некрозу в антигенстимульованих культурах відносили до активованих. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми SPSS v.21,0 (IBM SPSS Statistics, USA). Вибіркові параметри, наведені в таблиці, мають такі позначення: X – вибіркоче середнє, SE – стандартна помилка середнього. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Ст'юдента. Різниці вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У статевозрілих самиць щурів значно збільшувався відсоток бластнотрансформованих лімфоцитів при стимуляції рослинним мітогеном та антигенами п'явки порівняно з спонтанними культурами, і в дослідній, і контрольній групах  $p < 0,05$  (табл.1).

Таблиця 1 – Показники реакції бластної трансформації лімфоцитів крові щурів ( $X \pm SE$ ,  $n=20$ )

Тварини	Відносна кількість лімфоцитів, %	Група	Вид стимуляції лімфоцитів	Бластнотрансформовані лімфоцити, %
Статевозрілі самки	70,09 ± 1,48	Контроль	СП	9,40 ± 0,56
			Кона	27,01 ± 1,62*
			Антигени	37,80 ± 2,27*
	70,51 ± 1,64	Гірудовплив	СП	14,28 ± 0,86 <sup>#</sup>
			Кона	29,67 ± 1,78*
			Антигени	41,18 ± 2,47*
60-та доба	86,68 ± 0,67	Контроль	СП	7,01 ± 0,42
			Кона	12,11 ± 0,73*
			Антигени	8,30 ± 0,50
	82,90 ± 2,00	Гірудовплив	СП	7,57 ± 0,45
			Кона	18,97 ± 1,14*, <sup>#</sup>
			Антигени	12,91 ± 0,77*, <sup>#</sup>
45-та доба	85,86 ± 1,36	Контроль	СП	4,01 ± 0,24
			Кона	12,10 ± 0,73*
			Антигени	5,04 ± 0,30
	81,40 ± 1,72	Гірудовплив	СП	10,40 ± 0,62 <sup>#</sup>
			Кона	30,38 ± 1,82*, <sup>#</sup>
			Антигени	15,88 ± 0,95*, <sup>#</sup>

Примітки: СП – спонтанна РБТЛ (контроль), РБТЛ з лектином Кона, \* –  $p < 0,05$  показники, що достовірно відрізняються від СП, <sup>#</sup> –  $p < 0,05$  показники, що достовірно відрізняються від контрольної групи.

Так, у контрольній групі на стимуляцію КонА зростання на 65,20 %, при АГ стимуляції на 75,13 %, а у дослідній групі КонА зростає на 51,87 %, при АГ стимуляції на 65,32 %. При дослідженні приплоду у контрольних групах значне підвищення на стимуляцію КонА  $p < 0,05$ , а при стимуляції антигенами, статистично не відрізнялась від спонтанних. При порівнянні груп між собою, у дослідній групі у всіх культурах крові, як у статевозрілих самках, так і у їх приплоду на всіх етапах розвитку значне збільшення бластнотрансформованих лімфоцитів порівняно з контрольною групою тварин  $p < 0,05$ . Збільшена реакція лімфоцитів на антигени п'явки *Hirudo verbana* у досліді вказують на їх поліклональну активацію, як і на рослинний лектин, що збігаються з іншими проведеними дослідями на щурах [19]. У досліді РБТЛ на АГ стимуляцію наближалися до показників, як на рослинному лектині КонА. РБТЛ морфологічно відрізнялися рис 1.

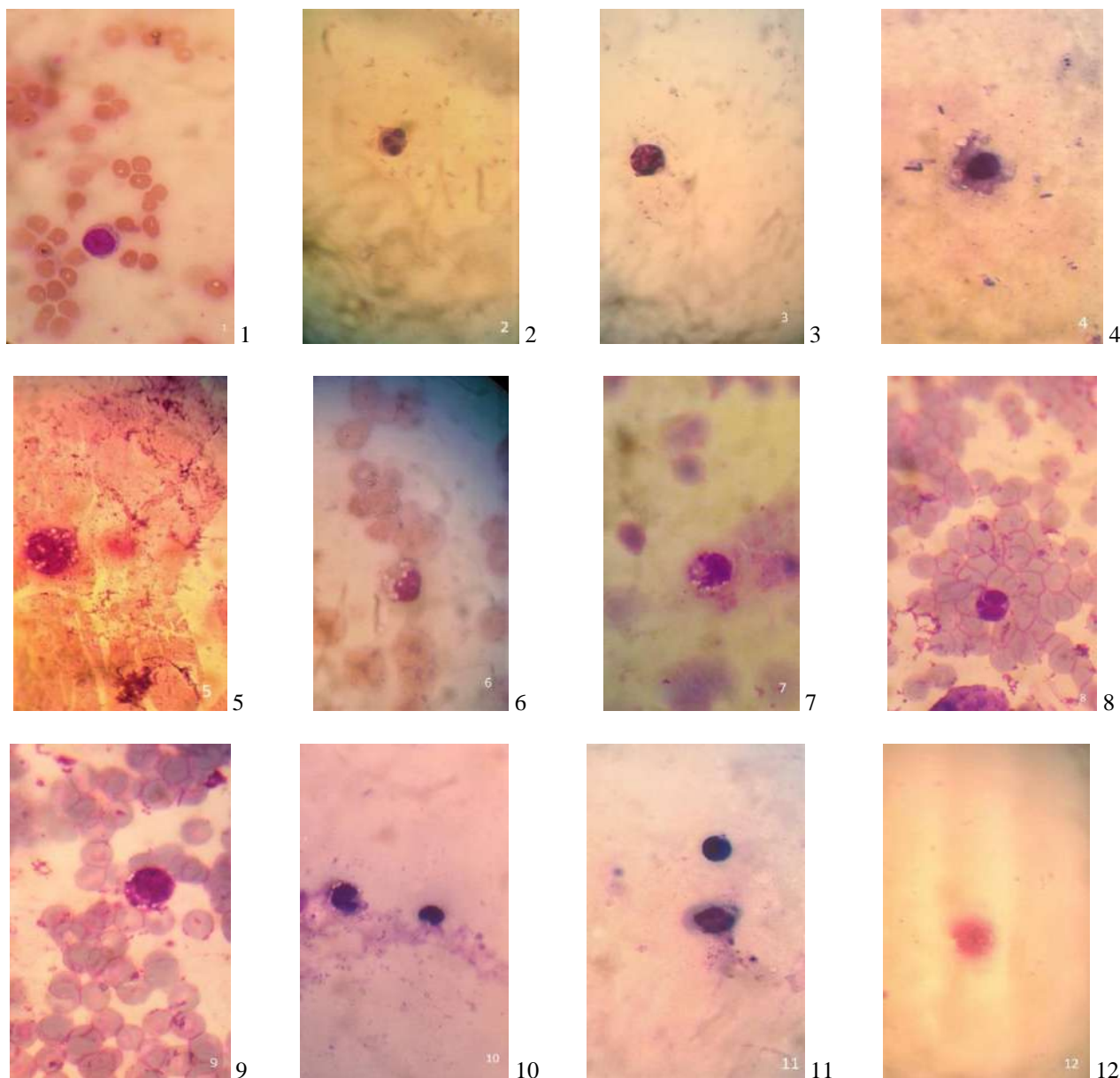


Рис. 1. Морфологічні форми бласттрансформованих лімфоцитів під впливом рослинного мітогену та антигенів *Hirudo verbana* (об'єктив 100 $\times$ , забарвлення за Романовським-Гімзою). Типові бласттрансформовані лімфоцити під впливом: 1 – КонА. Бласттрансформовані лімфоцити під впливом антигенів *Hirudo verbana* із ознаками апоптозу: 2 – каріорексис ядра нейтрофілів; 3 – пікноз ядра, цейозис плазмолем; 4 – пошкодження цілісності плазмолем, вакуолізація цитоплазми; 5, 6 – вакуолізація цитоплазми та ядра; 7, 9 – вакуолізація цитоплазми; 8 – двудольне ядро; 10, 11 – пікноз ядра та цитоплазми; 12 – дифузне еозинофільне п'ятно.

Бласти стимульовані рослинним лектином, були типовими, що свідчило про продуктивний лімфогенез. При стимуляції антигенами бласти мали недостатньо розвинену цитоплазму та знижену її базофільність, як результат недостатнього розвитку білок-синтетичної системи.

У культурах, у які додавали антигени, деякі лімфоцити мали ознаки апоптозу.

У таких культурах також часто зустрічались некротичні лімфоцити у вигляді дифузних еозинофільних плян. Апоптоз та некроз лімфоцитів може свідчити про протизапальну дію БАР п'явки.

Збільшення рівня РБТЛ в культурах, стимульованих АГ *Hirudo verbana* порівняно зі спонтанною РБТЛ, у контрольних тварин можна пояснити наявністю загальних патернів у білковій організації всіх видів. Формування імунної відповіді починається з взаємодії патернів з патерн-розрізняючими рецепторами клітин вродженого імунітету, які через клітинні контакти за допомогою цитокінів втягують в імуногенез лімфоцити [19]. Із цих позицій отримує логічне пояснення збільшення РБТЛ після ГТ, як результат збільшення в рециркуляції сенсibilізованих до АГ аптечної п'явки клітин, які мають спільні патерни з іншими видами [19]. Індукція апоптозу та некрозу клітин крові на АГ *Hirudo verbana*, ймовірно, є однією з форм їхньої імунологічної захисної реакції. Пристосування до ектопаразитизму та харчування МП до стерильного внутрішнього середовища господаря (копитні ссавці, людина) філогенетично знизило захисний цитотоксичний ефект до крові. Еволюційний перехід медичної п'явки до мутуалізму з копитними ссавцями сприяв адаптивному обмеженню захисних механізмів савців, шляхом наведення біологічно активними речовинами дозозалежного виборчого апоптозу імунокомпетентних клітин господаря, що проявляється у вигляді протизапального ефекту – основного терапевтичного механізму ГТ [20].

Перспективним та доцільним є подальше дослідження морфологічних показників імунологічних органів на фоні гірудологічного впливу.

### ВИСНОВКИ

1. На фоні гірудологічного впливу при стимуляції цільної крові антигенами медичної п'явки значно збільшується відсоток бластних клітин, і в статевозрілих самицях шурів, і в їхнього приплоду. Показники РБТЛ на АГ стимуляцію наближались до показників, як на рослинному лектині Кона. Так, у контрольній групі на стимуляцію Кона зростання на 65,20 %, при АГ стимуляції на 75,13 %, а в дослідній групі Кона зростає на 51,87 %, при АГ стимуляції на 65,32 %.
2. У спонтанних та стимульованих рослинним лектином культурах в основному відмічались продуктивні стадії імуногенезу, тоді як при стимуляції АГ часто зустрічали апоптичні реакції.
3. При дослідженні приплоду в контрольних групах значне підвищення на стимуляцію Кона  $p < 0,05$ , а при стимуляції антигенами, культура статистично не відрізнялась від спонтанних.
4. При порівнянні груп між собою, у дослідній групі у всіх культурах крові, значне збільшення бластнотрансформованих лімфоцитів порівняно з контрольною групою тварин  $p < 0,05$ .

### ЛІТЕРАТУРА

1. Жаров Д. Г. Секреты гирудотерапии или как лечится пиявками. Ростов н/Д : Феникс, 2003. 320 с.
2. Каменев О. Ю., Барановский А. Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии : руководство для врачей. Санкт-Петербург : ИГ Весь, 2006. 304 с.
3. Савинов В. А. Гирудотерапия : руководство. Москва : Медицина, 2004. 432 с.
4. До питання класифікації побічних реакцій лікарських засобів та підходів до їх диференціації (бібліографічний огляд) / О. В. Матвеєва, О. П. Вікторов, В. Є. Бліхар та ін. *Український медичний часопис*. 2011. № 2 (82). С. 78-84.

5. Солошенко Э. Н. Лекарственная болезнь в проблеме побочного действия лекарственных средств: современное состояние. Дискуссионные вопросы диагностики и лечению. *Международный медицинский журнал*. 2012. № 3. С. 80-88.
6. Влияние гирудотерапии на физиологические показатели у коз / А. Фролов, В. Копейка, Е. Федотов и др. *Тваринництво України*. 2010. № 7. С. 7-10.
7. Амінов Р. Ф., Фролов О. К. Вплив біологічно активних речовин сольовогоекстракту медичної п'явки на фагоцитарну активність нейтрофілів і цитоморфометричні зміни лімфоцитів крові людини у культурі. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2015. Т. 7. С. 108-112.
8. Аминов Р. Ф., Фролов А. К., Федотов Е. Р. Влияние внутриутробной нагрузки биологически активными веществами солевого экстракта *Hirudo verbana* на морфометрические и гематологические показатели крыс на ранних этапах постэмбрионального развития. *Имунопатология, Аллергология, Инфектология*. 2016. № 4. С. 6-11.
9. Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Федотов Є. Р., Макєєва Л. В. Морфометричні показники тіла щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу антигенів сольового екстракту медичної п'явки в передембріональний і ембріональний періоди розвитку. *Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки*. 2016. №1. С. 43-48.
10. Баскова И. П., Завалова Л. Л. Ингибиторы протеолитических ферментов медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) (обзор). *Биохимия*. 2001. Т. 66. № 7. С. 869-883.
11. Abdullah, S. et al. Hirudotherapy. Leech therapy: applications and indications in surgery. *Archives of Clinical Experimental Surgery*. 2012. Vol. 1, № 3. P. 172-180.
12. Hildebrandt J. P., Lemke S. Small bite, large impact—saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Naturwissenschaften*. 2011. Vol. 98, № 12. P. 995-1008.
13. Koeppen D., Aurich M., Rampp T. Medicinal leech therapy in pain syndromes: a narrative review. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2014. Vol. 164. P. 95-102.
14. Pospelova, M. L., Barnaulov O. D. Effects of hirudotherapy on intravascular thrombosis activation in different groups of patients with cerebrovascular pathologies. *Aktuelnosti nevrolog, psihijatrije granicnih podrucja*. 2010. Vol. 18(3). P. 27-32.
15. Sobczak N., Kantyka M. Hirudotherapy in veterinary medicine. *Annals of Parasitology*. 2014. Vol. 60 (2). P. 89-92.
16. Пристрій для фіксації дрібних лабораторних тварин: патент 107289, України:МПК А61D3/00. № 201512710; заявл. 22.12.2015; опубл. 25.05.2016, Бюл. № 10. 6 с.
17. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Київ: Вища школа, 1983. 383 с.
18. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Беркало Л. В., Бобович О. В., Боброва Н. О. та ін. Полтава: Полімет, 2003. 320 с.
19. Фролов А. К., Литвиненко Р.А., Копейка В. В., Федотов Е. Р. Особенности реакции бластной трансформации лимфоцитов крови доноров стимулированной растительными лектинами и антигенами кольцецов. *Проблеми екології та медицини*. 2012. Т. 16. № 5-6. С. 37-40.
20. Фролов А. К., Литвиненко Р. А. Реакция бластной трансформации лимфоцитов крови больных, стимулированная растительными митогенами и антигенами кольцецов при гирудотерапии. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2014. № 3. С. 10-13.

**РЕАКЦІЯ БЛАСТНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ  
НЕЛІНІЙНИХ САМИЦЬ ЩУРІВ,  
ЇХ ПРИПЛОДУ НА РАННІХ ЕТАПАХ ПОСТЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ  
НА ФОНІ ВПЛИВУ СОЛЬОВОГО ЕКСТРАКТУ *HIRUDO VERBANA***

Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Федотов Є. Р.

*Запорізький національний університет,  
69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

91\_amin\_91@ukr.net

a\_frolov@ukr.net

У статті досліджується реакція бластної трансформації лімфоцитів у цільній крові статевозрілих самок щурів та їх приплоді на фоні впливу сольового екстракту медичної п'явки. Самкам раз на тиждень, за 2 тижні до злучки із самцями та 2 тижні після, вводився внутрішньочеревно сольовий екстракт медичної п'явки *Hirudo verbana* (Carena, 1820). Досліджувалися самки після вигодовування приплоду та приплід у динаміці на 45-ту та 60-ту добу. У результаті дослідження у статевозрілих самок щурів контрольної та дослідної груп при стимуляції рослинним мітогеном та антигенами п'явки збільшувався відсоток бластних клітин. Показники реакції бласттрансформації лімфоцитів на АГ наближалися до показників, як на рослинному лектині КонА. У спонтанних та стимульованих рослинним лектином культурах в основному відмічали продуктивні стадії імуногенезу, тоді як при стимуляції АГ часто зустрічали апоптичні реакції.

*Ключові слова:* гірудологія, антигени, біологічно активні речовини.

Aminov R. F., Frolov A. K., Fedotov Ye. R. REACTION OF BLOOD TRANSFORMATION OF BLOOD LYMPHOCYTES OF NONLINEAR FEMALES RATS, THEIR OFFSPRING AT THE EARLY STAGES OF POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT ON THE BASIS OF THE INFLUENCE OF SALINE EXTRACT *HIRUDO VERBANA* / Zaporizhzhya National University; 69900, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovski str., 66

Hirudotherapy is one of the methods of non-medical, and natural effects on the body. Therapeutic effects of HT due to the composition of the secret salivary glands of medical leeches are more than 100 biologically active substances. Such multicomponent secretion of salivary glands of leech reveals anticancer, lipolytic, analgesic, immunomodulatory, anticoagulant, thrombolytic, anti-inflammatory and bactericidal action. Therefore, it was important to investigate the reaction of blast transformation of whole blood lymphocytes against the background of the influence of saline extracts from the organs of medical leeches. Female non-linear rats once a week, 2 weeks before the conjugate with males and 2 weeks afterwards, intraperitoneal antigens of the medicinal leech extract *Hirudo verbana* (Carena, 1820) were obtained by the method proposed by Frolov (2013). Dosage of antigens of the salt extract was carried out on the protein content (determined by Lowry). Fixed animals using a fixing device. Animals were divided into two groups: the first experimental group of animals under the influence of antigens of the salt extract of medical leeches at a dose of 1/10 of LD50 (at the rate of 5 mg / kg of animal weight), 0,5 ml; The second control group of animals, which were intraperitoneally injected with a 0,5 ml saline solution. The females were studied after feeding the offspring and breeding in dynamics on 45 th and 60 th day.

All animals were decapitated under ethereal anesthesia. The proliferative activity of blood lymphocytes was evaluated in the whole blood by the reaction of blast transfection of lymphocytes (RBTL). Blood dissolved in heparin 350  $\mu$ l and bring to 2,5 ml nutrient medium (1 : 5). The mixture was poured into penicillin vials and saturated with CO<sup>2</sup> pipettes. The culture mixture was introduced by mitogen – konkanavalin A (KonA, Germany) at a dose of 10  $\mu$ g / ml. As antigens (AG), salt extract was used from bodies *N. verbana* Carena, 1820 at a dose of 5  $\mu$ g / ml. The concentration of protein in the extract was determined by the Lowry method (Menshikov, 1987). The mitogenic stimulation of lymphocytes by plant lectin ConA was performed in order to determine the conditionality of cell culture conditions, as well as to study the potential proliferative activity of the major populations of T-lymphocytes. The vials were sealed and cultured for 24 hours at a temperature of +37°. After 24 hours of cultivation, the samples were centrifuged (5 min at 1500 rpm), the culture supernatant was selected, and from the cell sieve, preparations were prepared, fixed with methanol, stained with Romanovsky-Gimza, followed by differentiation in acidified hydrochloric acid with distilled water. The level of RBTL was evaluated morphologically, taking into account 300 - 400 lymphocytes from the beginning of the «brush» to the basis of the drug.

Statistical processing of data was carried out using the SPSS v.21,0 computer program. (IBM SPSS Statistics., USA). The sample parameters listed below in the table have the following notation:  $\bar{x}$  is the sample mean, SE is the standard error of the mean. The probability of differences between the average values was estimated according to the Student criterion. The differences were considered reliable at  $p < 0,05$ .

As a result of the study in mature female females, the control and experimental groups of animals, when stimulated with plant mitogen and leech antigens, increase the percentage of blast cells  $p < 0,05$ . Thus, for stimulation of ConAs by 61,27 %, AG by 37,33 % in the control group, and in the experimental group, KonA by 62,55 % and AG by 64,28 % compared to spontaneous cultures. The same tendency to increase in their litter at all stages of the experiment. Comparing experimental with control groups of spontaneous cultures and stimulating vegetative mitogen almost did not differ from each other, with some tendency to increase in experimental group. And when stimulated by the AG, the experimental group significantly exceeded the figures in comparison with the control group, both in females and in their offspring,  $p < 0,05$ . The increased response of lymphocytes to antigens of leeches *Hirudo verbana* indicates their polyclonal activation, as well as plant lectin, which coincide with our previous results in rats. Thus, in sexually mature females, RBTL in hypertension both in the control group and in the trial significantly exceeded the spontaneous  $p < 0,05$ . The same dynamics was noted in their offspring. RBTL at AG was close to the indicators, as on plant lectin ConA. RBTL morphologically differed. Blastosts stimulated with plant lectin were typical, indicating a productive lymphogenesis. When stimulated by antigens, blastosts had an underdeveloped cytoplasm and reduced basophilia, as a result of insufficient development of protein-synthetic system. In cultures in which antigens were added up to 4 % of stimulated lymphocytes, there were signs of apoptosis: cytophagocytosis, karyopycnosis, vacuolation of the nucleus and cytoplasm. In such cultures, necrotic lymphocytes were often found in the form of diffuse eosinophilic hepatitis. Apoptosis and necrosis of lymphocytes may indicate the anti-inflammatory effect of BAR leeches. However, the increase in RBTL in hypertension relative to spontaneous in rats can be explained by the presence of common patterns in the structural organization of all types of kings.

When stimulated by antigens of medical leeches, the percentage of blast cells is significantly increased. In the control group of animals at 37,33 %, and in the experiment at 64,28 % compared with spontaneous ones. Indicators of RBTL in AG were close to indicators, as on plant lectin ConA. In spontaneous and stimulated vegetable lectin cultures, the productive stages of immunogenesis were mainly observed, whereas in the stimulation of hypertension, apoptotic reactions were often observed. An increase in the percentage of blast cells in cultures stimulated by hypertension may be due to heterophilic patterns in their biopolymers.

*Key words: hirudology, antigens, biologically active substances.*

## ВСТУП

Зараз через побічні реакції від медикаментозного лікування [1, 2] медично-біологічне співтовариство науковців все більше досліджує природничі методи лікування, один із яких гірудотерапія (ГТ). Терапевтичні ефекти ГТ зумовлені складом у секреті слинних залоз медичної п'явки (МП) понад 100 біологічно активних речовин [3-9]. ГТ широко застосовують у медицині [10-15] та ветеринарії [6,16,17]. Такий багатокomпонентний склад секрету слинних залоз п'явки виявляє протиішемічну, ліполітичну, знеболювальну, імуномодельюючу, антикоагуляючу, тромболітичну, протизапальну та бактерицидну дію. Проведені досліді свідчать, що секрет слинних залоз МП змінює реологічні властивості крові, знижує в'язкість крові, агрегацію і деформацію еритроцитів [10]. Проведені досліді морфологічних змін у кіз після курсів гірудологічних постановок у період їх роздоювання, у них збільшена маса тіла та молочність без ускладнення маститом, а в репродуктивний період – відмічено 100 % запліднення із народженням двійнят зі збільшеною вагою [6]. При дослідіах, які проводили на коровах, гірудологічні приставки сприяли пришвидшеній післяпологовій реабілітації, зворотною інволюцією репродуктивних органів до фізіологічного стану [16]. Нами доведено в попередніх дослідіах, що слина МП після ГТ стимулює морфогенетичні процеси, які опосередковані в основному через фактори імунної системи (підвищені фізіологічні параметри тіла, стимуляція мієлоїдної та лімфоїдної тканин (селезінки та тимусу) і, як наслідок збільшення розмірів органів) [8-9], збільшена функціональна активність нейтрофілів крові [7], але відсутні дослідіження проліферативної активності лімфоцитів у крові. Тому актуальним є дослідіження реакції бластної трансформації лімфоцитів цільної крові на фоні впливу сольового екстракту витяжки з тіл МП.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Самицям нелінійних щурів один раз на тиждень, два тижні до злучки із самцями та два тижні після, вводилися внутрішньочеревно антигени сольового екстракту МП *Hirudo verbana* (Carena, 1820). Дозування антигенів сольового екстракту здійснювали за вмістом білка (визначали за Лоурі). Фіксували тварин за допомогою фіксувального пристрою [18]. Тварини були розподілені на дві групи: перша дослідна група тварин, яким вводився сольовий екстракт МП (концентрація білка 10 мкг/мл) кількістю 0,5 мл; друга контрольна група тварин, яким внутрішньочеревно вводився фізіологічний розчин в об'ємі 0,5 мл. Досліджували самиць після вигодовування приплоду та приплід у динаміці на 45-ту та 60-ту добу постембріонального онтогенезу [19]. Експериментальні дослідження виконані з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Усього в експерименті використано 40 самиць нелінійних щурів та 200 особин їхнього приплоду. Усіх тварин декапітували під ефірним наркозом. Брали кров, розведену гепарином 350 мкл, та доводили до 2,5 мл живильним середовищем (50 мл «Середовища 199», 5 мл 10 % ембріональної телячої сироватки, 15 мг глутаміну, 119 мг *Нерес*, 50 мкг/мл гентаміцину, 0,05 Мм 2-меркаптоетанолу). Розливали суміш у пеніцилінові флакони. У культуральну суміш вносили мітоген – конканавалін А (Кона, Німеччина) в дозі 10 мкг/мл. Як антигени (АГ) використовували сольову витяжку з тіл *H. verbana* Carena, 1820 у дозі 5 мкг/мл. Концентрацію білка в екстракті визначали за методом Лоурі. Мітогенну стимуляцію лімфоцитів рослинним лектином Кона здійснювали для визначення кондиційності умов культивування клітин, а також для вивчення потенційної проліферативної активності основних популяцій Т-лімфоцитів. Закривали флакони пробками та культивували 24 години при температурі +37°. Через 24 години культивування зразки центрифугували (5 хв при 1500 об./хв), відбирали культуральний супернатант, а з осаду клітин готували препарати, фіксували метанолом, фарбували за Романовським-Гімзою із послідувачим диференціюванням у підкисленій соляною кислотою дистильованій воді. Рівень РБТЛ оцінювали морфологічним методом із урахуванням 300-400 лімфоцитів починаючи від початку «щіточки» до основи препарату [20]. Активованими вважали: малі, середні та великі бласти. Лімфоцити з морфологічними ознаками апоптозу (цейозис плазмолемі, вакуолізація ядра і цитоплазми, каріорексис ядра та ін.) та некрозу (оксифільні плями) в антигенстимульованих культурах відносили до активованих. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми SPSS v.21,0. (IBM SPSS Statistics., USA). Вибіркові параметри, наведені в таблиці 1, мають позначення: X – вибіркове середнє, SE – стандартна помилка середнього. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Ст'юдента. Різниці вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті дослідження у статевозрілих самиць щурів контрольної та дослідної груп тварин при стимуляції рослинним мітогеном та антигенами п'явки збільшується відсоток бластних клітин порівняно зі спонтанними культурами  $p < 0,05$  (табл. 1).

Так, у контрольній групі при стимуляції лімфоцитів, Кона збільшився на 61,27 %, при АГ стимуляції на 37,33 %, а в дослідній групі збільшення Кона спостерігалось на 62,55 %, а при АГ стимуляції – на 64,28 %, порівняно зі спонтанними культурами. Така сама тенденція до збільшення і у їхнього приплоду на всіх етапах дослідження постембріонального онтогенезу. Порівнюючи дослідні з контрольними групами, спонтанні культури та стимулюючі рослинним мітогеном майже не відрізнялися одна від одної, з деякою тенденцією до збільшення в дослідній групі. А при стимуляції АГ дослідна група значно перевищувала показники порівняно з контрольною групою, і в самиць, і в їхнього приплоду  $p < 0,05$ .



Таблиця 1 – Показники реакції бластної трансформації лімфоцитів крові щурів на рослинний лектин та антигени медичної п'явки ( $X \pm SE$ ,  $n=20$ )

Тварини	Лімфоцити, % / кл. $\times 10^9$	Група	Вид стимуляції лімфоцитів	Бласт- трансформовані лімфоцити, %
Статевозрілі самиці	$70,80 \pm 0,99$ $4,90 \pm 0,24$	Контроль	СП	$8,21 \pm 0,49$
			КонА	$21,20 \pm 1,27^*$
			Антигени	$13,10 \pm 0,79^*$
	$72,10 \pm 1,01$ $8,58 \pm 0,43^*$	Антигенний вплив	СП	$8,65 \pm 0,52$
			КонА	$23,10 \pm 1,39^*$
			Антигени	$24,22 \pm 1,45^*, \#$
60-та доба	$86,76 \pm 1,62$ $3,90 \pm 0,19$	Контроль	СП	$7,57 \pm 0,45$
			КонА	$14,09 \pm 0,84^*$
			Антигени	$8,50 \pm 0,51$
	$74,01 \pm 1,80$ $5,33 \pm 0,27^*$	Антигенний вплив	СП	$9,51 \pm 0,57$
			КонА	$18,85 \pm 1,13^*, \#$
			Антигени	$15,21 \pm 0,91^*, \#$
45-та доба	$89,35 \pm 1,07$ $5,42 \pm 0,27$	Контроль	СП	$2,82 \pm 0,17$
			КонА	$9,00 \pm 0,54^*$
			Антигени	$3,57 \pm 0,21$
	$84,45 \pm 1,74^*$ $5,52 \pm 0,28$	Антигенний вплив	СП	$5,15 \pm 0,31^\#$
			КонА	$12,10 \pm 0,73$
			Антигени	$8,30 \pm 0,50^*, \#$

Примітки: СП – спонтанна РБТЛ (контроль), РБТЛ із лектином КонА; % - відносне значення, кл. $\times 10^9$  – абсолютне значення; \* –  $p < 0,05$  показники, що достовірно відрізняються від СП, # –  $p < 0,05$  показники, що достовірно відрізняються від контрольної групи.

Збільшена реакція лімфоцитів на антигени п'явки *Hirudo verbana* вказує на їх поліклональну активацію, і на рослинний лектин КонА, що збігаються з нашими попередніми результатами на щурах [21]. Так, у статевозрілих самиць РБТЛ на АГ стимуляцію і в контрольній групі, і в дослідній значно перевищували спонтанні  $p < 0,05$ . Така сама динаміка відмічалась і в їхнього приплоду. РБТЛ на АГ стимуляцію наближалися до показників, як на рослинному лектині КонА. РБТЛ морфологічно відрізнялися. Бласти, стимульовані рослинним лектином, були типовими, що свідчило про продуктивний лімфогенез. При стимуляції антигенами бласти мали недостатньо розвинену цитоплазму та знижену її базофільність як результат недостатнього розвитку білок-синтетичної системи. У культурах, у які додавали антигени, деякі лімфоцити мали ознаки апоптозу (рис 1).

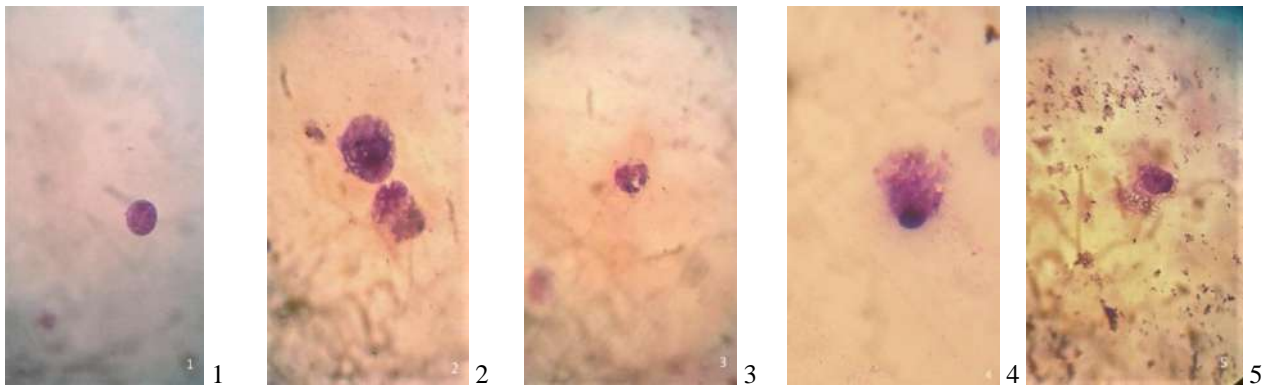


Рис. 1. Морфологічні форми бласттрансформованих лімфоцитів під впливом рослинного мітогену та антигенів *Hirudo verbana* (об'єктив 100 ×, забарвлення за Романовським-Гімзою). Типові бласттрансформовані лімфоцити під впливом: 1 – КонА; 2 – бласттрансформовані лімфоцити під впливом антигенів *Hirudo verbana* із ознаками апоптозу, вакуолізації цитоплазми і ядра; 3 – ядро з одиничною протрузією, каріорексиси ядра нейтрофілів; 4, 5 – вуалеподібна цитоплазма з вакуолізацією.

У таких культурах також часто зустрічались некротичні лімфоцити у вигляді дифузних еозинофільних плям. Апоптоз та некроз лімфоцитів може свідчити про протизапальну дію БАР п'явки.

Водночас збільшення РБТЛ на АГ порівняно зі спонтанними культурами у щурів можна пояснити наявністю загальних патернів у структурній організації усіх біологічних видів. Структурні патерни є філогенетично стабільними послідовностями біополімерів (ФСРБ) (обмежені 8-10-20 мономерами) подібні у представників різних філогенетичних груп. Видове різноманіття молекулярних патернів також обмежене – близько 20 [21]. Їх наявність описується як гетерофільні АГ. За відмінність молекулярних патернів ФСРБ відповідальні специфічні патернрозрізняючі рецептори (ПРР), які є на більшості клітин, переважно на клітинах вродженого імунітету та меншою мірою на лімфоцитах. ПРР знаходять і в інших клітинах різних тканин. У наш час детально вивчена роль взаємодії ФСРБ-ПРР у протиінфекційному захисті та імунопатології за типом алергії і аутоалергії. Природно ці взаємодії беруть участь і в регуляції онтогенетичного розвитку і регуляції, на що вказує факт першого відкриття одного з видів ПРР – Toll-подібних рецепторів (TLR) при ембріогенезі дрозофіли. МП харчується стерильною їжею (тканинна рідина, кров) водних та наземних хребетних (в основному копитні тварини, а також людина). Облігатний паразитизм МП філогенетично еволюціонував у мутуалістичні взаємини, під час яких патогенні ФСРБ відтиналися відбором, що й призвело до помірної індукції апоптозу та протизапального ефекту [21].

Перспективним та доцільним є дослідження антигенного впливу на тканинному рівні, при морфологічному аналізі селезінки та тимусу.

### ВИСНОВКИ

1. При стимуляції антигенами МП і дослідної, і контрольної групи значно збільшується відсоток бластних клітин. У контрольній групі тварин – на 37,33 %, а в дослідній – на 64,28 % порівняно із спонтанними.
2. Показники РБТЛ на АГ стимуляцію наближались до показників рослинного лектину КонА.
3. У спонтанних та стимульованих рослинним лектином культурах в основному відмічались продуктивні стадії імуногенезу, тоді як при стимуляції АГ часто зустрічали апоптичні реакції.
4. Збільшення відсотка бластних клітин у культурах, які стимулювались АГ, можливо, пов'язане з тим, що у їхніх біополімерах гетерофільні патерни.

## ЛІТЕРАТУРА

1. До питання класифікації побічних реакцій лікарських засобів та підходів до їх диференціації (бібліографічний огляд) / О. В. Матвєєва, О. П. Вікторов, В. Є. Бліхар та ін. *Український медичний часопис*. 2011. № 2 (82). С. 78-84.
2. Солошенко Э. Н. Лекарственная болезнь в проблеме побочного действия лекарственных средств: современное состояние. Дискуссионные вопросы диагностики и лечению. *Международный медицинский журнал*. 2012. № 3. С. 80-88.
3. Жаров Д. Г. Секреты гирудотерапии или как лечиться пиявками. Ростов н/Д: Феникс, 2003. 320 с.
4. Каменев О. Ю., Барановский А. Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии : руководство для врачей. Санкт-Петербург: ИГ Весь, 2006. 304 с.
5. Савинов В. А. Гирудотерапия : руководство. Москва: Медицина, 2004. 432 с.
6. Влияние гирудотерапии на физиологические показатели у коз / А. Фролов, В. Копейка, Е. Федотов и др. *Тваринництво України*. 2010. № 7. С. 7-10.
7. Амінов Р.Ф., Фролов О. К. Вплив біологічно активних речовин сольового екстракту медичної п'явки на фагоцитарну активність нейтрофілів і цитоморфометричні зміни лімфоцитів крові людини у культурі. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2015. Т. 7. С. 108-112.
8. Аминов Р. Ф., Фролов А. К., Федотов Е. Р. Влияние внутриутробной нагрузки биологически активными веществами солевого экстракта *Hirudo verbana* на морфометрические и гематологические показатели крыс на ранних этапах постэмбрионального развития. *Иммунопатология, Аллергология, Инфектология*. 2016. № 4. С. 6-11.
9. Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Федотов Є. Р., Макєєва Л. В. Морфометричні показники тіла щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу антигенів сольового екстракту медичної п'явки в передембріональній і ембріональній періоди розвитку. *Вісник Запорізького національного університету: збірник наукових праць. Біологічні науки*. 2016. № 1. С. 43-48.
10. Баскова И. П., Завалова Л. Л. Ингибиторы протеолитических ферментов медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) (обзор). *Биохимия*. 2001. Т. 66. № 7. С. 869-883.
11. Abdullah S. et all. Hirudotherapy. Leech therapy: applications and indications in surgery. *Archives of Clinical Experimental Surgery*. 2012. Vol. 1, № 3. P. 172-180.
12. Hildebrandt J. P., Lemke S. Small bite, large impact—saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Naturwissenschaften*. 2011. Vol. 98, № 12. P. 995-1008.
13. Koeppen D., Aurich M., Rampp T. Medicinal leech therapy in pain syndromes: a narrative review. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2014. Vol. 164. P. 95-102.
14. Kumar S. A. Anti inflammatory effect of leech therapy in the patients of psoriasis. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. 2012. Vol. 1(1). P. 71-74.
15. Pospelova M. L., Barnaulov O. D. Effects of hirudotherapy on intravascular thrombosis activation in different groups of patients with cerebrovascular pathologies. *Aktuelnosti nevol, psihijatrije granicnih podrucja*. 2010. Vol. 18(3). P. 27-32.
16. Попова И. С. Воспроизводительная способность молочных коров разных генотипов и использование гирудопунктуры для ее коррекции: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.07 / Мичуринский государственный аграрный университет. Мичуринск, 2003. 21 с.

17. Sobczak N., Kantyka M. Hirudotherapy in veterinary medicine. *Annals of Parasitology*. 2014. Vol. 60 (2). P. 89-92.
18. Пристрій для фіксації дрібних лабораторних тварин: патент 107289, України:МПК А61D3/00. № 201512710; заявл. 22.12.2015; опубл. 25.05.2016, Бюл. № 10. 6 с.
19. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Вища школа, 1983. 383 с.
20. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Беркало Л. В., Бобович О. В., Боброва Н. О. та ін. Полтава: Полімет, 2003. 320 с.
21. Фролов А. К., Литвиненко Р. А., Копейка В. В., Федотов Е. Р. Особенности реакции бластной трансформации лимфоцитов крови доноров стимулированной растительными лектинами и антигенами кольцецов. *Проблеми екології та медицини*. 2012. Т. 16. № 5-6. С. 37-40.

УДК 612.11 : 616.36-002 : 578.76

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-07>

## ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ У ХВОРИХ НА ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ С, ЩО МАЮТЬ РІЗНУ ТРИВАЛІСТЬ ЗАХВОРЮВАННЯ

Бонго Н. Б., Новосад Н. В.

*Запорізький національний університет  
69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

natalibongo81@gmail.com

Вивчено динаміку клінічних та біохімічних показників крові у хворих на вірусний гепатит С із тривалістю захворювання від одного до трьох років. Найбільші зміни спостерігаються в показниках печінкових проб протягом першого та другого року захворювання з їх поступовим відновленням до контрольних значень. У клінічних показниках суттєво змінюється рівень лейкоцитів, який достовірно знижується. При цьому знижується відносна кількість нейтрофілів і зростає відносна кількість лімфоцитів. Рівень ШОЕ значно зростає через рік після захворювання і у подальшому знижується, не досягаючи нормальних значень.

*Ключові слова: вірусний гепатит С, клінічні показники крові, біохімічні показники крові.*

Bongo N. B., Novosad N. V. HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD IN PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS C UNDER DIFFERENT DISEASE DURATION / Zaporizhzhya national university, 69600, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky str., 66

According to the recent data, more than 500 million people in the world are infected with hepatitis C. Exceptional actuality of this problem is provided by high prevalence, expressed polymorphism of clinical symptoms, great number of exposure routes, growth of death rate. It has been proven that early detection permits to start treatment in time and promotes recovery. Viral hepatitis C diagnosis is complicated by asymptomatic course. That is why biochemical studies that are available in daily life help to determine symptoms of infection.

The aim of work was to study the dynamics of clinical and biochemical indices of patients' blood with viral hepatitis C with disease duration from 1 to 3 years.

During the research was analysed the activity of ALT, AST, alpha-amylase, level of bilirubin, protein, glucose, cholesterol, thymol test, white blood cells, leucogram, red blood cells, thrombocytes, hemoglobin ESR in patients' blood with different disease duration. One-way dispersed analysis ANOVA was used for comparing more than two independent samples by computer program SPSS.

As a result, it was discovered patients with viral hepatitis C had some changes of clinical and biochemical indices depending on the disease duration. Activity of ALT and AST in patients' blood serum exceeded control group indices during the research. In the first year ALT and AST activity exceeded control indices by 3,24 and 2,63 times respectively. During the next years their activity declined but didn't reach control indices.

Bilirubin amount stayed within range during the research. But in the first year of disease development level of bilirubin exceeded control indices by 33,8 %, in the second year by 29 % and in the third – by 14,5 %.

Level of alpha- amylase activity exceeded control indices by 65,9 % in the first year. At the third stage ferment activity declined and reached indices of control group.

Tymol test indices varied within range and didn't change considerably. Level of protein, glucose and cholesterol stayed within range during the research. But in the second and third year of disease development level of glucose considerably increased and level of cholesterol declined.

Amount of white blood cells considerably declined by 46,9 and 48,2 % comparing to control indices in the second and third years of disease development. Amount of neutrophils declined by 11,8 %, 8,25 % and 19 % depending on the disease duration and the amount of lymphocytes increased by 22-25 % comparing to control indices. ESR considerably increased in one year of disease development then declined but didn't reach the control indices.

*Key words: viral hepatitis C, clinical blood counts, biochemical blood counts*

## ВСТУП

У світі, за останніми даними, вірусом гепатиту С (ВГ С) інфіковано понад 500 млн осіб. Поширеність вірусного гепатиту С варіює від 0,6 % у Канаді, 1,5 % – у Японії та США, до 8-12 % – у країнах Африки [1, 2]. За даними МОЗ України, хворих на вірусний гепатит С у нашій країні в 5 разів більше, ніж хворих на ВІЛ/СНІД. Серед післятрансфузійних гепатитів кількість гепатитів С досягає 80 %, що пов'язано із надзвичайно низьким рівнем вірусемії, який складно діагностувати. За оцінками експертів ВООЗ, із 2010 по 2019 рр. від захворювань печінки, викликаних вірусом гепатиту С, загинуть майже 166 000 осіб, зокрема 27 200 – від гепатоцелюлярної карциноми [2].

Надзвичайна актуальність своєчасної діагностики ВГ С та моніторингу лікування зумовлена високою захворюваністю, вираженим поліморфізмом клінічних проявів, численністю шляхів передачі збудника, зростанням показників інвалідизації і смертності, а також суттєвими економічними витратами за рахунок тривалого лікування [3]. Через схожість клінічної картини ВГ С з іншими вірусними гепатитами вирішальне значення надають методам специфічної діагностики, тобто визначенню маркерів інфекції за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, методів твердофазного імуноферментного аналізу, даним біохімічних досліджень [4]. Доведено, що своєчасне виявлення захворювання дозволяє розпочати лікування, що максимально сприяє одужанню [1-3]. Діагностика ускладнюється безсимптомним перебігом ВГ С протягом тривалого часу, тому використання біохімічних досліджень, доступних в умовах повсякденної практики при дослідженні здорових і хворих осіб, сприяють виявленню ознак інфекції [4,5].

Метою нашої роботи було вивчення динаміки змін клінічних та біохімічних показників крові у хворих на вірусний гепатит С із тривалістю захворювання від одного до трьох років.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під час роботи вивчено динаміку показників крові 60 хворих на вірусний гепатит С (латентна форма) віком 18-36 років (26 жінок та 34 чоловіків). Діагноз повністю підтверджений клінічно та спеціальними дослідженнями. Хворих було поділено на 3 групи: 1 – хворі на ВГ С через 1 рік після захворювання, 2 – хворі на ВГ С через 2 роки після захворювання, 3 – хворі на ВГ С через 3 роки після захворювання. Контрольну групу склали 20 практично здорових людей. Дослідження проводилися відповідно до сучасних вимог біоетики.

Визначення кількості гемоглобіну, лейкоцитів та лейкоформули, еритроцитів та тромбоцитів у крові пацієнтів проводили на автоматичному аналізаторі «MICROS 60 OT». Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) вимірювали мікрометодом Панченкова [6]. Активність АлАТ, АсАТ та альфа-амілази визначали кінетичними методами [5]. Для визначення загального білірубину використовували метод Єндрашека-Клегорна-Грофа [5]. Загальний білок визначали біуретовим методом [6]. Вимірювання рівня глюкози в сироватці крові проводили

глюкозооксидазним методом [5]. Холестерин визначали ферментативним методом [6]. Тимолову пробу оцінювали після осадження бета-глобулінів, гамма-глобулінів та ліпопротеїнів сироватки тимоловим реактивом. Інтенсивність помутніння, що виникала залежно від кількості та взаємного співвідношення окремих білкових фракцій, вимірювали турбідиметрично [5].

Статистичну обробку результатів проводили шляхом обчислення середнього арифметичного значення, похибки середнього арифметичного, середнього квадратичного відхилення, довірчого інтервала [7]. При порівнянні понад двох незалежних вибірок використовували однофакторний дисперсний аналіз (One-Way ANOVA) за допомогою комп'ютерної програми SPSS [8].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як показали дослідження, вірусне ураження печінки супроводжувалося порушенням молекулярної організації мембран гепатоцитів і вивільненням органоспецифічних ферментів – АлАТ та АсАТ впродовж усього періоду дослідження. Рівень АлАТ протягом першого року захворювання становив  $80,95 \pm 4,49$  Од/л, що в 3,24 рази вище показника контрольної групи. У наступні роки відмічалось поступове зниження показника. Протягом другого року рівень АлАТ дорівнював  $72,26 \pm 6,51$  Од/л, а через три роки –  $55,38 \pm 3,77$  Од/л, що відповідно у 2,89 та 2,21 рази ( $p < 0,001$ ) перевищувало значення контрольної групи. Позитивні зміни АлАТ, що вказували на припинення цитопатичної дії вірусу, відновлення стану та взаємодій компонентів імунної системи, статистично достовірні при порівнянні між 1 та 3 групами, а також між 2 та 3 групами пацієнтів. Ступінь цього зниження корелювала з тривалістю хвороби. Рівень АсАТ на початку захворювання перевищував показник здорового контингенту в 2,63 рази і становив  $75,5 \pm 4,29$  Од/л ( $p < 0,001$ ). Протягом другого року дослідження відмічалось поступове зниження показника до  $55,3 \pm 4,69$  Од/л, що в 1,92 рази вище ніж у контролі ( $p < 0,001$ ). Наприкінці дослідження показник АсАТ складав  $39,6 \pm 2,94$  Од/л, що вище за значення контрольної групи в 1,37 разу, проте знаходився в межах референтних значень. При порівнянні активності АсАТ у трьох групах хворих на ВГ С зафіксовано достовірне зниження показника – різниця між 1 та 2 групами складала 22,6 %, між 2 та 3 – 28,3 % ( $p < 0,05$ ). Тенденція до відновлення біохімічних показників цитолізу відносно контрольної групи відображена на рис. 1.

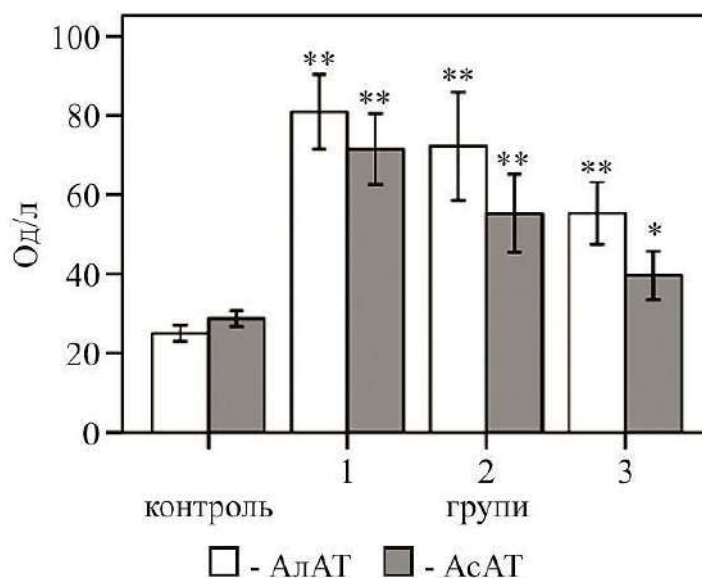


Рис. 1. Зміни активності АлАТ та АсАТ у хворих на вірусний гепатит С залежно від тривалості захворювання

Примітки: 1, 2, 3 – роки захворювання на ВГ С: перший, другий, третій; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,001$  відповідно до контролю

Дослідження інших біохімічних показників крові наведені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Біохімічні показники крові у хворих на вірусний гепатит С із різною тривалістю захворювання

Показник	Контроль	Роки дослідження			ANOVA	
		1 рік	2 рік	3 рік	F	P
Білірубін, мкмоль/л	12,9 ± 0,57	17,36 ± 0,58***	16,74 ± 0,62**	14,85 ± 0,38*	13,201	0,001
Тимолова проба, од S-H	2,05 ± 0,19	2,58 ± 0,23*	2,61 ± 0,16*	2,26 ± 0,12	2,162	0,099
Альфа-амілаза, Од/л	60,6 ± 3,48	100,6 ± 10,97**	81,95 ± 6,7*	54,2 ± 4,18	9,165	0,001
Загальний білок, г/л	74,8 ± 1,0	75,2 ± 0,97	75,05 ± 1,36	75,2 ± 0,8	0,025	0,995
Глюкоза, ммоль/л	4,72 ± 0,09	5,51 ± 0,27	5,79 ± 0,34*	5,33 ± 0,15*	3,742	0,014
Холестерин, ммоль/л	4,49 ± 0,11	5,28 ± 0,16**	5,19 ± 0,2*	4,96 ± 0,14*	5,143	0,003

Примітки: \* –  $p < 0,05$  відносно контролю, \*\* –  $p < 0,01$  відносно контролю, \*\*\* –  $p < 0,001$  відносно контролю

Кількість білірубину у групах хворих була в межах референтних значень, але не досягла показників контрольної групи. На початку дослідження рівень загального білірубину перевищував показник контролю на 33,8 % і становив  $17,36 \pm 0,58$  мкмоль/л, протягом другого року – на 29 % ( $16,74 \pm 0,62$  мкмоль/л), протягом третього року – на 14,5 % ( $14,85 \pm 0,38$  мкмоль/л) ( $p < 0,001$ ). Отже, рівень загального білірубину поступово знижувався.

Активність альфа-амілази протягом першого року захворювання високо достовірно перевищувала показник контрольної групи на 65,9 % ( $p < 0,001$ ) ( $100,60 \pm 10,97$  Од/л та  $60,65 \pm 3,486$  Од/л відповідно). Далі активність ферменту знижувалась. На другий рік дослідження значення перевищували показник контролю на 35,1 %, на третій рік досягали значень контрольної групи і знаходились у межах фізіологічної норми. Результати міжгрупових порівнянь свідчили про зниження активності альфа-амілази на другий та третій роки дослідження.

Рівень холестерину у хворих на ВГ С знаходився у межах референтних значень, проте на початку захворювання він перевищував контроль на 17,7 % ( $p < 0,01$ ). У подальшому цей показник поступово знижувався ( $p < 0,05$ ). Відмічалось хвилеподібне коливання концентрації глюкози. Різниця між 1, 2, 3 групами і контролем складала 16,7 %, 22,6 %, 12,2 % відповідно.

Тимолова проба в пацієнтів першої групи дорівнювала  $2,58 \pm 0,23$  од S-H, а в другій –  $2,61 \pm 0,15$  од S-H, що свідчило про помірне підвищення досліджуваного показника відносно контролю (на 25,8 % та 27,3 % відповідно). На третій рік різниця між показниками становила 10,2 % ( $p < 0,05$ ). Результати міжгрупового аналізу показали відсутність впливу тривалості захворювання вірусним гепатитом С на рівень тимолової проби та загального білка.

Рівень загального білка знаходився в межах референтних значень і суттєво не змінювався.

Дані гемограми наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Гематологічні показники крові у хворих на вірусний гепатит С із різною тривалістю захворювання

Показник	Контроль	Роки дослідження			ANOVA	
		1 рік	2 рік	3 рік	F	P
Гемоглобін, г/л	141,1 ± 1,9	125,2 ± 4,3*	137,3 ± 2,2	145,3 ± 2,0	1,657	0,046
Еритроцити, 10 <sup>12</sup> /л	4,45 ± 0,15	4,26 ± 0,10	4,15 ± 0,16	4,22 ± 0,19	0,025	0,995
Тромбоцити, 10 <sup>9</sup> /л	256 ± 7	270 ± 14	238 ± 9**	289 ± 10***	2,400	0,001
ШОЕ, мм/год	10,3 ± 2,1	27,6 ± 6,4***	14,7 ± 4,9*	16,5 ± 1,0***	4,662	0,009
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	7,86 ± 1,13	6,62 ± 1,29	4,17 ± 0,99***	4,06 ± 1,17***	20,22	0,001
Гранулоцити, %	57,3 ± 3,0	50,5 ± 3,2	52,5 ± 1,5	46,4 ± 2,9**	3,260	2,971
Лімфоцити, %	36,6 ± 3,0	45,4 ± 1,4***	44,3 ± 1,3***	47,7 ± 4,1***	9,230	0,942
Моноцити, %	6,1 ± 0,3	4,1 ± 0,8**	3,2 ± 0,2***	5,9 ± 1,3	0,024	0,025

Примітки: \* –  $p < 0,05$  відносно контролю, \*\* –  $p < 0,01$  відносно контролю, \*\*\* –  $p < 0,001$  відносно контролю

Протягом першого року захворювання середній рівень гемоглобіну складав  $125,2 \pm 4,3$  г/л і статистично достовірно відрізнявся від показників 2 і 3 років та контролю ( $p < 0,05$ ).

Кількість еритроцитів знаходилась на рівні контрольних показників, суттєво не змінювалась і між групами статистично не відрізнялась.

При ВГ С на другий рік захворювання спостерігається зниження рівня тромбоцитів на 7,03 % відносно контролю, що, вочевидь, пов'язано із проведенням противірусної терапії. На третьому році дослідження вміст тромбоцитів перевищує значення здорового контингенту на 12,9 % ( $p < 0,01$ ).

Статистично достовірні відмінності в кількості лейкоцитів, що виявлені на 2 та 3 рік дослідження – зниження показника на 46,9 та 48,2 % ( $p < 0,001$ ) відносно контролю, вочевидь, відбувалися за рахунок медикаментозного скорочення часу життя клітин [2, 3].

У показниках лейкоцитарної формули відбуваються виражені зміни відносного вмісту лімфоцитів. Їх кількість збільшується на 23,9 % порівняно з контролем у перший рік захворювання і залишається незмінною на другому та третьому році дослідження ( $p < 0,001$ ). Ця тенденція може підвищувати ризик розвитку криоглобулінемічного синдрому у хворих на хронічний гепатит С [3, 5]. Розмноження вірусу в імунокомпетентних клітинах, зокрема в моноцитах, призводить до зниження кількості та порушення їх функцій [5]. Рівень моноцитів знижувався на 33 % у перший рік маніфестації вірусу та в 1,9 разу протягом другого року захворювання відносно контролю ( $p < 0,01$ ). Різниця між групами була статистично достовірною ( $p < 0,05$ ). Середні значення гранулоцитів та лімфоцитів при міжгруповому порівнянні достовірно не відрізнялися. Статистично суттєвою була різниця зі значеннями відносно контролю, що свідчить про виражену та тривалу відповідь імунних клітин на дію вірусного агента.



Відмічено зниження рівня тромбоцитів протягом другого року на 17 % відносно контролю, що, імовірно, пов'язано з проведенням противірусної терапії. На третій рік дослідження вміст тромбоцитів перевищує значення здорового контингенту на 12,9 % ( $p < 0,01$ ). Вміст тромбоцитів достовірно відрізнявся при міжгруповому порівнянні ( $p < 0,001$ ).

У перший рік рівень ШОЕ перевищував контрольні значення у 2,68 разу і дорівнював  $27,6 \pm 6,4$  мм/год. На другому та третьому році різниця з контролем зменшується і складає 42,7 % та 59,8 % відповідно ( $p < 0,001$ ). Середні значення ШОЕ у хворих на 1 році дослідження в 1,87 та 1,67 разу перевищували дані 2 та 3 років ( $p < 0,05$ ). Підвищений рівень ШОЕ може бути додатковим критерієм, за яким сімейний лікар може звернути увагу на можливу наявність ускладнень у хворих на ВГ С.

Отже, результати аналізу показали наявність впливу тривалості захворювання на зміни окремих клінічних та біохімічних показників крові. Відмічено високодостовірні зміни активності АлАТ, АсАТ, концентрації лейкоцитів, тромбоцитів, загального білірубину залежно від періоду дослідження, що надає можливість прогнозувати розвиток хвороби. Так, при виявленні низки змін показників крові у хворих на ВГ С, зокрема активності маркерних ферментів гепатолізу, лімфоцитозу, підвищеного рівня ШОЕ та тимолової проби з наявністю вираженого фіброзу або цирозу печінки важливо проводити додаткові обстеження для своєчасної діагностики гепатоцелюлярної карциноми, кріоглобулінемії та інших позапечінкових проявів.

Перспективи подальших досліджень спрямовані на визначення особливостей імунологічних показників у хворих на вірусний гепатит С із різною тривалістю захворювання.

### ВИСНОВКИ

1. Визначення біохімічних показників крові у пацієнтів із різною тривалістю захворювання на ВГ С показало найбільші зміни в показниках печінкових проб протягом першого та другого року дослідження з їх поступовим відновленням до межі фізіологічної норми на третій рік.
2. Концентрація гемоглобіну протягом 1-го року захворювання достовірно знижується на 11,3 % відносно здорових осіб. У наступні роки даний показник відновлюється до контрольних значень. ШОЕ значно зростає через рік після захворювання і у подальшому знижується, не досягаючи нормальних значень. Загальна кількість еритроцитів та тромбоцитів суттєвих змін не зазнає.
3. Загальна кількість лейкоцитів достовірно знижується на 2 та 3 рік захворювання на 46,9 та 48,2 % відносно контролю. Спостерігається зниження відносної кількості гранулоцитів у залежності від тривалості захворювання на 11,8 %, 8,25 % та 19 % і зростання на 22-25 % відносної кількості лімфоцитів.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Ведення хворих на гепатит С. Клінічні практичні рекомендації EASL (Європейська асоціація з вивчення печінки). *Гепатологія*. 2011. № 2. С. 4-44.
2. Устінов О. В. Вірусний гепатит С: масштаб проблеми, перспективи лікування та роль лікаря первинної ланки. *Український медичний часопис*. 2014. № 4. С. 18-20.
3. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. *Hepatology*. 2002. Vol. 36. P. 973-977.
4. Дуда А. К., Бойко В. А., Агафонкіна І. Н. Вірусний гепатит С: сучасні можливості діагностики (клінічна лекція). *Актуальна інфектологія*. 2015. № 4. С. 9-16.
5. Справочник по лабораторным методам исследования / ред. Л. А. Данилова. Санкт-Петербург : Питер, 2003. 736 с.
6. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. Москва: Медицина, 1987. 368 с.

7. Лакин Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. ВУЗов. Москва: Высшая школа, 1990. 352 с.
8. Бююль А., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. Санкт–Петербург: ООО ДиаСофтЮП, 2005. 608 с.

УДК 577.125:678.048

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-08>

## ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКИСНОГО СТРЕСУ ПРИ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ АНТИОКСИДАНТІВ

Діордіца Я. В., <sup>1</sup>Гаркович О. Л., Єзіков В. І.

*Херсонський державний університет*

73000, Україна, Херсонська обл., вул. Університетська, 27

<sup>1</sup>*Одеська національна академія харчових технологій*

65039, Україна, Одеса, вул. Канатна, 112

diorditsa\_yv@ukr.net

Наведено результати досліджень впливу комплексу антиоксидантів на динаміку показників перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи печінки щурів за умов окисного стресу, що викликаний одноразовим введенням гідразин сульфату. Внутрішньочеревне введення щурам дослідних груп розчину гідразин сульфату викликає ураження печінки, що зумовлене активізацією вільнорадикального окиснення біосубстратів, зокрема, ліпідів біомембран гепатоцитів. Про це свідчить зростання показників первинних – дієнових кон'югатів (ДК) та вторинних – малонового діальдегіду (МДА) продуктів перекисного окиснення ліпідів, а також пригнічення показників ферментів антиоксидантного захисту порівняно з контролем. Встановлено, що застосування комплексу антиоксидантів у складі «Тріовіт» та кверцетин за умов окисного стресу сприяє нормалізації процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту організму, відновлюючи до норми показники МДА, ДК та СОД. При корекції комплексом антиоксидантів, що містить ліпоєву кислоту, «Тріовіт» та кверцетин спостерігаємо зростання показників МДА та СОД, а рівень ДК та каталази не зазнав достовірних змін.

*Ключові слова:* гідразин сульфат, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, каталаза, супероксиддисмутаза, кверцетин, «Тріовіт»,  $\alpha$ -ліпоєва кислота.

Diorditsa Y., Garkovich A., Yezikov V. DYNAMICS OF ACTIVITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND SYSTEM OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE LIVER OF RATS IN CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS BY CORRECTION WITH ANTIOXIDANT COMPLEX / Kherson State University; 73000, Ukraine, Kherson region, University, 27.

Excessive environmental load, taking medicine, alcohol, drugs, food additives, using of pesticides and herbicides, household chemicals lead to structural and functional disorders of hepatocytes. The liver is an important gland of the body participated in the elimination of a number of endogenous toxic metabolites and exogenous xenobiotics, contributing to their excretion from the body. The complex effect of xenobiotics causes intensification of lipid peroxidation processes and destabilization of antioxidant defense of the organism. In the normal physiological state of the body, the rate of lipid peroxidation processes and the activity of the antioxidant system are in balance. When the balance move to the side of the lipid peroxidation processes - oxidative stress is developed, which is a predecessor for the development of pathologies of different origins. Products of lipid peroxidation processes – malonic dialdehyde (MDA) and diene conjugates (DC) are markers of tissue damage and have cytotoxic and mutagenic effects. These effects leveled with antioxidants.

The article present the result of testing the influence of the antioxidant complex on the dynamics of lipid peroxidation parameters and the activity of enzymes of the prooxidant and antioxidant system of rat's liver under conditions of oxidative stress caused by single administration of hydrazine sulfate.

The experiments carried out on white laboratory rats of the Vistar line weighing 280 g, which kept under standard vivarium conditions. The rats divided into 4 groups: I group – control (n = 6); II – acute toxic hepatitis, caused by a single intra-peritoneal injection of a solution of hydrazine sulfate (100 mg / kg) (n = 6); III – hepatitis + «Trioivit» (50 mg / kg) and drug quercetin (20 mg / kg) (n = 6); IV – hepatitis + «Trioivit» (50 mg / kg) + quercetin (20 mg / kg) + lipoic acid (100 mg / kg) (n = 6). Complex of preparations the rats obtained per os immediately after the introduction of hydrazine sulfate. Animals extracted from the experiment under ethereal anesthesia, the decapitation carried out 24 hours after started of experiment.

Intra-peritoneal administration hydrazine sulfate to experimental rats at a dose of 100 mg / kg causes liver damage due to increased formation of active forms of oxygen and activation of free radical oxidation of biomembranes of hepatocytes. It is confirmed by the growth of lipid peroxide oxidation products – malonaldehyde and diene conjugates, decrease in the activity of antioxidant enzymes. In animals, which not treated with antioxidants, the level of primary lipid peroxidation products – DC increased by 78.05 % and secondary products of lipid peroxidation – MDA – by 19 % compared to control one.

We used antioxidant complexes complex for normalization indexes of the lipid peroxidation. When we used for the treatment the antioxidant complex which containing quercetin and «Trioivit», which includes vitamins A, E, C and microelement Selenium, we observe lowering the level of DC by 45 % and MDA by 8 % compared to a non-treated rats. When we use antioxidant complex, that including «Trioivit», quercetin and  $\alpha$ -lipoic acid the level of DC slightly lowered, and MDA increased by 44.6 % compared to non-treated animals with antioxidants.

The activation of lipid peroxidation led to a change in the activity of the main antioxidant enzymes - superoxide dismutase (SOD) and catalase. Introduction the xenobiotic decreased the level of the SOD by 20.43 % compared with intact. Probable changes in the catalase index we are not noted. With quercetin and «Trioivit» correction, SOD indexes grew by 5.3 % compared to the non-treated group, but these indexes were 14.4 % lower than intact rats. The catalase index have not reliable change. Treatment of «Trioivit», quercetin and lipoic acid decreased the level of SOD by 16.5 % compared with animals without antioxidant treatment and by 22.7 % compared to the rats which treated with «Trioivit» and quercetin.

Using the complex of antioxidant, which includes «Trioivit» and quercetin in the conditions of oxidative stress promote to the normalization of the processes of lipid peroxidation, returning to normal the index of MDA and DC, promote restoration of the SOD index.

*Key words: hydrazine sulfate, diene conjugates, malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase, quercetin, «Trioivit»,  $\alpha$ -lipoic acid.*

## ВСТУП

Значне екологічне навантаження, прийом лікарських препаратів, вживання алкоголю, наркотиків, харчових добавок, барвників, використання пестицидів, гербіцидів, побутових хімічних засобів значно навантажують організм, зокрема печінку.

Печінка – це орган, який забезпечує перетворення всіх речовин, що до неї надходять, у речовини для крові та інших органів або для виведення з організму. Ці процеси забезпечуються мікросомальною монооксидазною ферментною системою мітохондрій гепатоцитів та мембран ендоплазматичного ретикулуму [1]. Мітохондрії печінки дуже чутливі до дії стресових факторів, що можуть викликати їх дисфункцію та стати однією з причин загибелі [2, 3].

Комплексний вплив ксенобіотиків призводить до структурно-функціональних порушень у мембранах гепатоцитів. Це спричиняє посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і дестабілізації антиоксидантного захисту (АОЗ) [4]. За нормальних фізіологічних умов життєдіяльності організму швидкість ПОЛ і активність АОЗ зрівноважені. Проте при дії патологічних факторів рівновага зміщується в бік активізації процесів ПОЛ, що є потенційною передумовою виникнення оксидативного стресу та відіграє провідну роль у розвитку патологій різної етіології. Продукти вільнорадикального перекисного окиснення (малоновий діальдегід та дієнові кон'югати) виступають маркерами ушкодження тканин, оскільки за їх вмістом можна судити про інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів у різних системах організму [5]. Ці речовини володіють цитотоксичною та мутагенною дією, що призводить до порушення метаболізму клітин. Їх вплив нівелюється антиоксидантами (АО) – хімічними речовинами, що мають здатність зв'язувати вільні радикали, зменшуючи інтенсивність процесів окиснення в організмі [4, 6].

Рядом досліджень доведено позитивний вплив  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти [7], кверцетину [8-10] та «Тріовіту» [11] на гальмування процесів ПОЛ та підтверджено їхні потужні антиоксидантні властивості. Проте комплексна дія цих антиоксидантів не досліджувалася, тому актуальним є пошук і вивчення безпечних та ефективних комбінацій препаратів, які будуть гальмувати процеси ПОЛ.

Мета роботи – встановити вплив одноразового введення різних комплексів антиоксидантів на динаміку показників ПОЛ та ферментну ланку системи АОЗ печінки щурів за умов експериментального гострого гепатиту.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на білих лабораторних щурах-самках лінії Вістар масою 280 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Протягом усього експерименту щурів утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні компоненти. Питну воду тварини отримували без обмежень з поїлок об'ємом 0,2 л. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Тварин було поділено на 4 групи по 6 особин у кожній: I група – контроль (інтактна); II – гострий токсичний гепатит, викликаний шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення розчину сірчанокислого гідразину (100 мг/кг); III – гепатит + «Тріовіт» (50 мг/кг) та препарат «Кверцетин» (20 мг/кг); IV – гепатит + «Тріовіт» (50 мг/кг), препарат «Кверцетин» (20 мг/кг) та ліпоєва кислота (100 мг/кг). Комплекс препаратів щури отримували *per os* відразу ж після введення розчину сірчанокислого гідразину. Тварин виводили з експерименту під етерним наркозом, декапітацію проводили через 24 години від початку експерименту. Видаляли печінку, промивали її у фізіологічному розчині та використовували для подальших досліджень.

Рівень маркерів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів (ДК) визначали за здатністю утворювати спряжені подвійні зв'язки за наявності вільних радикалів у молекулах поліненасичених вищих жирних кислот за методом Левицького та ін. [12]. Кількість ТБК-активних продуктів визначали фотометрично за концентрацією забарвленого комплексу, що утворюється при взаємодії малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) при нагріванні у кислому середовищі за методом Стальної [13]. Кількість ДК та МДА виражали в мікромолях цих продуктів на 1 мг протеїну мітохондріальної фракції. Активність супероксиддисмутази (СОД), (КФ 1.15.1.1.) визначали за здатністю СОД конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони за методом Чевари [14]. Активність СОД виражали в умовних одиницях. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за здатністю перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий жовтогарячий комплекс за методом Корольок та ін. [15]. Активність каталази виражали в мкат/кг у мітохондріальній фракції.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою програми BioStat 2008 5.8.4.3 для Windows. Вірогідність різниці між вибірками оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Розбіжності вважали вірогідними за  $P < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як свідчать результати одержаних даних, після внутрішньоочеревинного введення сірчанокислого гідразину тваринам дослідних груп спостерігаємо розвиток гострого токсичного гепатиту, що підтверджується вірогідною зміною досліджуваних показників. Підвищення рівня ДК у печінці тварин другої групи на 78,05 % (табл. 1) порівняно з інтактом свідчить про активізацію процесів ПОЛ. Уведення «Тріовіту» та кверцетину тваринам третьої групи на тлі гострого гепатиту призводить до зниження рівня ДК порівняно з другою групою, що не отримувала антиоксидантів на 45 %, проте отримані показники є вищими ніж у інтакту на 22,8 %. У тварин четвертої групи, що отримували «Тріовіт», кверцетин та ліпоєву кислоту, на тлі гострого гепатиту спостерігалось зниження ДК у порівнянні з тваринами другої групи, однак при порівнянні з інтактною групою ці показники були досить

високими. Отримані дані свідчать про позитивний вплив застосування комплексів антиоксидантів на показники ДК у тварин як III так і IV груп. Проте комплекс антиоксидантів, що містив  $\alpha$ -ліпоеву кислоту, суттєво не знижував показників ДК порівняно з комплексом антиоксидантів III групи.

Таблиця 1 – Показники прооксидантно-антиоксидантного статусу в печінці щурів

Групи щурів	Дієнові кон'югати, ммоль/кг n=6	МДА, ммоль/кг n=6	Каталаза, мкат/кг n=6	СОД, од/кг n=6
Інтактна група	9,66 ± 1,65	49,23 ± 6,31	5,68 ± 0,15	1002 ± 29
II група	17,20 ± 1,10 $p_1 < 0,05$	58,57 ± 6,45 $p_1 > 0,05$	5,84 ± 0,08 $p_1 > 0,05$	832 ± 22 $p_1 < 0,05$
III група	11,86 ± 1,69 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	54,21 ± 6,09 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	5,75 ± 0,06 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	876 ± 19 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
IV-група	16,56 ± 1,51 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 < 0,5$	84,67 ± 5,53 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	5,70 ± 0,08 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	714 ± 33 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$

Примітка:  $p_1$  – порівняння з інтактною групою;  $p_2$  – порівняння з II групою;  $p_3$  – порівняння з III групою.

Малоновий діальдегід (МДА) є проміжним продуктом перекисного окиснення ліпідів, тому його показники є також важливими маркерами інтенсивності перекисного окиснення ліпідів. При введенні гідразин сульфату спостерігаємо зростання показників МДА на 19 % (табл. 1) порівняно з інтактною групою. Уведення кверцетину та «Тривіту» тваринам третьої групи на фоні введення сірчанокислого гідразину призвело до невірогідного зниження показників МДА порівняно з другою групою, проте ці показники були вищими ніж в інтактної групи на 10,1 %. При введенні комплексу антиоксидантів тваринам четвертої групи ми отримали найвищі показники МДА серед усіх груп. Вони на 56,19 % вищі ніж у третій дослідній групі та на 72 % більше ніж в інтактної групи. Показники МДА в четвертій групі були вищими на 44,6 % ніж у групі тварин, що не отримували лікування антиоксидантами.

Зростання вмісту продуктів ПОЛ у печінці можна пояснити пошкодженням мембран гепатоцитів токсичним метаболітом унаслідок пероксидації фосфоліпідів та поліненасичених жирних кислот.

Активізація процесів перекисного окиснення ліпідів призводить до розвитку окисного стресу. Важливою ланкою захисту організму від окисного стресу є антиоксидантна система. До основних маркерів ферментної ланки антиоксидантного захисту відносять каталазу та супероксиддисмутазу (СОД), що сповільнюють процеси утворення вільних радикалів та інактивують надлишок активних форм кисню.

Під час проведення експерименту у тварин всіх дослідних груп достовірної зміни активності каталази в печінці не спостерігається (табл. 1).

При введенні сірчанокислого гідразину у тварин другої групи спостерігається зниження рівня СОД на 20,43 % в порівнянні з інтактом (табл. 1). При введенні кверцетину та «Тривіту» тваринам третьої групи рівень СОД підвищився на 5,3 % порівняно з групою, що не отримувала лікування антиоксидантами, проте ці показники були на 14,4 % нижчими від рівня інтакту. При корекції окисного стресу комплексом антиоксидантів у складі кверцетину, «Тривіту» та ліпоевої кислоти рівень СОД знизився на 22,7 % по відношенню до показників тварин третьої групи та на 40,3 % відносно інтактної групи. Показники рівня СОД у тварин четвертої групи були навіть нижчими на 16,5 % ніж у тварин другої групи, що не отримували лікування антиоксидантами.

Суттєве зменшення кількості МДА та ДК у тварин третьої дослідної групи вказує на потужні антиоксидантні властивості застосованих речовин і їх здатність активізувати ензими антиоксидантного захисту, які знижують кількість окиснених продуктів у клітині. Активізація СОД є позитивною ознакою гальмування процесів утворення окисних продуктів і активізацією адаптивних процесів за умов ксенобіотичного впливу.

Перспектива подальших досліджень – оцінка динаміки показників перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту за умов тривалого оксидативного стресу при корекції комплексами антиоксидантів.

### ВИСНОВКИ

1. Одноразове введення гідразин сульфату призводить до деструктивних змін, які спричинені активізацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, що підтверджується вірогідними змінами показників ДК, МДА, СОД.
2. Комплекс антиоксидантів, що містить «Тривіт» та кверцетин позитивно впливає на стан перекисного окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту печінки за умов окисного стресу за рахунок підвищення адаптаційних процесів, що супроводжуються зростанням активності СОД та зменшенням рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів – МДА та ДК.
3. Використання комплексу «Тривіт» + кверцетин + ліпоєва кислота зумовило зростання МДА, суттєво знизило рівень СОД та майже не вплинуло на показники ДК порівняно з тваринами, що не отримували лікування антиоксидантами.
4. Використання комплексу «Тривіт» + кверцетин є більш ефективним для лікування гострих гепатитів.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Антонова Е. И., Цебржинский О. И. Влияние биологически активных веществ на прооксидантно-антиоксидантную систему печени: монография. Кременчуг: Изд. КНТУ, 2012. 160 с.
2. Begriche K., Massart J., Robin M.-A. & Borgne – Sanchez A. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. *Bernard Fromenty Journal of Hepatology*. 2011. № 54 (4). P. 773-794.
3. Mitochondria and the lectin pathway of complement / Brinkmann C.R. et al. *The Journal of Biological Chemistry*. 2013. № 288 (12). P. 8016-8027.
4. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Киев: Чернобыльинтеринформ, 1997. Ч. 1. 202 с.
5. Барабой В. А. Биоантиоксиданты: монография. Киев : Книга плюс, 2006. 462 с.
6. Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму. *Рибогосподарська наука України*. Київ, 2009. № 1. С. 133-139.
7. Карлович Т. И., Ильченко Л. Ю. Альфа-липоєвая кислота в гепатологии. *Здоровье Украины*. 2009. № 21 (1). С. 28-29.
8. Присяжнюк В. П. Особливості використання кверцетину в комплексному лікуванні хворих на цироз печінки невірусного походження. *Вісник наукових досліджень*. Тернопіль, 2013. № 2. С. 25-27.
9. Вильчинская Т. В. Кверцетин и его роль как антиоксиданта, цитостатика и онкопротектора. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2014. № 1-2. С. 55-58.

10. Доркина Е. Г., Сергеева Е. О., Оганесян Э. Г. Влияние биофлавоноидов на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему печени крыс при остром алкогольном отравлении. *Вестник ВолГМУ*. Волгоград, 2007. № 3 (23). С. 50-52.
11. Чимпой К. А. Особливості корекції порушень тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. Київ, 2015. № 1. С. 78-80.
12. Левицький А. П. Макаренко О. А., Ходаков И. В. Методы исследования жиров и масел: методические рекомендации. Одесса: Кп «ОГТ», 2015. 32 с.
13. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии* / ред. В. Н. Орехович. Москва : Медицина, 1977. С. 66-68.
14. Чевари С. Роль СОД в окислительных процессах и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985. №11. С. 678-680.
15. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова Н. Т. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16-18.

УДК 612.699:Д13.11(477.64-2)

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-09>

## **МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕЯКУЛЯТУ ЧОЛОВІКІВ НА ФОНІ РІЗНОГО ГОРМОНАЛЬНОГО СТАНУ**

Романова М. Д., Єщенко Ю. В., Бовт В. Д., <sup>1</sup>Добродуб І. В., <sup>1</sup>Якубенко Д. С.

*Запорізький національний університет*

*69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

<sup>1</sup>*ДЦ «Медлайф-Біо»*

*69061, Україна, Запоріжжя, вул. Жаботинського, 32*

vd.bovt@gmail.com

Досліджено гормональний статус чоловіків відповідно до віку (I група – чоловіки від 19 до 30 років (15 осіб), II група – від 30 до 40 років (34 особи) та III група – від 40 до 60 років (28 осіб) і параметри їх еякуляту та рівень простатичної кислоти фосфатази (ПКФ). Отримані результати вказують, що в чоловіків, починаючи із 30-річного віку, знижується концентрація головного андрогена – тестостерону. Хоча у всіх обстежених чоловіків рівень гормонів у нормі, результати інших параметрів репродуктивної системи мали патологічні значення. Ми спостерігали зміни в еякуляті та підвищення ПКФ, які негативно відображаються на фертильності чоловіків. Отже, рівень тестостерону у 30-річних чоловіків і старше не забезпечує в повному обсязі фізіологічного функціонування статевої системи, унаслідок чого репродуктивна система зазнає незворотних змін, які призводять до відхилення параметрів еякуляту від норми та порушення функції простати, що виражається в збільшенні ПКФ.

*Ключові слова: віковий андрогенний дефіцит, андропауза, фертильність, сперматозоїди, тестостерон.*

Romanova M. D., Eshenko Yu. V., Bovt V. D., <sup>1</sup>Dobrodub I. V., <sup>1</sup>Jakubenko D. S. MORPHO-FUNCTIONAL FEATURES OF MEN'S EJACULATE ON THE BACKGROUND OF DIFFERENT HORMONAL STATE / Zaporizhzhya National University, 69600, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky, 66, <sup>1</sup> «DC «Medlife-Bio», 69061, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhabotinsky, 32

Hormones are the «conductors» of the body. We studied hormonal level of man all ages. Andropause is more and more serious problem of male health, which leads to more detailed study. Age androgen deficiency cause decrease of sexual function. Age androgen deficiency is a clinical and biochemical syndrome, associated with testosterone deficiency. Testosterone is main hormone of men health, sexual function, lipid metabolism, bone tissue metabolism, muscle mass, regulation of hemopoiesis, immune functions. We measured concentration of sex hormones, prostatic acid phosphatase, ejaculat parameters and made photographs of pathological spermatozoa's. We studied the concentrations such hormones as:

testosterone, estradiol, prolactin, follicle-stimulating and luteinizing hormones; the parameter of the ejaculate and the level of prostatic acid phosphatase (PAP) in 3 groups of men – group I – age from 19 to 30 years (15 people), II group – from 30 to 40 years (34 people) and III group – from 50 to 60 years (28 people). The average age was  $42,29 \pm 13,60$  years. In all three groups concentration of hormones does not come out the reference intervals, but clearly shows a tendency decrease concentration of the main male hormone – testosterone and increase other hormones. Such changes are lead to abnormal function of the reproductive system. The results shown that 30-year-old men begins decrease concentration of the main male androgen – testosterone. As a result, the sexual system undergoes irreversible changes. It was confirm results of parameters of ejaculate (decrease in volume, increase in viscosity and pH, the presence of agglutination and an increase in the degenerative forms of spermatozoa). Also was investigated prostate function, which is expressed in an increase concentration PAP in 2 times. In photographs we saw changes of ejaculate in over 30 years old men. As the result, we shown that 30-ages man are in risk group, because their fertility is go down and timely correction is required.

*Key words: age-related androgen deficiency, andropause, fertility, spermatozoa, testosterone.*

## ВСТУП

Гормони регулюють роботу всіх систем та процесів у всіх живих організмах, зокрема людини. У більшості ендокринних органів людини з віком відбуваються фізіологічні зміни, які призводять до атрофії та фіброзу, внаслідок чого зменшується секреція гормонів, а отже, виникає дефіцит гормонів. Зокрема зменшення секреції статевих гормонів викликає в чоловіків андропаузу. Андропауза стає все серйознішою проблемою чоловічого здоров'я, що спонукає до більш детального вивчення вченими.

Віковий андрогенний дефіцит (ВАД) – клінічний і біохімічний синдром, пов'язаний зі збільшенням віку чоловіків і виявляється характерними клінічними симптомами в поєднанні з дефіцитом сироваткового тестостерону (нижче референтних значень для здорових чоловіків); ВАД може бути викликаний тестикулярною і / або гіпоталамо-гіпофізарною дисфункцією (за визначенням The Sexual Medicine Society of North America) [1].

Тестостерон відповідає за репродуктивне здоров'я чоловіків, статеву функцію, жировий обмін, метаболізм кісткової тканини, м'язову масу, силу; бере участь у регуляції гемопоезу, імунних функцій; впливає на когнітивні функції та поведінку [2].

Андропауза включає компоненти первинного і вторинного гіпогонадізму. Первинний гіпогонадізм – результат функціональної недостатності яєчок зі зниженням рівня тестостерону і підвищенням рівня гонадотропних гормонів – лютеїнізуючого (ЛГ), фолікулостимулюючого гормонів (ФСГ) – і супроводжується порушенням сперматогенезу [3].

Вторинний гіпогонадізм виникає в результаті порушення центрального рівня регуляції: дефіциту гонадотропних гормонів (дисфункція гіпофіза) або гонадотропін-релізінг-гормону (дисфункція гіпоталамуса), які можуть бути вродженими або виникати через різні патологічні процеси, включаючи пошкодження гіпоталамуса й гіпофіза в результаті травм, пухлин або радіаційного опромінення. При вторинному гіпогонадізмі знижений рівень тестостерону при нормальному або зниженому вмісті ЛГ і ФСГ. Водночас популяційні дослідження і клінічна практика показали, що не завжди можливо точно розмежувати первинний та вторинний гіпогонадізм [4].

Андрогени, естрогени, гормони гіпофізу, стероїдні гормони контролюють структуру і функцію простати. Секрет, який утворює залоза, бере участь у процесах розрідження еякуляту й виконує захисну функцію. Різні частини простати мають неоднакову чутливість: андрогени стимулюють задню частину залози, естрогени – передню ділянку. Як гормонозалежний орган передміхурова залоза є основною мішенню андрогенів яєчка, тому андрогенний дефіцит переважно призводить до порушення функції простати. Внаслідок цього простатична кисла фосфатаза з клітин залози потрапляє в кровотік. Рівень ПКФ визначають для оцінки роботи простати та ступеня порушення її роботи [5].



Виявлено, що останнім часом прослідковується тенденція до збільшення людей старших вікових груп [4]. Оскільки вікові особливості гормонального статусу в чоловіків різних вікових груп вивчені недостатньо, це спонукало нас до проведення дослідження.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Було досліджено еякулят та сироватку крові 77 чоловіків, що проживають у місті Запоріжжя. Середній вік чоловіків склав  $42,29 \pm 13,60$  роки, які були поділені на 3 групи: I група – чоловіки від 19 до 30 років (15 осіб, умовно здорові чоловіки – контрольна група), II група – від 30 до 40 років (34 осіб) та III група від 40 до 60 років (28 осіб).

Проведено вимірювання концентрації статевих гормонів (тестостерон, естрадіол, пролактин, фолікулостимулюючий та лютеїнізуючий гормони) у сироватці крові, концентрацію простатичної кислоти фосфатази, параметрів еякуляту та зроблено фотографії патологічних змін сперми.

Чоловіки здавали сім'яну рідину згідно із правилами забору біоматеріалу [6] та особисто доставляли на аналіз безпосередньо в лабораторію. Забір венозної крові проводився згідно з інструкцією взяття біоматеріалу.

Аналіз спермограми проводився макро- і мікроскопічно за допомогою автоматичного аналізатора фертильності сперми АФС-500, виробництва Біола, Росія [7].

Макроскопічне дослідження включало оцінку розрідження та визначення рН. Мікроскопічне дослідження еякуляту проводилося згідно з рекомендацією ВООЗ у 2 етапи [8]. На першому етапі визначалися концентрація, рухливість, агрегація й аглютинація сперматозоїдів, а також наявність інших клітинних елементів та включень. Дослідження проводилося на нативних мазках із використанням світлової мікроскопії. На другому етапі проводилася морфологічна класифікація сперматозоїдів. Під час дослідження визначалися такі показники: загальна концентрація сперматозоїдів (млн/мл); загальна кількість сперматозоїдів в еякуляті (млн); морфологія сперматозоїдів.

Концентрацію тестостерону (Тес), естрадіолу (Е2), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), лютеїнізуючого гормону (ЛГ), пролактину (ПРЛ) визначали імуноферментним методом у сироватці крові з використанням стандартних наборів реактивів.

Концентрацію простатичної кислоти фосфатази визначали імунофлюорисцентним методом у сироватці крові з використанням стандартних наборів реактивів.

Дослідження проводилися на базі приватного діагностичного центру ТОВ «Медлайф-Біо» на основі договору про співпрацю від 15 березня 2017 року № 2-С.

Отримані дані статистично оброблені за допомогою комп'ютерної програми «STATISTICA 6.0».

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У чоловіків з віком змінюється рівень статевих гормонів, проте значне зниження або підвищення рівня норми призводить до ВАД. Вимірювали рівні гормонів Тес, Е2, ФСГ, ЛГ, ПРЛ порівнювали із нормами, вказаними в наборах реагентів виробників тест-систем. Отримані дані наведені в таблиці 1.

Як бачимо із табл. 1, рівень тестостерону, із збільшенням віку чоловіків, знижується майже у 2 рази, а концентрація Е2, ФСГ, ЛГ та ПРЛ, навпаки, збільшується, проте всі результати не виходять за референтні значення. Однак такий гормональний дисбаланс вже призводить до зміни показників спермограми тому, що тестостерон є головним андрогеном у чоловіків, який регулює сперматогенез та визначає фертильність.

Таблиця 1 – Рівень статевих гормонів у сироватці крові обстежених чоловіків.

№ п/п	Параметр	Референтний інтервал	I група	II група	III група
1	Тестостерон, нг/дл	262-870	762,9 ± 132,1	408,3 ± 106,9*	333,02 ± 114,23*
2	Естрадіол, пг/мл	7,9-81,6	35,3 ± 5,5	53,7 ± 6,9*	71,2 ± 8,1***
3	Фолікулостимулюючий гормон, мМО/мл	1-10,5	3,45 ± 1,4	7,7 ± 1,6*	8,9 ± 1,62*
4	Лютеїнізуючий гормон, мМО/мл	0,8-12	4,3 ± 1,7	9,5 ± 1,97*	10,2 ± 2,07*
5	Пролактин, мМО/мл	57-600	365,34 ± 27,4	467,4 ± 33,1*	512,4 ± 39,8**

Примітка: \* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,05$ ; \*\* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,01$ ; \*\*\* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,001$ .

Далі було досліджено у всіх 3 групах чоловіків еякулят, отримані результати аналізували відносно встановлених норм показників ВООЗ для спермограми. Дані наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Фізико-хімічні показники спермограми в обстежених чоловіків

№ п/п	Параметр	I група	II група	III група
1	Об'єм, мл	3,68 ± 0,63	2,82 ± 0,39*	2,61 ± 0,5
2	В'язкість, см	0,91 ± 0,19	1,49 ± 0,21*	1,88 ± 0,4*
3	pH, од	7,46 ± 0,22	7,67 ± 0,34	7,86 ± 0,27

Примітка: \* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,05$ .

Як видно із табл. 2, із віком об'єм еякуляту у III групі зменшується у 1,4 разу порівняно з I групою, а в'язкість та pH сперми підвищується, що свідчить про порушення функції простати (зміни виділення її секрету).

Також проаналізовано морфофункціональні параметри еякуляту, результати наведено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Морфологічні показники спермограми у досліджуваних групах чоловіків

№ п/п	Параметр	I група	II група	III група
1	Кількість сперматозоїдів, млн	432,76 ± 34,56	303,32 ± 18,57**	280,6 ± 19,4***
2	Нормальні морфологічні форми сперматозоїдів, %	48,67 ± 3,12	36,47 ± 2,45**	22,68 ± 7,94**
3	Аглютинація, наявність %	0	3	14
4	Лейкоцити, в п/з	1,65 ± 0,78	2,81 ± 1,14	8,11 ± 1,96
5	Еритроцити, %	0	1	8
6	Сперміофаги, %	0	2	34

Примітка: \* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,05$ ; \*\* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,01$ ; \*\*\* – достовірна різниця порівняно з відповідними показниками з I групою чоловіків з  $p < 0,001$ .

Результати морфофункціональних параметрів також вказують на зниження фертильності, оскільки кількість сперматозоїдів та їхні нормальні морфологічні форми знижуються з віком. А такі показники, як наявність аглютинації, еритроцитів та сперміофагів до 30 років відсутні, а у II групі вже трапляються поодинокі, а у III групі їх відсоток значно зростає.

Для оцінки рівня андрогенного дефіциту визначали концентрацію простатичної кислої фосфатази в сироватці крові чоловіків. Результати порівнювали з референтним значенням, вказаним в інструкції до набору реагентів – норма до 1,2 нг/мл. Отримано такі результати: у I групі концентрація ПКФ становила  $0,55 \pm 0,11$  нг/мл, у II групі її рівень був майже у 2 рази вищим порівняно з даними I групи –  $0,96 \pm 0,17$  нг/мл ( $p < 0,05$ ). У III групі концентрація ПКФ була вищою ніж у 2 рази порівняно з I групою обстежених чоловіків  $1,16 \pm 0,19$  нг/мл ( $p < 0,01$ ).

Із наведених даних зрозуміло, що після 40 років формування андрогенного дефіциту веде до порушення функції простати, що призводить до морфофункціональних змін еякуляту, які спричиняють зниження фертильності таких чоловіків. Причиною цьому є, виділений фізіологічно зміненою віком та іншими зовнішніми факторами простатою, секрет, який не здатний в повноцінному обсязі забезпечити пересування сперматозоїдів сім'явиносною протокою та всіма необхідними речовинами. Під час досліджень зроблено фотографії, на яких зафіксовано різноманітні патологічні зміни спермограми.

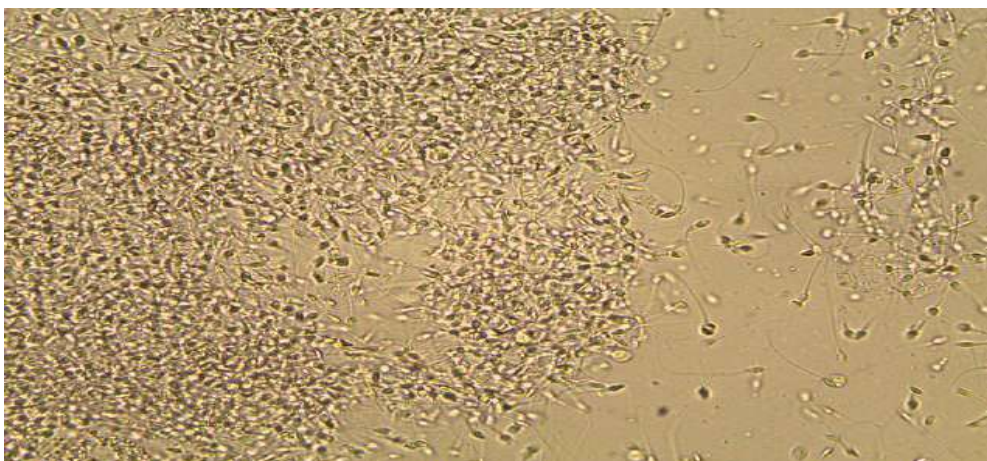


Рис. 1. Аглютинація сперматозоїдів. Збільшення мікроскопа  $\times 80$

На рис. 1 видно наявність аглютинації – склеювання рухливих сперматозоїдів один з одним в окремі конгломерати. Аглютинація сперматозоїдів виникає в результаті порушення гематотестикулярного бар'єру. Як наслідок, сперматозоїди починають контактувати з імунною системою, тоді чоловічий організм виробляє особливі білки – антиспермальні антитіла, які розташовуються на поверхні гамет. Це й провокує порушення їхньої рухливості внаслідок склеювання. Таке порушення значно знижує здатність до запліднення чоловіків [9].



Рис. 2. Дегенеративні сперматозоїди: А – патологія хвоста; Б – патологія головок сперматозоїдів. Збільшення мікроскопа  $\times 80$

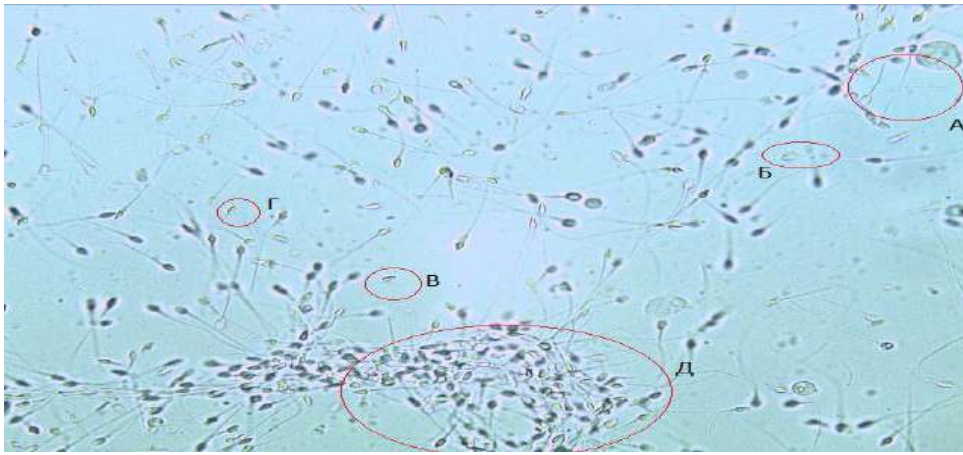


Рис. 3. Дегенеративні сперматозоїди: А – патологія хвоста (наявність 2-х хвостів); Б – патологія шийки сперматозоїда; В – патологія хвоста; Г – патологія шийки, Д – аглютинація сперматозоїдів. Збільшення мікроскопа  $\times 80$

Як видно на рис. 2 та рис. 3, більшість сперматозоїдів є дегенеративними, фотографії еякуляту зроблені в чоловіків II та III групи зі зниженим рівнем тестостерону та підвищеним рівнем ПКФ – маркером запальних захворювань простати. Тератозооспермія переважно пов'язана з дефектними змінами хвоста сперматозоїда, що знижує фертильність сперми. Оскільки сперматозоїд не може функціонально рухатися для досягнення яйцеклітини і запліднити її.

Менше наявні сперматозоїди з патологією головки, що також не дозволяє нормально запліднити яйцеклітину тому, що в голівці розташована акросома, яка містить протеолітичні ферменти для руйнування клітинної оболонки яйцеклітини, а також найголовніше це вміст генетичної інформації – гаплоїдний набір хромосом для формування зиготи.

Найменше зустрічається патологія шийки сперматозоїда. Цей дефект переважно впливає на активність, швидкість руху та його напрям. Якщо шийка дефектна, тоді рух сперматозоїда стає хаотичним [10].

Результати проведених визначень рівня статевих гормонів та параметрів еякуляту в чоловіків різного віку, що проживають у місті Запоріжжя показали, що фертильність чоловіків знижується після 30 років. Такий процес відбувається внаслідок падіння рівня «головного андрогена» чоловічого організму – тестостерону. Фізико-хімічні та морфофункціональні параметри еякуляту з віком теж змінюються, виникає аглютинація сперматозоїдів, виявляється велика кількість еритроцитів та лейкоцитів, що може свідчити про запальні явища передміхурової залози.

Як відомо з літературних даних, дефіцит андрогенів порушує функції простати. Збільшення концентрації ПКФ у кров'яному руслі вказує на порушення функції даної залози [11]. Рівень ПКФ підтверджує результати спермограми. Проведений аналіз еякуляту всіх 77 чоловіків вказує на зниження кількості прогресивно рухливих сперматозоїдів із віком. Ймовірність запліднення з такими показниками рухливості є низькою. На це найбільшою мірою впливає в'язкість та слиз у еякуляті, що веде до аглютинації та агрегації сперматозоїдів. Однозначно, що до зміни параметрів еякуляту призводять багато факторів, таких як наявність інфекцій, хронічні запальні захворювання, а також гормональний дисбаланс.

Встановлено, у всіх трьох групах значення статевих гормонів у межах референтних значень. Однак для забезпечення нормального функціонування репродуктивної системи концентрація тестостерону виявилась недостатньою, та повинна бути не нижче рівня, як у I групи чоловіків.

Для забезпечення репродуктивної функції чоловіка важливим є розуміння та встановлення «точки відліку», після якої ймовірність безпліддя підвищується. Аналіз проведених обстежень дозволяє виявити вік, після якого фертильність поступово знижується. Такий результат є

важливим у сучасному світі, оскільки спостерігається тенденція, зокрема і в Україні, до збільшення віку батьківства та виявлення безпліддя [12].

Отже, проведені дослідження показали, що з 30-річного віку відбувається формування дисгормонального стану, а після 40 років – взагалі значне його поглиблення. Усе це може загрожувати безпліддям чоловікам.

На основі отриманих даних, перспективами для подальших досліджень є визначення концентрації цинку, фруктози та цитрату в спермі чоловіків різних професій у місті Запоріжжі.

### ВИСНОВКИ

1. У чоловіків, що досягли 30-річного віку, відзначається наявність вікового дисгормонального стану, який характеризується зниженням рівня тестостерону вдвічі та підвищенням рівнів естрадіолу, пролактину, фолікулостимулюючого, лютеїнізуючого гормонів у 1,5 рази. У чоловіків віком 40-60 років відзначається поглиблення патологічних змін і наявність вираженого дисгормонального стану.
2. За результатами досліджень еякуляту в трьох групах виявлено морфо-функціональні зміни та відхилення від норми: зменшення об'єму в 1,4 раз у II і III групі; кількості сперматозоїдів майже в 1,5 рази ( $p < 0,05$  і  $p < 0,001$  відповідно); наявність аглютинації, еритроцитів, сперміофагів та значної кількості лейкоцитів, що є пропорційним до збільшення віку чоловіків.
3. Встановлено вік початку формування андрогенного дефіциту. Формування гормонального дисбалансу в чоловіків починається після 30 років, та, очевидно, призводить до порушення функції простати, і, як наслідок, до збільшення рівня простатичної кислоти фосфатази у II та III групі майже у 2 рази ( $p < 0,05$  і  $p < 0,01$  відповідно). Що відображається на зниженні фертильності та відхиленні від норми результатів дослідження еякуляту, що залежить від функціонального стану залози, та може загрожувати безпліддям чоловікам.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Heinemann L. A. J. Aging males' symptoms: AMS scale – a standardized instrument for the practice. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2005. № 28. P. 34-38.
2. Калініченко С. Ю., Тішова Ю. А., Ворслов Л. О. Віковий андрогенний дефіцит у чоловіків: питання термінології та сучасні підходи до вибору методу замісної гормональної терапії. *Урологія*. 2006. № 6. С. 28-34.
3. Резніченко Н. Ю. Зміни метаболізму у чоловіків різного віку та шляхи їх корекції. *Здоров'я чоловікини*. 2014. № 1(48). С. 47-50.
4. Резніченко Н. Ю., Дюдюк А. Д. Особливості гормонального статусу у чоловіків різних вікових груп і можливості їх корекції. *Урологія*. 2014. № 3(18). С. 12-16.
5. Jingdong S. Transcriptional regulation of the human prostatic acid phosphatase gene. Tissue-specific and androgen-dependent regulation of the promoter constructs in cell lines and transgenic mice. University Hospital of Oulu, 2012. P. 66.
6. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard / Ernst D. J., et all. Sixth Edition. USA, 2007. 41 p. – URL: [http://shop.clsi.org/site/Sample\\_pdf/H3A6\\_sample.pdf](http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/H3A6_sample.pdf).
7. Миронова Л. А. Руководство по эксплуатации спермоанализатора основных показателей фертильности спермы АФС– 500 – 2 . Москва: Биола, 2012. 5 с.
8. Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. Geneva : WHO, 2010. 223 p. – URL: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789_eng.pdf).

9. Божедомов В. А. Мужское иммунологическое бесплодие (этиология, патогенез, диагностика, лечение) : автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.00.36. М.: РМАПО, 2001. 46 с.
10. Guidelines on Male Infertility/ A.Jungwirth, et. all.. European Association of Urology, 2015. 42 p. – URL: [http://uroweb.org/wp-content/uploads/17-Male-Infertility\\_LR1.pdf](http://uroweb.org/wp-content/uploads/17-Male-Infertility_LR1.pdf).
11. Tanaka M., Kishi Y., Takanezawa Y., Kakehi Y., Aoki J., Arai H. Prostatic acid phosphatase degrades lysophosphatidic acid in seminal plasma. *FEBS Lett.* 2014. P. 197-204.
12. Ворник Б. М. Психологические аспекты бесплодного брака. *Здоровье мужчины.* 2012. № 4. С. 146-149.

УДК 616-005.1-7:615.466

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-10>

## ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗУПИНКИ КРОВОТЕЧІ ЗА ДОПОМОГОЮ «СІЧ-ТУРНИКЕТА»

Степанова Н. В., Скоба В. С., Мікаелян Г. Р., Прокопченко О. Є., Потоцька О. І.

*Запорізький державний медичний університет  
69035, Україна, Запоріжжя, вул. Маяковського, 26*

nadin2501s@gmail.com  
vladyslav.skoba@gmail.com

Статтю присвячено вивченню ефективності зупинки кровотечі за допомогою «СІЧ-Турнікета», який у 90 % випадків надає можливість уникнути тяжких наслідків крововтрати при ураженні кінцівок. Постає питання: «Чи дійсно є доцільним накладання турнікета на 2 години, з 2-3 обертами закрутки турнікета (згідно протоколу), та які зміни будуть виникати в кінцівці нижче турнікета та в організмі в цілому?» Тестування проводились на добровольці при різній кількості обертів закрутки турнікета на певні проміжки часу з контролем суб'єктивних та об'єктивних даних фізіологічними методами обстеження. Отримані результати свідчать про доцільність використання «СІЧ-Турнікета» для зупинки кровотечі, але ж при 3 обертах закрутки турнікета спостерігаються зачі негативні наслідки для травмованої кінцівки і організму загалом. Достатньо проводити 1,5-2 оберти закрутки турнікета для повного припинення кровотечі, але визначення максимально можливого часу фіксації турнікета вимагає поглибленого дослідження і уточнення, що й буде метою подальшої наукової роботи.

*Ключові слова: ефективність зупинки кровотечі, «СІЧ-Турнікет», наслідки використання згідно протоколу, фізіологічні показники.*

Stepanova N. V., Skoba V. S., Mikaelyan G. R., Prokopchenko E. E., Pototsckaya H. I. STUDY OF THE EFFICIENCY OF THE BLEACHING STOCK WITH «SICH-TOURNICKET» ASSISTANCE / Zaporozhzhya state medical university; 69035, Ukraine, Zaporizhzhya, Mayakovskogo avenue, 26

The subject of this study is an effectiveness of stopping bleeding by «SICH-Tourniquet» use. In the conditions of ATO in Ukraine numerous mortalities of the Armed Forces of Ukraine were attributed to the delayed first aid and it became necessary to study the effectiveness of hemostatic tourniquet use. According to official data on October 28, 2017, the number of casualties for the Armed Forces of Ukraine in the Donbass region was reported at 10,710 people. Experts have proven that out of all mortalities on the battlefield about 90 % of them could be eliminated by simply using a tourniquet to stop bleeding of limbs, restoring airway patency, and a rapid treatment of an intense pneumothorax. About 15-27 % of prehospital casualties could be saved if properly treated, namely, by stopping bleeding. Is it really advisable to apply a tourniquet for a duration of 2 hours with 2-3 revolutions of its handle and what changes will occur in the whole body?

The study of an effectiveness of stopping bleeding by «SICH-Tourniquet» use with different number of revolutions of its handle was conducted by controlling some subjective and objective data and other additional methods of observation.

The obtained results indicate that a quick application (or use) of «SICH-Tourniquet» stops bleeding. After analyzing the experiment with 1,5 and 2 revolutions of the tourniquet handle we received almost identical data in those series, but there were some differences as well. The differences can be noticed in the heart

rate increase at 1,5 revolutions compared with 2 revolutions. The heart rate at 1,5 was measured at 18 beats per minute, while at 2 revolutions the heart rate increased to 22 beats per minute, and at 3 revolutions up to 41 beats per minute, indicating a decreased pressure on the hemodynamic system at 1,5-2 revolutions compared with 3 revolutions. When studying the diameter of arteries the same indicators were observed: all arteries below the tourniquet experienced a lack of blood flow, and above it –  $a_{\text{subclavia}} = 0,9$  at 1,5-2 revolutions, which is smaller than at 3 revolutions (the diameter was 1,1) indicating less change in central hemodynamics. At the same time BM at 1,5 revolutions increased to 19, at 2 revolutions to 20, and at 3 revolutions the pain increased significantly to 24. There was also some indication of a decreased pressure on the respiratory system at 1,5-2 revolutions of the tourniquet handle compared with 3 revolutions. During the experiment subjective sensations were constantly changing: the pain was increasing at 3 revolutions to 10 points; and at 1,5-2 only to 7-8 points which was much easier tolerated by the subject. A rather intense feeling (according to the protocol we used no anesthetics) caused the study to stop on the 30<sup>th</sup> minute due to a feeling of numbness and a decreased sensitivity close to a complete anesthesia was observed at 3 revolutions; and at 1,5-2 revolutions - the severity of those feelings were significantly lower.

After conducting this research by the team of authors the following conclusions were made: 3 revolutions of the tourniquet handle could have negative effects on the injured limb and the whole body. It is sufficient to make 1,5-2 revolutions to stop bleeding efficiently. In order to determine the most optimal time for tourniquet application and use further study and verification will be required. It will be very important to develop a standard scale for tourniquet use and the effectiveness of the number of its handle revolutions for objective evaluation.

*Key words; an effectiveness of stopping bleeding, «SICH-Tourniquet», revolutions of the tourniquet.*

## **ВСТУП**

В умовах АТО в Україні смертність бійців залежить від своєчасної і якісної першої допомоги, що й зумовило необхідність у вивченні ефективності застосування кровоспинних турнікетів. За офіційними даними на 28 жовтня 2017 року бойові втрати ЗСУ на Донбасі становлять 10710 людей. Фахівцями доведено, що з усіх потенційно можливих причин смерті на полі бою, близько 90 % можна уникнути простим застосуванням джгута при кровотечі з кінцівок, відновлення прохідності дихальних шляхів та швидкого лікування напруженого пневмотораксу. Близько 15-27 % поранених, які гинуть, не потрапивши до лікувального закладу, можна врятувати, якщо вжити необхідних заходів, а саме зупинити кровотечу. Дослідження причин загибелі американських вояків у воєнних конфліктах після Другої світової війни засвідчили, що майже 90 % загинули через те, що їм несвоєчасно надали першу допомогу. Через кровотечі кінцівок живими до госпіталів не довели 60 % поранених. Щоб змінити ситуацію, армія почала шукати безпечний та ефективний засіб, який міг би зручно застосовуватися будь-яким бійцем, пораненим на полі бою [3].

Зараз золотим світовим стандартом у боротьбі з кровотечею кінцівок є САТ-турнікет (COMBAT APPLICATION TOURNIQUET), а в Україні одним з аналогів – «СІЧ-ТУРНИКЕТ», ефективність застосування якого, і є предметом дослідження. У протоколах надання першої медичної допомоги на полі бою [5] вказано, що при зупинці кровотечі «врятувальник» мусить накласти турнікет якомога проксимальніше від місця кровотечі, до її зупинки, закрутити закрутку на 2-3 оберти до відсутності дистального пульсу [2]. Також із різних джерел відомо, що в літній або зимовий час накладати турнікет дозволяється на 2 години [1, 2, 5].

Зназначене викликало інтерес: чи дійсно є доцільним накладання турнікета на 2 години, з 2-3 обертами закрутки [2] турнікета, та які зміни будуть виникати в мікроциркуляторному руслі та в організмі взагалі під час його використання в умовах тестування, що дозволить надалі визначити критично допустимий проміжок часу фіксації турнікета залежно від зміни обертового моменту сили закрутки.

## **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Дослідження проводилися на базі кафедри нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету в межах науково-дослідницької роботи студентів під керівництвом доцента кафедри Н.В. Степанової.

В обстеженні брав участь студент-доброволець, який дав письмову згоду. Дослідження проведено за однакових умов (положення тіла, лежачи на кушетці.) Однаковий температурний режим ( $t$  повітря приміщення  $\approx 25$  градусів). Турнікет накладався тільки на праву верхню кінцівку, якомога проксимальніше. Зі слів досліджуваної особи – проблеми зі здоров'ям – відсутні. На момент обстеження скарг не надає. Перед початком тестування обстежуваному були проведені антропометричні виміри, до яких входили: зріст, вага, об'єм кінцівки в місці накладення турнікета в стані спокою, які не змінювалися під час експерименту й були сталими.

На момент обстеження проводилося вимірювання АТ, ЧСС, ЧД, капілярного тесту,  $t$  кінцівки в ділянці анатомічної табакерки, тактильної чутливості, перед початком експерименту та з проміжками часу – кожні 5 хвилин після накладання турнікета. Також враховувалися суб'єктивні відчуття в обстежуваного, а саме інтенсивність болю від 0-10 балів з варіантами оцінки болю: 0 – немає болю; 2 – слабкий біль; 4 – помірний біль; 6 – сильний біль; 8 – дуже сильний біль; 10 – нестерпний біль. за вербальною описальною шкалою оцінки болю – *Verbal Descriptor Scale* [4]; та відчуття оніміння в кінцівці під час проведення тестування. Для дослідження капілярного тесту ми натискали на нігтьову пластину фаланги пальця, після цього візуалізується біла пляма, яка згодом заповнювалася кров'ю. Норма – до 2 секунд. Також під час дослідження було виявлено стійке оніміння, яке описувалося спеціальними термінами. Підтвердженням правильності накладання турнікета й зупинки кровотечі була відсутність пульсації на *a. radialis*, *a. ulnaris*, *a. humerus*, що підтверджувалося пальпаторно, а також і дуплексним скануванням апаратом УЗД (Aloka ASU-32 WL Echo Camera SSD-630) з урахуванням показника діаметра артерій нижче турнікета та відсутністю показників швидкості кровотоку. Також вимірювали діаметр на *a. subclavia* вище турнікета. Були використані тестувальні моделі: накладання турнікета на 3 оберти закрутки, на 2 та 1,5 оберта з подальшою реєстрацією фізіологічних показників.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Кожне обстеження проводилося за однаковим сценарієм, до граничної зони комфорту в досліджуваного. Спершу проведено тестування на 3-х обертах закрутки згідно з протоколом [2, 5], що дозволило отримати результати, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Динаміка основних фізіологічних показників до та після накладання турнікета при 3-х повних обертах закрутки

Показники	До накладання турнікета	На 5 хв експерименту	На 10 хв експерименту	На 15 хв експерименту
АТ, мм рт.ст	120/80	120/80	130/90	130/90
ЧСС, уд/хв	84	108	120	125
ЧД, за хв	12	13	16	24
Капілярний тест, с	1	3,8	7	10
Температура оболонки кінцівки, °С	36,6	33,6	32,9	32,5
Суб'єктивні відчуття	-	Сильне оніміння по всій кінцівці	Біль, оніміння тяжко рухати пальцями	Оніміння всієї кінцівки
Шкала болю (від 1-10)	0	6	8	Близько до 10
Тактильні відчуття (тест голкою)	Повні	Гіперестезія вище ліктьового суглобу. Анестезія до верхньої третини передпліччя	Анестезія кисті й передпліччя	Анестезія до місця накладання турнікета



Відчуття болю за шкалою було максимальним, що зумовило зупинку тестування на 15-й хвилині.

Аналіз отриманих результатів виявив такі зміни: підвищення артеріального тиску на 10 мм. рт. ст; ЧСС зросла на 41 уд/хв (тобто підвищення в 1,5 разу); частота дихання зросла у 2 рази з 12 до 24; капілярний тест з 1 с в спокої через 15 хв після накладання турнікета став 10с (підвищення в 10 разів); температура кінцівки впала на 4,1°С.

За 15 хвилин спостереження змінювались і суб'єктивні відчуття: постійно наростав біль до максимальної градації за шкалою болю, було виражене оніміння вже з 5-ї хвилини, відбувалося зниження чутливості аж до повної анестезії від фаланг пальців до верхньої частини передпліччя (табл. 1).

Усі артерії нижче турнікета мали мінімальний діаметр без наявності ознак току крові, а в *a.subclavia* діаметр збільшився майже вдвічі (табл. 2), що свідчить про порушення центральної гемодинаміки.

Таблиця 2 – Динаміка діаметра артерій (мм) нижче та вище турнікета при 3-х повних обертах закрутки турнікета

Назва артерії	0 хв	5 хв	10 хв	15 хв
<i>a. radialis</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. ulnaris</i>	0,3	0,1	0,1	0,1
<i>a. brachialis</i>	0,4	0,1	0,1	0,1
<i>a. subclavia</i>	0,6	0,7	0,9	1,1

Маючи в наявності такі значні зміни у фізіологічних показниках, що можуть призвести до негативних наслідків в тканинах нижче турнікета та під ним, ми вирішили зменшити силу тиску за рахунок зменшення обертового моменту сили, тобто при 2-х та 1,5 обертах закрутки з проведенням контролю тих самих фізіологічних показників у динаміці у того ж досліджуваного на другий день, що дозволяло забезпечити повернення показників до вихідного рівня. Отримані результати наведені в таблицях 3- 6.

Таблиця 3 – Динаміка основних фізіологічних показників до та після накладання турнікета при 2-х обертах закрутки

Показники	До накладання	На 5 хв	На 10 хв	На 15 хв	На 20 хв	На 25 хв	На 30хв
АТ, мм рт. ст	120/80	120/80	124/82	126/88	130/90	130/90	125/85
ЧСС, уд/хв	90	90	95	102	110	112	98
ЧД, за хв	12	14	15	20	22	20	20
Капілярний тест, с	1	3	4	6	7	9	10
Температура кінцівки °С	35,8	35,4	34,6	33,9	33,2	32,5	↓32
Суб'єктивні відчуття	-	Легке оніміння	Оніміння посилюється	Біль. оніміння кисті	Тяжко рухати фалангами пальців	Оніміння до ліктя	Оніміння по всій кінцівці
Шкала болю (від 1-10)	0	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8
Тактильні відчуття (тест голкою)	В повному обсязі	Притуплення по всіх дистальних фалангах кисті	Відсутня чутливість всіх фаланг кисті	Відсутня чутливість по всій кисті	Відсутня чутливість до середини передпліччя	Відсутня чутливість до верхньої третини передпліччя	Відсутня чутливість до ліктя

Таблиця 4 – Динаміка діаметра (мм) артерій нижче та вище турнікета до та після накладання турнікета при 2-х обертах закрутки

Назва артерії	0 хв	5 хв	10 хв	15 хв	20 хв	25 хв	30 хв
<i>a. radialis</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. ulnaris</i>	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. brachialis</i>	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. subclavia</i>	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9

Таблиця 5 – Динаміка основних фізіологічних показників до та після накладання турнікета на 1,5 оберта закрутки

Показники	До накладання	На 5 хв	На 10 хв	На 15 хв	На 20 хв	На 25 хв	На 30 хв
АТ, мм рт. ст	120/80	120/80	125/80	130/85	130/90	130/90	125/85
ЧСС, уд/хв	72	72	78	86	90	90	85
ЧД, за хв	12	14	15	18	20	20	19
Капілярний тест, с	1	3	4	6	7	9	10
Температура кінцівки, °С	36,2	35,8	35,2	34,9	33,0	32,5	↓32
Суб'єктивні відчуття	-	Легке оніміння	Оніміння посилюється	Біль, оніміння кисті	Тяжко рухати фалангами пальців	Оніміння до ліктя	Оніміння по всій кінцівці
Шкала болю (від 1-10)	0	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8
Тактильні відчуття (тест голкою)	В повному обсязі	Притуплення по всіх дистальних фалангах кисті	Відсутня чутливість всіх фаланг кисті	Відсутня чутливість всіх поверхонь кисті	Відсутня чутливість нижньої третини передпліччя	Відсутня чутливість нижче середини передпліччя	Відсутня чутливість до ліктя

Таблиця 6 – Динаміка діаметра (в мм) артерій нижче та вище турнікета до та після накладання турнікета при 1,5 оберта закрутки

Назва артерії	0 хв	5 хв	10 хв	15 хв	20 хв	25 хв	30 хв
<i>a. radialis</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. ulnaris</i>	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. brachialis</i>	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>a. subclavia</i>	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9

Проаналізувавши дослідження з 1,5 та 2-ма обертами закрутки турнікета, ми отримали практично однакові дані в цих серіях, але вони відрізнялися від попередньої серії (3 закрутки на турнікеті). Розбіжності можемо виділити в зменшенні наростання ЧСС при 1,5 обертах закрутки, порівняно з 2-ма обертами, тобто зростання ЧСС при 1,5 обертах відбулося на 18 уд/хв, водночас при 2-х обертах закрутки турнікета ЧСС зросла до 22 уд/хв, а при 3-х обертах підвищення ЧСС було максимальне – на 41 уд/хв, що свідчить про більше навантаження на систему гемодинаміки при 3-х обертах закрутки порівняно з ситуацією при 1,5-2 обертах закрутки. Дослідження діаметра артерій виявило однакові показники: на всіх артеріях нижче турнікета, діаметр зменшився до 0,1 мм і виявлені ознаки відсутності току крові при 1,5; 2 і 3 обертах закрутки, а вище турнікета на *a.subclavia* був 0,9 мм при 1,5-2 обертах, що менше ніж при 3-х обертах закрутки, коли діаметр дорівнював 1,1 мм. Саме це і вказує на наявність найменших змін у центральній гемодинаміці при 1,5 обертах турнікета. Водночас ЧД при 2-х обертах зростала до 20, при 1,5 обертах до 19, а при 3-х обертах біль значно зріс – до 24 дихальних рухів на хвилину, що також свідчить про зменшення навантаження на дихальну систему при 1,5-2 обертах закрутки турнікета порівняно з ситуацією при трьох обертах.

За час тестування постійно змінювалися суб'єктивні відчуття – зріс біль при 3-х обертах закрутки до 10 балів, а при 1,5-2-х обертах - до 7-8 балів, що свідчило про те, що при 1,5 та 2-х обертах закрутки турнікета відчуття болю значно легше переносилося досліджуваною особою, хоча і було досить інтенсивним (ми не використовували анестетиків згідно з протоколом), що й зумовило зупинку тестування на 30-й хвилині, хоча це тестування було у 2 рази триваліше, ніж при 3-х обертах (тобто на меншій силі стискання джгута суб'єктивні відчуття значно менш негативні). При порівнянні динаміки змін щодо відчуття оніміння в кінцівці при різній кількості обертів закрутки турнікета на 15 хвилині виявлені певні відмінності: при 3-х обертах спостерігалось відчуття оніміння та зниження чутливості до повної анестезії, а при 1,5-2-х – вираженість оніміння була значно меншою. При накладанні 1,2-2-х обертів турнікета впродовж 30 хв виявляли більш виражені відчуття оніміння та зниження чутливості.

У подальшому планується розширення кількості обстежених осіб для забезпечення статистично достовірного аналізу фізіологічних змін, які відбуваються під час та після накладання турнікета.

## ВИСНОВКИ

Проведене дослідження дозволяє зробити висновок, що 3 оберти закрутки турнікета, при накладанні на 2 години вкрай травматичне і може спричинити негативні наслідки для травмованої кінцівки й організму взагалі. Достатньо проводити 1,5-2 оберти закрутки турнікета для ефективно зупинки кровотечі, але визначення максимально можливого часу фіксації турнікета вимагає подальшого дослідження і уточнення, що й буде метою подальшої наукової роботи. Велике значення матиме розробка стандартної шкали дії сили обертального моменту для об'єктивної оцінки сили стискання м'яких тканин під турнікетом, що дозволить здійснити експериментальне дослідження на тваринах.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Березан С., Ротчук С. Тактична медицина для підрозділів спеціального призначення. Київ: 2016. 146 с.
2. Домедична допомога. Травма (алгоритм та маніпуляції): методичний посібник. Кирилюк В. О. та ін. Київ. 2017. 84 с.
3. Пінчук О. Л., Пінчук В. М., Навч. програма «Військовий медик на полі бою (Combat Medicine)». Київ: Україна, 2015. 259 с.
4. Харрисон Т. Р. Внутренние болезни. Москва: «МЕДИЦИНА» 1997. 3430 с.
5. Tactical Combat Casualty Care Guidelines. URL: <https://www.itstactical.com/medcom/tccc-medcom/2014-tccc-tactical-combat-casualty-care-guidelines>.

## РОЗДІЛ IV. ЕКОЛОГІЯ ТА ОХОРОНА ПРИРОДИ

УДК 606:628.3:57.017-037.87

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-11>ПЕРИФІТОН ВОЛОКНИСТОГО НОСІЯ «ВІЯ»  
АЕРОТЕНКУ ОЧИСНИХ СПОРУДДомбровський К. О., <sup>1</sup>Гвоздяк П. І.*Запорізький національний університет**69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*<sup>1</sup>*Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України**03142, Україна, Київ, бул. Академіка Вернадського, 42*

dombrov1717@ukr.net

Уперше досліджено особливості структурної організації перифітону волокнистого носія «ВІЯ» на різних глибинах аеротенку очисної споруди. У перифітоні волокнистого носія були присутні найпростіші (12 видів) та багатоклітинні безхребетні (6 видів). Встановлена загальна закономірність зниження чисельності перифітонних організмів волокнистого носія із глибиною для 4 виявлених трофічних груп (бактеріо-детритофагів, детритофагів, альгофагів та хижаків). Так, чисельність перифітонних організмів цих трофічних груп знижувалася від поверхні до глибини 4 м на 75-92 %. Загалом встановлено, що загальна чисельність та кількість видів перифітону волокнистого носія очисної споруди із глибиною зменшується від поверхні до глибини 4 м в березні на 23 % і 29 % та в липні на 77 % і 30 % відповідно. У перифітоні волокнистого носія очисної споруди серед виявлених еколого-морфологічних груп інфузорій домінували за чисельністю та кількістю видів рухомі планктонно-бентосні форми, чисельність яких у березні та липні становила 66 % і 52 % від загальної чисельності інфузорій.

*Ключові слова:* перифітон, структура, волокнистий носій, стічні води, очисні споруди, аеротенк.

Dombrovskiy K. O., <sup>1</sup>Gvozdiak P. I. PERIPHYTON OF FIBROUS CARRIER «VIYA» IN THE AERATION TREATMENT FACILITIES / Zaporizhzhia National University, Zhukovsky str., 66, Zaporizhzhia, 69600, Ukraine; <sup>1</sup>A. V. Dumansky Institute of Colloid and Water Chemistry of the National Academy of Science of Ukraine, Academician Vernadsky ave., 42, Kyiv, 03142, Ukraine.

The state of knowledge about the species composition, development dynamics, ecology and functioning peculiarities of the periphyton aggregations of the fibrous carrier in the treatment facilities is insufficient, and the study of the structural organization of the periphyton of «VIYA» type in the aeration treatment facilities (aerotank) at different water depths in Ukraine has been never conducted.

The purpose of the work was to study the peculiarities of the structural organization of the periphyton of the fibrous carrier at different water depths in the aeration treatment facilities.

For the first time, the peculiarities of the structural organization of the periphyton of the fibrous carrier «VIYA» at different water depths in the aeration treatment facilities were studied. The protozoans and metazoans invertebrates were present in the periphyton of the fibrous carrier. There were 12 taxa of the Protozoa subkingdom and 6 taxa of the Metazoa subkingdom among them. The protozoans were represented by infusoria (10 species) and 2 species of shell amoebae. The metazoans invertebrates were represented by rotifers (2 species), oligochaetes (2 species), tardigrades and nematodes – one taxon, respectively.

3 species, namely shell amoebae *E. laevis*, *A. vulgaris* and oligochaetes *D. digitata*, were present in the periphyton of the fibrous carrier at all studied water depths in the aeration treatment facilities in March. 5 species, namely *E. laevis*, *A. vulgaris*, *D. digitata*, *P. ovum* and *E. lupus*, were present in the periphyton of «VIYA» type in the aerotank in July.

The trophic structure of the periphyton aggregations of the fibrous carrier in the treatment facilities was represented by 4 groups in March, and by 5 groups in July.

The infusoria were among the bacteriodetritophages, which were represented by 5 species or 41,6 % of the species of the total composition of the found hydrobionts of the periphyton in March. The predators were represented by 3 species and composed 25 % of the total periphyton fauna. The bacteriophages and detritophages were represented by 2 species.

During the study of the trophic structure of the periphyton of the fibrous carrier conducted in July, it was found that infusoria, rotifers, nematodes and tardigrades belonged to the predators, which were represented by 4 taxa or 36,4 % of the species of the total composition of the found hydrobionts of the periphyton. The bacteriophages were represented by 3 species, and bacteriodetritophages by 2 species, these groups composed 27,3 % and 18,2 % of the total periphyton fauna. The detritophages and algophages were represented by one taxon, respectively.

There is a tendency to decreasing the number of periphytic organisms of the fibrous carrier with depth for 4 found trophic groups (bacteriodetritophages, detritophages, algophages and predators). Thus, the number of periphytic organisms of these trophic groups decreased from surface to the depth of 4 m by 75-92 %.

In general, it was found that the total number and species quantity of periphyton of the fibrous carrier in the treatment facilities decreases with depth (from surface to the depth of 4 m) by 23 % and 29 % in March, and by 77 % and 30 % in July, respectively.

The mobile planktonic and benthic forms predominated by number and species quantity among the found ecological-morphological groups of infusoria in the periphyton of the fibrous carrier in the treatment facilities. Their number was 66 % and 52 % of the total number of infusoria in March and July.

The attached infusoria forms in the periphyton of the fibrous carrier were found in the surface layer and at the depth of 2 m in the treatment facilities. The mobile periphytic and benthic forms of infusoria were found at the depth of 2-3 m. Only mobile planktonic and benthic forms of infusoria in the periphyton of the fibrous carrier were found in the whole water column in the aeration treatment facilities.

The activated sludge biocenosis was also investigated in the aeration treatment facilities in July. The amount of activated sludge biocenosis in the treatment facilities was high and composed 43312 sp/ml, mainly due to the development of shell amoebae, which composed 86 % of the total biocenosis. 2 species of infusoria, which did not occur in the periphyton aggregations of the fibrous carrier, were found in the activated sludge biocenosis, namely *Euplotes patella* and *Stentor polymorphus*.

The faunistic similarity of periphytic organisms of the fibrous carrier of «VIYA» type and the activated sludge biocenosis of waste waters in July was high and composed 56 %. The degree of similarity of the species composition of the periphytic organisms of the fibrous carrier found in March and July was medium and composed 43 %.

*Key words: periphyton, structure, fibrous carrier, waste water, treatment facilities, aerotank.*

## ВСТУП

Проблема очищення стічних вод щороку стає все більш актуальною не тільки для нашої держави, а й практично для всіх країн світу. Це пов'язано з повсюдним погіршенням екологічної ситуації.

Відомо, що домінуюче положення в очищенні стоків традиційно займає біологічне очищення. Це пояснюється його універсальністю та відносно низькими витратами. Підвищення ефективності функціонування очисних споруд – найважливіший чинник покращення стану навколишнього середовища, захисту водойм від забруднення шкідливими речовинами [1].

Найпоширенішими спорудами, де відбувається цей процес, є аеротенки, робота яких пов'язана з використанням активного мулу. У цих спорудах діє такий самий принцип очищення води, що і в природних водоймах: стічні води очищають живі організми активного мулу, які відносяться до різних таксонів тваринного і рослинного світу [2].

Одним із шляхів інтенсифікації роботи біологічного очищення стічних вод є збільшення в об'ємі споруди концентрації біомаси мікроорганізмів – очисників стічної води. Для цього в біотехнологіях очищення стічних вод все ширше використовують іммобілізовані, прикріплені до різних носіїв мікроорганізми [3].

В Україні останнім часом для біологічного очищення стічних вод все частіше використовують волокнистий носій з синтетичних (капронових) волокон типу «ВІЯ» для іммобілізації гідробіонтів в очисних спорудах. Доцільність та ефективність використання цього волокнистого носія в біотехнологіях очищення стічних вод довів П.І. Гвоздяк [4-6].

Слід зазначити, що вивченість видового складу, динаміки розвитку, екології та особливостей функціонування угруповань перифітону волокнистого носія очисних споруд є недостатньою, а дослідження структурної організації перифітону насадки типу «ВІЯ» в аеротенку очисної споруди на різних глибинах в Україні не проводили.

Мета роботи полягала в дослідженні особливостей структурної організації перифітону волокнистого носія на різних глибинах аеротенку очисної споруди.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили в аеротенку очисної споруди КП «Житлово-комунальний комбінат» (с. Терешки Полтавського р-ону Полтавської обл.).

Після біологічного очищення стічних вод вода потрапляє до поверхневих водних джерел області. За даними [7] найбільше забруднення (за індексом забруднення води) й особливо за фосфатами та залізом спостерігається в заплаві р. Ворскла, яка знаходиться в р-оні скиду очисних споруд ЖКК с. Терешки. Екологічний стан цих вод характеризується як III – «помірно забруднений» або IV – «забруднений». Ці дані підтверджують також дослідження [8], за результатами яких поверхневі води р. Ворскла в р-ні скиду очисних споруд ЖКК с. Терешки вважаються забрудненими (IV клас).

Для забезпечення інтенсифікації біологічного очищення стічних вод аеротенку очисної споруди в одному з каналів встановлювали волокнистий носій для іммобілізації мікроорганізмів та організмів перифітону.

Проби перифітону відбирали упродовж березня та липня 2015 року. Температура води в аеротенку очисної споруди в березні становила 20°C, а в липні – 23°C.

Відбір гідробіологічного матеріалу проводили так. Під водою зрізали окремі ворсини волокнистого носія та, не вилучаючи їх із води, переносили до поліетиленового пакета. Потім поліетиленовий пакет вилучали із води та зрізаний субстрат з водою виливали до лотка, де проводили змив організмів перифітону із досліджених субстратів. Після цього воду з організмами обростання переливали до скляної ємності. Зібраний матеріал доставляли до лабораторії у відкритій посудині, де його постійно аерували за допомогою компресора. Усіх організмів біоценозу обростання вивчали в живому стані під мікроскопом «Біолам Р-14» при збільшенні у 150-600 разів. Визначення видів організмів перифітону проводили за визначниками [9-10].

Підрахунок чисельності перифітонних організмів волокнистого носія проводили з урахуванням площі поверхні субстрату й виражали в екз/10 см<sup>2</sup>. Спочатку визначали площу одного волокна, тобто площу циліндра, а потім робили перерахунок площі субстрату з урахуванням кількості зрізаних волокон. Потім визначали кількість організмів обростання в певному об'ємі (0,2 мл) та проводили їх перерахунок на загальний об'єм проби (100 мл).

Усі виявлені інфузорії перифітону волокнистого носія в умовах очисних споруд за ступенем рухомості та належності до певного біотопу розподілені нами на три групи: а) прикріплені; б) рухомі перифітонно-бентосні; в) рухомі планктонно-бентосні [11].

Подібність видового складу досліджених угруповань перифітону визначали за допомогою індексу Чекановського-Серенсена [12].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У перифітоні волокнистого носія типу «ВІЯ» аеротенку очисних споруд ЖКК с. Терешки постійно були присутні найпростіші та багатоклітинні безхребетні. З них 12 таксонів належить до підцарства Protozoa та 6 – до Metazoa.

Видовий склад перифітону волокнистого носія в березні складався з 12 видів. У цей період в перифітоні домінували 3 види – *Euglypha laevis*, *Arcella vulgaris*, *Hemiophrys pleurosigma*, які разом складали 83 % від загальної середньої чисельності перифітону. Субдомінантами

в угрупованні перифітону були 3 види – це інфузорія *Aspidisca costata*, олігохета *Dero digitata* та тихоходка *Tardigrada* Gen. sp. (табл. 1).

У липні перифітон волокнистого носія очисної споруди складався з 11 видів. Домінували в угрупованні перифітону 2 види – *E. laevis*, *A. vulgaris*, середня чисельність яких складала 81 % від загальної чисельності перифітону. Субдомінантами в угрупованні перифітону були 4 види – інфузорії *Prorodon ovum*, *Epistylis plicatilis* та коловертки *Encentrum lupus*, *Rotaria trisecata*.

У складі перифітону волокнистого носія на всіх досліджених глибинах аеротенку очисної споруди в березні зустрічалися 3 види – черепашкові амеби *E. laevis*, *A. vulgaris* та олігохети *D. digitata*. У липні в складі перифітону насадки типу «ВІЯ» аеротенку постійно зустрічалися 5 видів – *E. laevis*, *A. vulgaris*, *D. digitata*, *P. ovum* та *E. lupus*, табл. 1.

Трофічна структура угруповань перифітону волокнистого носія очисної споруди в березні була представлена 4 групами, а в липні – 5 групами.

У березні до бактеріо-детритофагів належали інфузорії, представлені 5 видами або 41,6 % видів від загального складу виявлених гідробіонтів перифітону. Хижаки були представлені 3 видами й склали 25 % від загальної фауни перифітону. Двома видами були представлені і бактеріофаги, і детритофаги (табл. 2).

Таблиця 1 – Видовий склад перифітону волокнистого носія «ВІЯ» аеротенку очисної споруди та розподіл організмів обростання з глибиною у 2015 році

Вид	Глибина аеротенку, м	
	Березень	Липень
<i>Euglypha laevis</i> Perty, 1849	поверхня, 1-4	поверхня, 1-4
<i>Arcella vulgaris</i> Ehrenberg, 1830	поверхня, 1-4	поверхня, 1-4
<i>Aspidisca costata</i> (Dujardin, 1842)	1-3	–
<i>Hemiophrys pleurosigma</i> Stokes, 1884	поверхня, 1-2, 4	–
<i>Litonotus lamella</i> Shewlakoff, 1896	–	поверхня, 1, 4
<i>Holophrya simplex</i> Schewiakoff, 1893	1	–
<i>Prorodon ovum</i> (Ehrenberg) Kahl, 1930	–	поверхня, 1-4
<i>Paramecium bursaria</i> (Ehrenberg, 1831)	–	1
<i>Paramecium caudatum</i> Ehrenberg, 1838	поверхня, 4	–
<i>Epistylis bimarginata</i> Nenninger, 1948	поверхня	–
<i>Epistylis plicatilis</i> Ehrenberg, 1838	–	поверхня, 1
<i>Vorticella picta</i> (Ehrenberg, 1831)	2	–
<i>Encentrum lupus</i> Wulfert, 1936	–	поверхня, 1-4
<i>Rotaria trisecata</i> (Weber, 1888)	–	поверхня, 1-2, 4
<i>Tardigrada</i> Gen. sp.	поверхня, 1-3	поверхня
<i>Aeolosoma</i> sp.	1	–
<i>Dero digitata</i> (O. F. Muller, 1773)	поверхня, 1-4	поверхня, 1-4
<i>Nematoda</i> sp.	1	поверхня, 3
Середня чисельність, екз/10 см <sup>2</sup>	3030	7529
Кількість видів	<b>12</b>	<b>11</b>

Примітка: прочерком позначено відсутність організму перифітону в певний період.

Серед виявлених трофічних груп перифітону у всій товщі стічної води домінували за чисельністю бактеріофаги, частка яких з глибиною збільшувалася від 38,4 % до 89 % від загальної чисельності перифітону. Субдомінантами були хижакі, а їх чисельність коливалася від 9,3 % до 29,7 %.

Слід зазначити, що для трьох трофічних груп (бактеріо-детритофагів, детритофагів і хижаків) була виявлена загальна закономірність щодо зниження чисельності організмів обростання із глибиною. Так, чисельність перифітонних організмів цих трофічних груп знижувалася від поверхні до глибини 4 м на 75-92 %. Чисельність бактеріофагів від поверхні до глибини 4 м очисної споруди, навпаки, збільшувалася майже у 2 рази (з 240 екз/10 см<sup>2</sup> до 419 екз/10 см<sup>2</sup>).

Таблиця 2 – Чисельність (екз/10 см<sup>2</sup>) трофічних груп перифітону волокнистого носія аеротенку очисної споруди на різних глибинах у березні 2015 року

Трофічні групи	Глибина аеротенку				
	Поверхня	1 м	2 м	3 м	4 м
Бактеріофаги	240	464	449	509	419
Бактеріо-детритофаги	180	60	30	45	15
Детритофаги	25	45	2	3	4
Хижакі	180	240	60	15	45
Загальна чисельність	625	809	541	572	483
Кількість видів	7	9	7	5	5

При дослідженні трофічної структури перифітону волокнистого носія в липні було встановлено, що хижакі (4 таксони) були представлені інфузоріями, коловертками, нематодами та тихоходками, які склали 36,4 % видів від загального складу виявлених гідробіонтів перифітону. Бактеріофаги були представлені 3 видами, а бактеріо-детритофаги – 2 видами, ці групи склали 27,3 % та 18,2 % від загальної фауни перифітону. Детритофаги та альгофаги були представлені по одному таксону відповідно (табл. 3).

Таблиця 3 – Чисельність (екз/10 см<sup>2</sup>) трофічних груп перифітону волокнистого носія аеротенку очисної споруди на різних глибинах у липні 2015 року

Трофічні групи	Глибина аеротенку				
	Поверхня	1 м	2 м	3 м	4 м
Альгофаги	180	75	30	45	45
Бактеріофаги	1767	1228	1452	1198	480
Бактеріо-детритофаги	494	60	15	–	45
Детритофаги	20	10	5	1	4
Хижакі	195	75	15	45	45
Загальна чисельність	2656	1448	1517	1289	619
Кількість видів	10	9	6	6	7

Примітка: прочерком позначено відсутність трофічної групи перифітону на певній глибині

Також за чисельністю в перифітоні волокнистого носія домінували бактеріофаги, чисельність яких складала від 66,5 % до 95,7 % від загальної чисельності обростання.



Бактеріо-детритофаги в цей період були субдомінантами, а їх середня чисельність складала 8,2 % від загальної середньої чисельності перифітону.

Для цього періоду була встановлена також загальна закономірність щодо зниження чисельності перифітонних організмів волокнистого носія із глибиною для всіх виявлених трофічних груп. Так, чисельність перифітонних організмів 5 трофічних груп знижувалася від поверхні до глибини 4 м на 73-91 %.

Загалом було виявлено, що загальна чисельність та кількість видів перифітону волокнистого носія очисної споруди із глибиною зменшується від поверхні до глибини 4 м в березні на 23 % і 29 % та в липні на 77 % і 30 % відповідно, див. табл. 3.

При дослідженні еколого-морфологічної структури інфузорій перифітону волокнистого носія нами було виявлено, що найбільша кількість видів інфузорій (6) належить до рухомих планктонно-бентосних організмів. Трьома видами була представлена групи прикріплених інфузорій, а рухомі перифітонно-бентосні інфузорії були представлені одним таксоном.

Прикріплені форми інфузорій перифітону волокнистого носія зустрічалися в поверхневому шарі та на глибині 2 м очисної споруди. Рухомі перифітонно-бентосні форми інфузорій зустрічалися на глибині 2-3 м. У всій товщі стічної води аеротенку очисної споруди зустрічалися винятково рухомі планктонно-бентосні форми інфузорій перифітону волокнистого носія.

За досліджений період у перифітоні волокнистого носія очисної споруди серед виявлених еколого-морфологічних груп інфузорій домінували за чисельністю та кількістю видів рухомі планктонно-бентосні форми, чисельність яких у березні та липні становила 66 % і 52 % від загальної чисельності інфузорій (табл. 4).

Таблиця 4 – Показники розвитку рухомих та прикріплених інфузорій перифітону волокнистого носія аеротенку очисної споруди у 2015 році

Еколого-морфологічні групи	Кількість видів		Чисельність, екз/10 см <sup>2</sup>	
	березень	липень	березень	липень
Прикріплені	2	1	30	87
Рухомі перифітонно-бентосні	1	–	21	–
Рухомі планктонно-бентосні	3	3	99	93
Разом	6	4	150	180

Примітка: прочерком позначено відсутність певної трофічної групи перифітону

В аеротенку очисної споруди ЖКК с. Терешки в липні також був досліджений біоценоз активного мулу. Біоценоз активного мулу складався з 7 видів із трьох систематичних груп (інфузорій, коловерток, черепашкових амеб). Чисельність біоценозу активного мулу очисної споруди була високою та складала 43312 екз/мл, переважно за рахунок розвитку черепашкових амеб, які склали 86 % від загальної чисельності біоценозу. У біоценозі активного мулу були виявлені 2 види інфузорій – *Euplotes patella* та *Stentor polymorphus*, які не зустрічалися в угрупованнях перифітону волокнистого носія.

Трофічна структура біоценозу активного мулу аеротенку була представлена 5 групами (альгофаги, бактеріофаги, бактеріо-детритофаги, міксотрофи та хижаки). В біоценозі активного мулу очисної споруди за чисельністю домінували бактеріофаги, чисельність яких складала 37197 екз/мл.

Фауністична подібність організмів перифітону волокнистого носія типу «ВІЯ» та біоценозу активного мулу стічних вод у липні була високою та складала 56 %. Ступінь подібності

видового складу перифітонних організмів волокнистого носія виявлених у березні та в липні, була середньою і складала 43 %.

Під час проведеного аналізу встановлені певні особливості структурної організації перифітону волокнистого носія «ВІЯ» аеротенку очисної споруди, які можуть стати підґрунтям детальних досліджень щодо встановлення ролі іммобілізованих організмів перифітону волокнистого носія при біологічному очищенні забруднених стічних вод.

Автори висловлюють щире подяку директору ВК «Природоохоронне підприємство «Екологія» м. Полтави А. І. Капарнику за допомогу при організації та проведенні експериментальних досліджень.

### ВИСНОВКИ

1. У складі перифітону волокнистого носія на всіх досліджених глибинах аеротенку очисної споруди в березні постійно зустрічалися 3 види – черепашкові амеби *E. laevis*, *A. vulgaris* та олігохети *D. digitata*, а в липні 5 видів – *E. laevis*, *A. vulgaris*, *D. digitata*, *P. ovum* та *E. lupus*.
2. Встановлена загальна закономірність щодо зниження чисельності перифітонних організмів волокнистого носія із глибиною для 4 виявлених трофічних груп (бактеріо-детритофагів, детритофагів, альгофагів та хижаків). Так, чисельність перифітонних організмів цих трофічних груп знижувалась від поверхні до глибини 4 м на 75-92 %.
3. Загалом було встановлено, що загальна чисельність та кількість видів перифітону волокнистого носія очисної споруди із глибиною зменшується від поверхні до глибини 4 м в березні на 23 % і 29 % та в липні на 77 % і 30 % відповідно.
4. У перифітоні волокнистого носія очисної споруди серед виявлених еколого-морфологічних груп інфузорій домінували за чисельністю та кількістю видів рухомі планктонно-бентосні форми, чисельність яких у березні та липні становила 66 % і 52 % від загальної чисельності інфузорій.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Святенко А. І., Дяденко М. Н., Нечипоренко-Шабуніна Т. Г. Дослідження зміни ефективності очищення стічних вод в аеротенках під впливом різних чинників. *Екологічна безпека*. 2011. № 1 (11). С. 64-66.
2. Ettl M. The Ciliate Community (Protozoa: Ciliophora) of a Municipal Activated Sludge Plant: Interactions between Species and Environmental Factors. *Protozoological Monographs*. 2000. Vol. 1. P. 1-62.
3. Саблій Л.А. Фізико-хімічне та біологічне очищення висококонцентрованих стічних вод: Монографія. Рівне: НУВГП, 2013. 291 с.
4. Гвоздяк П. И., Глоба Л. И. Научное обоснование, разработка и внедрение в практику новых биотехнологий очистки воды. *Химия и технология воды*. 1998. Т. 20, № 1. С. 61-69.
5. Гвоздяк П. И., Могилевич Н. Ф., Любченко О. А. Очистка сточных вод от неорганических соединений азота иммобилизованными микроорганизмами. *Мікробіол. журн.* 1994. Т. 56, № 4. С. 54-55.
6. Гвоздяк П. І. Спущання активного мулу: хто винен і що робити? *Вода і водоочисні технології*. 2006. № 3. С. 38-44.
7. Пилип'юк В. В., Тірон О. Е. Оцінка якості вод річки Ворскла для рибогосподарського використання. *Сучасний стан регіональних екологічних проблем та шляхи їх вирішення: матеріали Міжнарод. наук. конф. молодих вчених (Одеса, 16-18 квітня 2014 р.)*. Одеса: ОДЕКУ, 2014. С. 259-261.

8. Голік Ю. С., Ілляш О. Е., Москвич В. О., Мацків Я. Оцінка стану поверхневих водних джерел Полтавської області. *Ресурсозберігаючі технології в проектуванні, землевпорядкуванні та будівництві*: матеріали Міжнарод. науково-практичної конф. (Кременчук, 19-20 квітня 2013 р.). Кременчук: КрНУ, 2013. С. 122-125.
9. Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Т. 1. Зоопланктон / Под. ред. В. Р. Алексеева, С. Я. Цалолыхина. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2010. 495 с.
10. Фауна аэротенков: атлас / А. А. Айсаев [и др.]; отв. ред. Л. А. Кутикова. – Ленинград: Наука: Ленинград. отделение, 1984. 264 с.
11. Протисты и бактерии озер Самарской области / [В. В. Жариков, М. Ю. Горбунов, С. В. Быкова и др.]; под ред. В. В. Жарикова. Тольятти: Кассандра, 2009. 240 с.
12. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. Москва: Наука, 1982. 287 с.

УДК 574.64:504.064

DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2018-1-12>

## УДОСКОНАЛЕННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ЗАБРУДНЕНОСТІ ҐРУНТІВ МЕТОДОМ БІОТЕСТУВАННЯ

Крайнюков О. М., Кривицька І. А.

*Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна  
61022, Україна, Харків, майдан Свободи, 6*

alkraynukov@gmail.com,  
ivkrivicka@gmail.com

Наведено результати експериментальних досліджень щодо вдосконалення способу визначення фітотоксичності фактора середовища за рахунок отримання кількісної оцінки ступеня забрудненості ґрунтів відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ). Для визначення фітотоксичності водних витяжок з ґрунту обрано кукурудзу, ячмінь та салат.

*Ключові слова: ґрунти, схожість, період вегетації, фітотоксичність, забрудненість ґрунтів.*

Krainiukov O. M., Krivitska I. A. IMPROVING THE METHOD OF DEFINING STEP POLLUTION OF SOILS / V. N. Karazin Kharkiv National University, 61022 Ukraine, Kharkiv, Maidan Svobodi, 6

The article presents the results of experimental studies on the improvement of the method for determining the phytotoxicity of the environmental factor by obtaining a quantitative assessment of the degree of soil contamination in accordance with certain levels of inhibition of growth processes, the quantitative characteristics of which is expressed by the soil contamination coefficient (CCS). To determine the phytotoxicity of aqueous extracts from the soil, corn, barley and lettuce were selected.

The purpose of the work was to suggest the use of the indicator «degree of soil contamination» in accordance with the definitions of the levels of suppression of growth processes, the quantitative characteristics of which is the coefficient of soil contamination (CGD), with this soil contamination coefficient differentiate the levels of suppression of growth processes.

To determine the phytotoxicity of the soils, a preliminary selection of plants was recommended, which is recommended by the international standard ISO 11269-2. The main prominent activities, including in the field of energy, science and education, associate research, additional. The probability of deviation of the significance of these criteria from control was taken into account. Phytotoxic was considered as soil, for the deduction of biotesting which values of any of the listed criteria were significantly different in the control.

The problem was solved by the fact that the determination of the toxicity of soils in higher plants was based on the determination of the difference between the intensity of plant growth in the water extraction from the soil (experiment) and the water in which the plants are kept (control).

Criterion: more information at 20 sites is more information and not included in the rate of the stay (at an additional cost) in the amount of 96 % of the cost of living.

The prognosis is predictive of potentially significant factors that may be related to the main factors that may be associated with major illnesses.

During 2016, it was carried out 94 experiments on the determination of soil phytotoxicity was carried out on the basis of the results obtained, certain regularities were found in obtaining results that made it possible to solve the problem of improving the method of determining the phytotoxicity of the environmental factor for the accounts for obtaining a quantitative assessment of the degree of soil contamination in accordance with the specified levels of inhibition of growth processes, the quantitative characteristics of which are expressed by soil contamination coefficient (CGD).

In order to assess the dangers of soil contamination, it is suggested to use the indicator «degree of soil contamination» in accordance with the definitions of the levels of suppression of growth processes, the quantitative characteristics of which is the soil contamination coefficient (CGD), with this soil contamination coefficient differentiating the levels of depression of growth processes.

The advantage of the proposed method in comparison with the existing one is that the help can be determined not only by the presence or absence of the phytotoxic effect, but also assess the dangers of soil contamination of toxic substances through the quantitative assessment of soil contamination, depending on the level of suppression of growth processes.

*Key words: soil, germination, vegetation period, phytotoxicity, soil contamination.*

## ВСТУП

Найбільш інформативним і стабільним компонентом ландшафту вважаються ґрунти, структура яких відчутливо впливає на суміжні компоненти. Серед трьох структурних елементів біосфери (атмосфери, гідросфери, літосфери) центральною ланкою є ґрунти, які відіграють визначальну роль у їх формуванні й суттєво впливають на перерозподіл речовини й енергії в інших компонентах природного середовища. Контроль процесів деградації й відтворення ґрунтів повинен здійснюватися під час комплексного моніторингу як система спостережень за екологічним станом ґрунтів із метою їх раціонального використання та охорони. Зараз потрібно створювати систему ґрунтово-екологічного моніторингу, адаптовану до умов комплексного антропогенного впливу на ґрунти [1].

На цей час природоохоронні заходи з регулювання й обмеження надходження в природне середовище екологічно небезпечних речовин і сполук, як правило, засновані на порівнянні фактичних значень їх вмісту з встановленими величинами ГДК цих речовин для відповідного компоненту природного середовища. Але при цьому використання лише інформації щодо перевищення ГДК окремих хімічних речовин недостатньо для оцінки екологічного стану території, оскільки не враховується вплив сукупної дії полікомпонентних хімічних сполук на біотичну складову екосистем. Це пов'язано з тим, що концентрація ГДК передбачає нормування ізольованого впливу хімічних речовин на відповідні тест-організми, які використовуються при встановленні ГДК, тоді як у реальних умовах вплив чинять складні суміші речовин, унаслідок чого може проявлятися комбінований ефект впливу – адитивність, синергізм, антагонізм [2].

Більшість спроб, що використовуються для нормування забруднення ґрунтів забруднюючими речовинами, зводяться до того, щоб визначити гранично допустиму концентрацію речовини в ґрунті. Однак через об'єктивні причини, такі як поліфункціональність і гетерогенність ґрунту, різноманітність його типів, різноманітність забруднюючих речовин, явища синергізму та антагонізму між ними, здатність живих організмів до адаптації, а ґрунту – до самоочищення, використання ГДК поллютантів для оцінки рівня забруднення є одностороннім показником.

Доцільність використання біологічних методів оцінки якості компонентів ландшафту, зокрема, ґрунтів, підкреслюється у численних роботах вітчизняних і зарубіжних авторів [3-6]. Зокрема, у праці М. О. Клименко при визначенні переліку показників для оцінки якості компонентів довкілля в умовах антропогенного навантаження рекомендується використовувати поряд з іншими, біологічні методи: «...біоіндикація і біотестування,

на відміну від відомих аналітичних методів контролю за станом середовища, є незамінними у визначенні токсичності і шкідливості факторів для живих організмів, бо ці характеристики є біологічними, а тому визначають біологічну повноцінність (або неякісність) середовища» [6]. Підтвердженням наведеного є результати встановлення кореляційної залежності між оцінкою рівнів токсичності води і значеннями коефіцієнтів її забрудненості окремими хімічними речовинами, яка складала 0,06 [7].

Мета роботи – запропонувати використовувати показник «ступінь забрудненості ґрунтів» відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ), при цьому коефіцієнт забрудненості ґрунтів диференціюють за рівнями пригнічення ростових процесів.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Проби ґрунту для біотестування відбирали згідно з ГОСТ 17.4.3.01-83 та ГОСТ 17.4.4.02-84. Маса загальної проби близько 2 кг.

Проби ґрунту звільняли від сторонніх домішок, подрібнювали, просіювали крізь сито з порами діаметром 1 мм, розподіляли тонким шаром на аркуші паперу або кальки у вигляді квадрата чи прямокутника і поділяли на 4 частини. Дві протилежні частини ґрунту зсипали в одну купу, повторюючи вказану операцію до тих пір, доки вага зразка ґрунту не дорівнювала 100 г. Наважку ґрунту переносили в колбу з притертою пробкою. Заливали дистильованою водою у співвідношенні 1:1 і збовтували вміст колби за допомогою струшувача протягом 1,5 год. Після цього вміст колби переносили в центрифужні стакани й центрифугували при 2000 об/хв протягом 10 хв. Після центрифугування водну витяжку з центрифужних стаканів переносили вс колбу з притертою пробкою і використовували для біотестування.

Для визначення фітотоксичності ґрунтів попередньо було проведено вибір рослин, широке коло яких рекомендується міжнародним стандартом ISO 11269-2 [8, 9]. В експериментах використано 4 види однодольних (пшениця тверда, ячмінь, овес, кукурудза) і 15 видів дводольних рослин (горох, квасоля, соя, салат, томат, цибуля, кріп, морква, перець, буряк, капуста, редька чорна, редис, петрушка кучерява, огірок) таких сортів, які мали найбільш ранню схожість та найменший період вегетації.

Рослини, які є придатними для біотестування, мають відповідати таким вимогам: розвиватися після замочування у воді, мати достатню швидкість росту у водній витяжці, щоб за 5 діб досягнути такої довжини коренів та паростків, яка необхідна для підрахунку. Відповідно до цих вимог непридатними до біотестування виявилися рослини: перець, петрушка, горох, квасоля, соя, які повільно пророщуються після замочування у воді; у насінні родини бобових починався процес гниття. Насіння кукурудзи, капусти, огірка, салату та пшениці виявилось придатним для біотестування у водній витяжці (розвивалося 80-90 % насіння).

Що стосується швидкості росту, то насіння кукурудзи дає паростки, достатні для підрахування довжини через 4 доби після замочування; насіння салату, томату, пшениці, ячменю, буряка, редьки, редису, капусти, вівса та огірка – через 5 діб; насіння моркви, кропу і цибулі – через 7 діб, а петрушки – більше ніж через 11 діб.

Із перелічених рослин для визначення фітотоксичності водних витяжок з ґрунту було обрано кукурудзу, ячмінь та салат. Пшениця, капуста та огірок не використовувались у біотестуванні з таких причин: капуста та огірок мають дуже ніжні корінці, довжину яких неможливо виміряти, а пшениця має багато бокових корінців, котрі переплітаються між собою, що утруднює розрахунок результатів.

Основними показниками згідно з [9], за якими проводили оцінку фітотоксичності ґрунтів, були кількість пророслих рослин, довжина коренів та паростків. Враховували вірогідність відхилення значень цих критеріїв від контролю. Фітотоксичними вважались ґрунти, за результатами біотестування яких значення будь-якого з перелічених критеріїв вірогідно відрізнялося від контролю.

Для визначення придатності насіння вищих рослин до біотестування встановлюють концентрацію розчину еталонної речовини, що спричиняє зменшення довжини коренів і (або) проростків на 20 % за 96 год біотестування (ЕК<sub>20-96</sub>).

Як еталонну речовину використовують фенол (С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН) згідно з ГОСТ 6417-72 кваліфікації ч.д.а. Вихідний розчин готують із концентрацією 1 г/дм<sup>3</sup> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН. Для цього використовують дистильовану воду згідно з ГОСТ 6709. Із вихідного розчину готують серію розчинів від 100 до 200 мг/дм<sup>3</sup> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН з інтервалом 25 мг/дм<sup>3</sup>, використовуючи дехлоровану питну воду. Біотестування розчинів проводять упродовж 96 год згідно з процедурою, описаною вище. За результатами розраховують ЕК<sub>20-96</sub>.

Якщо одержана величина ЕК<sub>20-96</sub> перебуває в експериментально встановленому діапазоні реагування тест-об'єкта, який дорівнює 89,5-194,5 мг/дм<sup>3</sup> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН, партія насіння придатна для біотестування.

Якщо ЛК<sub>20-96</sub> С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>ОН не потрапляє у вказаний діапазон реагування, партію насіння замінюють на нову. Рекомендовано використовувати насіння зі схожістю 90 %.

Контроль відтворюваності результатів визначення токсичності здійснюють за розбіжністю результатів двох визначень ЕК еталонної речовини (ЕК<sub>1</sub>, ЕК<sub>2</sub>).

Результати визначень токсичності задовільні за умови:

$$(ЕК_1 - ЕК_2) \leq Д,$$

де Д – норматив оперативного контролю відтворюваності результатів, значення якого при довірчій ймовірності Р=0,95 складає 74 мг/дм<sup>3</sup> фенолу.

Характеристики похибки одиночного визначення токсичності надані в таблиці 1.

Таблиця 1 – Характеристики похибки одиночного визначення токсичності

ЕК <sub>20-96</sub> , мг/дм <sup>3</sup> фенолу	Найбільше можливе значення середнього квадратичного відхилення випадкової складової похибки (показника відтворюваності) $\sigma (\Delta^0)$ , мг/дм <sup>3</sup>	Границі інтервалу, у яких похибка визначень токсичності знаходиться з довірчою ймовірністю Р = 0,95	
		$\pm \Delta$ , мг/дм <sup>3</sup>	$\pm \delta$ , %
142	26,8	52,5	37,0

Поставлене завдання вирішувалась тим, що визначення токсичності ґрунтів на вищих рослинах ґрунтується на встановленні різниці між інтенсивністю росту рослин у водній витяжці з ґрунту (дослід) та у воді, у якій рослини утримуються (контроль).

Критерієм токсичності є зниження на 20 і більше відсотків довжини проростків і (або) коренів рослин в досліді порівняно з контролем за 96 год біотестування.

Наприкінці біотестування вимірюють довжину коренів і проростків у контролі та досліді.

За результатами вимірювань довжини коренів і проростків вищих рослин розраховують їхні середні арифметичні значення в досліді й контролі. Отримані значення використовують для розрахунку різниці довжини коренів і проростків у досліді відносно контролю у відсотках за формулою:

$$A = ((X_k - X_d)/X_k) \times 100, \text{ де}$$

A – довжина коренів (проростків) у досліді відносно контролю, %;

X<sub>k</sub> – середнє арифметичне довжини коренів (проростків) у контролі, см;

X<sub>d</sub> – середнє арифметичне довжини коренів (проростків) у досліді, см.

Ґрунт виявляє токсичність, якщо A становить 20 і більше відсотків.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Найближчим аналогом способу, що розглядається, є спосіб визначення фітотоксичності фактора середовища [10]. Зазначений спосіб полягає в такому – проводять тестування рослин за дії різних доз фактора. Встановлюють лінійний розмір або масу надземної та кореневої частин, а потім співвідношення відповідних параметрів для цих органів рослин. На основі змін тестового показника визначають дозу фактора за максимального значення співвідношення. При зниженні величини цього співвідношення діагностують підвищення фітотоксичності фактора.

Результати дають можливість прогнозування й диференційної оцінки максимально токсичних концентрацій факторів кореневого живлення на основі аналізу дозових змін діагностичного показника.

Недоліком відомого способу є те, що за його допомогою неможливо здійснити кількісну оцінку фітотоксичності фактора середовища і, як наслідок, - ступінь забрудненості ґрунтів. Також зазначений спосіб передбачає оцінку дозових змін окремих діагностичних показників, що, на відміну від запропонованого авторами способу, унеможливорює інтегральність в оцінці якості ґрунтів за допомогою біотестування – методичного прийому, заснованого на використанні в стандартних лабораторних умовах біологічних тест-об'єктів для визначення токсичності ґрунтів шляхом реєстрації зміни відповідних показників їхньої життєдіяльності під впливом спільної дії і взаємодії специфічних хімічних токсичних речовин.

Упродовж 2016 року здійснено постановку 94 експериментів (рис. 1) з визначення фітотоксичності ґрунтів та на основі отриманих результатів було встановлено певну закономірність в отриманих результатах. Це дало змогу вирішити поставлене завдання щодо вдосконалення способу визначення фітотоксичності фактора середовища за рахунок отримання кількісної оцінки ступеня забрудненості ґрунтів відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ).

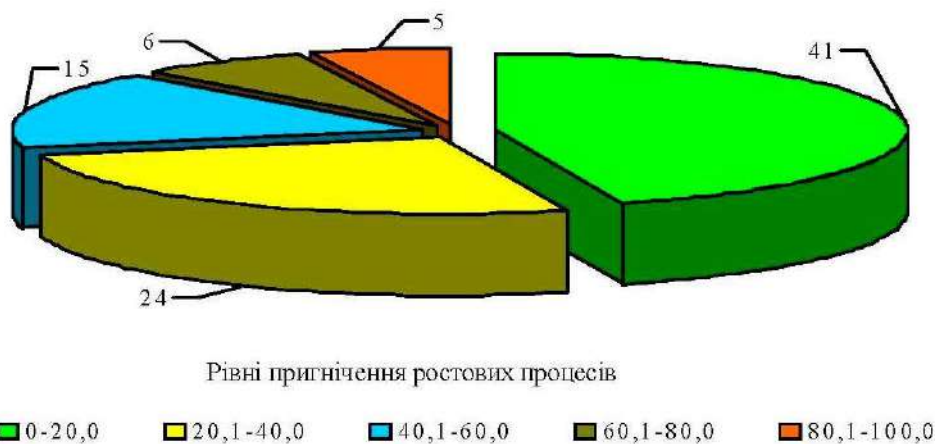


Рис. 1. Кількісне значення випадків виявлення фітотоксичної дії ґрунтів при визначенні рівнів пригнічення ростових процесів

Для оцінки небезпеки забруднення ґрунтів запропоновано використовувати показник «ступінь забрудненості ґрунтів» відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ), при цьому коефіцієнт забрудненості ґрунтів диференціюють за рівнями пригнічення ростових процесів.

У таблиці 2 наведено класифікацію якості ґрунтів за ступенем забрудненості.

Таблиця 2 – Класифікація якості ґрунтів за ступенем забрудненості [11]

Клас якості ґрунтів	Рівень забрудненості ґрунтів	Рівні пригнічення ростових процесів (фітотоксичний ефект), %	Ступінь забрудненості ґрунтів, КЗГ
I	Незабруднені	0-20,0	1,1
II	Слабко забруднені	20,1-40,0	1,2
III	Помірно забруднені	40,1-60,0	1,3
IV	Брудні	60,1-80,0	1,4
V	Дуже брудні	80,1-100,0	1,5

Перевага запропонованого способу порівняно з існуючими полягає в тому, що за його допомогою можна визначити не тільки наявність або відсутність фітотоксичного ефекту, а також оцінити небезпеку забруднення ґрунтів токсичними речовинами через кількісну оцінку забрудненості ґрунтів залежно від рівнів пригнічення ростових процесів.

Перспективи подальших досліджень полягають в оцінці та ранжуванні антропогенно перетворених ґрунтів з використанням показника «ступінь забрудненості ґрунтів».

### ВИСНОВКИ

За результатами експериментальних досліджень можливо зробити висновок про те, що для оцінки небезпеки забруднення ґрунтів слід використовувати показник «ступінь забрудненості ґрунтів» відповідно до визначених рівнів пригнічення ростових процесів, кількісна характеристика якого виражається коефіцієнтом забрудненості ґрунтів (КЗГ), при цьому коефіцієнт забрудненості ґрунтів диференціюють за рівнями пригнічення ростових процесів.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Медведєв В. В. Мониторинг почв України. Концепция. Итоги. Задачи: монография. Харьков, 2012. 536 с.
2. Крайнюкова А. М. Біотестування – метод оцінки токсичних властивостей компонентів природного середовища та джерел їх забруднення. Проблеми охорони навколишнього природного середовища та екологічної безпеки. Харьков: Райдер, 2006. Вип. XXVIII. С. 15-33.
3. Мелехова О. П., Егорова Т. И., Евсеева Е. И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособ. для студ. высш. учеб. заведений. Москва : Изд. центр «Академия», 2007. 288 с.
4. Manual for the Evaluation of Laboratories Performing Aquatic Toxicity Tests. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. EPA/600/4-90/031. Cincinnati, 1991. 108 p.
5. Steinhäuser K. G., Hansen P. D. Biologische Testverfahren. Stuttgart: Gustav-Fischer Verlag, 1992. 884 s.
6. Клименко М. О., Трушева С. С., Гроховська Ю. Р. Відновна гідроекологія порушених річкових та озерних систем (гідрохімія, гідробіологія, гідрологія, екологія, управління): монографія. Рівне, 2004. 211 с.
7. Впровадження результатів токсикологічного моніторингу в систему екологічного менеджменту басейну р. Дніпро. Звіт на проект № 9112 для Міжнародного центру розвитку наукових досліджень / Український науково-дослідний інститут екологічних проблем. Харків, 1999. 61 с.



8. ISO 11269-1995 Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 1. Method for the measurement of inhibition of root growth.
9. ISO 11269-1995 Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 2. Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants.
10. Спосіб визначення фітотоксичності фактора середовища: пат. 58614 Україна: МПК (2011) G01N 33/24 U 200702855 заявл. 19.03.2007; опубл. 26.04.2011, бюл. № 8. 4 с.
11. Спосіб визначення ступеня забрудненості ґрунтів: пат. 113560 Україна: МПК G01N 33/24 U 201605283 заявл. 16.05.16; опубл. 10.02.2017, бюл. № 3. 5 с.

## МЕТОДИ ОЦІНКИ ІНТЕНСИВНОСТІ ПІГМЕНТОУТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Крупей К. С.

*Запорізький національний університет*  
69600, Україна, м. Запоріжжя, вул. Жуковського, 66  
krupeyznu@gmail.com

Наведено спробу оцінити інтенсивність пігментоутворення мікроорганізмів, які зазнали впливу важких металів, в онлайн-програмі «ColorHexa». Проведено порівняльний аналіз методів визначення інтенсивності пігментоутворення бактерій та дріжджів. Розроблено простий спосіб ідентифікації пігментосинтезуювальних мікроорганізмів у природних біотопах. Показано, що навіть серед однієї систематичної групи мікроорганізмів зустрічаються штами, які продукують різний якісний склад пігментів, внаслідок чого різниця в інтенсивності контрольного кольору та дослідного зразка (dE) між ними сильно відрізняється. Так, для дріжджів *Sporobolomyces roseus* Y-1443 dE становила 33,93 ум. од., а для штаму *Sp. roseus* Y-1444 dE була на 10 одиниць більшою (43,55 ум. од.).

*Ключові слова:* мікроорганізми, ідентифікація, пігменти, комп'ютерні програми.

Krupey K. S. METHODS OF ESTIMATION OF INTENSITIVITY OF PIGMENT FORMATION OF MICROORGANISMS AND THEIR IDENTIFICATION / Zaporizhzhya National University; 69900, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky str. 66.

Previous studies on pigmentation bacteria and yeast have shown that they can be used for bioindication of compounds of heavy metals (HM) in the environment. The intensity of the color of pigments allows us to make a visual assessment of the influence of environmental factors on the cells of microorganisms. For the quantitative expression of the difference in the intensity of the color of the pigments between the control and experimental samples of microorganisms using computer software AdobePhotoshop and CIEDE2000. In this paper, an attempt was made to evaluate the intensity of pigmentation of microorganisms by other methods and to develop a method for the identification of pigmented forms of microflora. Therefore, the purpose of our research was to create a table-determinant of pigment-synthesizing microorganisms using known computer programs.

For the compilation of a table-determinant of microorganisms, a digital image of samples of microorganisms culture was performed. The digital image was transferred to the computer in the AdobePhotoshop program, and they determined the colors of the colonies of microorganisms. Then, using the CIE Lab program packages, the color model values were calculated: the colors of the test samples of microorganisms compared with the control color (violet), with the values of the color model  $L = 16$ ,  $a = 37$ ,  $b = -18$  were compared. It is the comparison with this color of orange and red hues that provides the greatest difference in the intensity of color between colonies of microorganisms. For example, a very slight difference in the color intensity between the studied cultures was observed for the black ( $L = 0$ ,  $a = 0$ ,  $b = 0$ ), white ( $L = 99$ ,  $a = 0$ ,  $b = 0$ ) and green ( $L = 31$ ,  $a = -33$ ,  $b = 22$ ) colors. After that, the index of investigated microorganisms was compared with the indicators of earlier identified species, the species composition of pigment-synthesizing microorganisms was identified by this indicator.

The basis of our patent was the task of developing a method for identifying pigment-synthesizing microorganisms, by growing microorganisms on the nutrient medium, detecting the shades of their color in a digital form, determining the difference in the color intensity of the colonies compared with the standard, comparing the data obtained with the data of already identified microorganisms will increase the speed and visibility of the method, simplify the process of identification of microorganisms. Also, this method will provide the opportunity to perform other stages of identification of the species belonging to microorganisms, and to create an appropriate database of pigment-synthesizing microorganisms according to these indicators.

In developing the method, we drew attention to the known method of determining the intensity of pigmentation in bacteria, which, however, does not allow to identify the species composition of microorganisms.

Even among one systematic group of microorganisms there are strains that produce different qualitative composition of pigments, as a result of which dE is very different between them. So, for spores *Sporobolomyces roseus* Y-1443 dE was 33,93 and for strain *Sp. roseus* Y-1444 dE was 10 units bigger (43,55).

*Key words:* microorganisms, identification, pigments, computer programs.

## ВСТУП

Проведені попередні дослідження на пігментосинтезувальних бактеріях і дріжджах показали, що їх можна використовувати для біоіндикації сполук важких металів (ВМ) у довкіллі [1, 2]. Інтенсивність кольорів пігментів дозволяє проводити візуальну оцінку впливу факторів середовища на клітини мікроорганізмів. Для кількісного вираження різниці в інтенсивності кольорів пігментів між контрольними та дослідними зразками мікроорганізмів використовують комп'ютерні програми AdobePhotoshop і CIEDE2000 [3]. У роботі здійснено спробу оцінити інтенсивність пігментоутворення мікроорганізмів іншими методами та розробити спосіб ідентифікації пігментованих форм мікрофлори, тому метою наших досліджень є створення таблиці-визначника пігментосинтезувальних мікроорганізмів із використанням відомих комп'ютерних програм.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для інкубування пігментосинтезувальних мікроорганізмів використовували тверді поживні середовища Сабуро та м'ясо-пептонний агар (МПА), на які суцільним газоном засівали дослідні зразки дріжджів та бактерій, відповідно. Інкубування проводили за температури 28-30 °С протягом трьох діб. Усі досліди здійснювали в п'ятикратній повторності.

Визначення кольорів пігментів дріжджових клітин, які зазнали впливу металів, проводили в онлайн-програмі «ColorHexa» (табл. 1). Перш ніж почати вказувати кольори в HTML (від англ. HyperText Markup Language – «мова гіпертекстової розмітки») за допомогою шістнадцятирічної системи числення, спершу визначали значення палітри RGB (скорочення від слів Red Green Blue – Червоний Зелений Синій). Шістнадцятирічне представлення RGB – це колір у форматі HEX.

Для визначення шістнадцятирічного цифрового коду прийнятий такий синтаксис: на початку коду ставили символ «#», потім вводили шестизначний набір символів у шістнадцятирічній системі числення. Перша пара символів відповідала за червоний колір, друга – за зелений, третя – за синій, тобто це та сама RGB-палітра, тільки в іншому позначенні [4, 5].

Проте для ідентифікації пігментованих форм мікрофлори користувалися способом, який дозволяє кількісним шляхом виразити різницю кольору між контролем та дослідними зразками мікроорганізмів (рис. 1) [3].

Для складання таблиці-визначника мікроорганізмів здійснювали цифрове зображення зразків культур мікроорганізмів (рис. 2 А-Г), при рівні освітлення 83 лк, з відстані 30 см від об'єкта зйомки без спалаху цифрового фотоапарата.

Цифрове зображення передавали на комп'ютер у програму AdobePhotoshop, та визначали відтінки кольору колоній мікроорганізмів. Далі, за допомогою пакета програм CIE Lab, розраховували показники кольорової моделі: порівнювали відтінки кольору дослідних зразків мікроорганізмів відносно контрольного кольору (фіолетового (рис. 2 Д), зі значеннями кольорової моделі  $L=16$ ,  $a=37$ ,  $b=-18$ ). Шляхом порівняння показників досліджуваних мікроорганізмів з показниками раніш ідентифікованих видів, наведених в табл. 2, можна ідентифікувати видовий склад пігментосинтезувальних мікроорганізмів.

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерних програм «Microsoft Office Excel 2007» і «Statistica 10».

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**  
**ОЦІНКА ІНТЕНСИВНОСТІ ПІГМЕНТОУТВОРЕННЯ ДРІЖДЖІВ**  
**ЗА ДОПОМОГОЮ КОМП'ЮТЕРНИХ ПРОГРАМ**

Програмісти та дизайнери для позначення кольорів використовують в основному шістнадцятирічну систему числення (представлення двійкового коду десятковими символами та буквами, які необхідні розробникам програм для скороченого запису двійкового коду). За допомогою цієї системи числення можна визначити шістнадцятирічні коди 16 млн кольорів, проте недоліком є, по-перше, те, що не для всіх кольорів є опис, тобто назва кольору або відтінку. По-друге, декілька відтінків кольорів можуть об'єднуватися в загальний опис (хоча візуально вони відрізняються). У таблиці 1 наведено спробу визначення кольорів пігментів дріжджових клітин, які зазнали впливу металів, за допомогою шістнадцятирічної системи числення (в онлайн-програмі «ColorHexa»).

Таблиця 1 – Значення шістнадцятирічного цифрового коду кольорів пігментів контрольних і дослідних культур дріжджів

Концентрація Cd <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	Шістнадцятирічний код кольору пігментів	Опис кольору	Концентрація Zn <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	Шістнадцятирічний код кольору пігментів	Опис кольору
<i>Rh. aurantiaca</i> Y-1195			<i>Rh. glutinis</i> Y-1333		
Контроль (без металу)	#d4a592	Slightly desaturated orange <sup>1</sup>	Контроль (без металу)	#c87950	Moderate orange <sup>4</sup>
10	#d4ab8b	Slightly desaturated orange <sup>1</sup>	20	#c39379	Slightly desaturated orange <sup>1</sup>
50	#a3856d	Mostly desaturated dark orange <sup>2</sup>	70	#ab998b	Dark grayish orange <sup>3</sup>
100	#95856c	Mostly desaturated dark orange <sup>2</sup>	100	#979088	Dark grayish orange <sup>3</sup>
200	#a09c93	Dark grayish orange <sup>3</sup>	150	#ada8a2	Dark grayish orange <sup>3</sup>

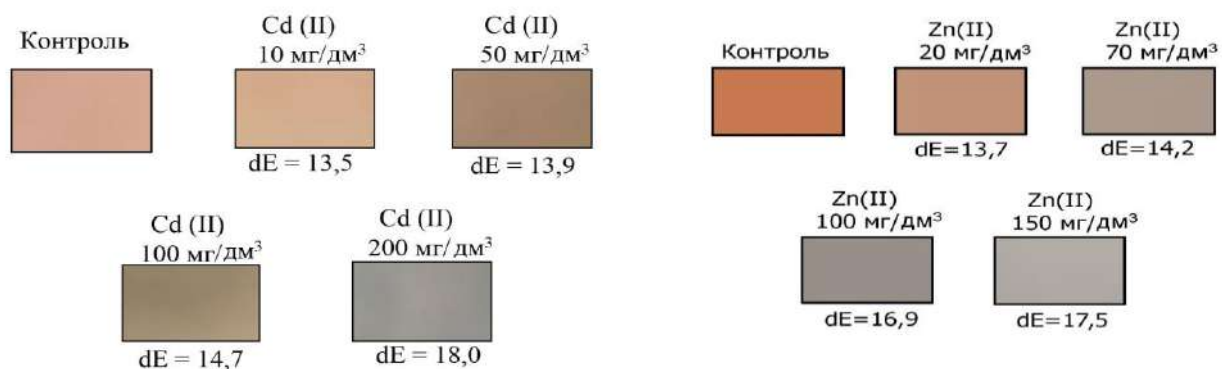
Примітки: <sup>1</sup> дещо ненасичений помаранчевий; <sup>2</sup> здебільшого ненасичений темний помаранчевий; <sup>3</sup> темний сіруватий помаранчевий; <sup>4</sup> помірно помаранчевий.

Перед тим, як вводити значення шістнадцятирічного коду в «ColorHexa», в програму Adobe Photoshop завантажували фотографії та визначали показники RGB. У контролі та досліді (10 мг/дм<sup>3</sup> Cd<sup>2+</sup>) у культури *Rh. aurantiaca* Y-1195 система визначила кольори як «дещо ненасичені помаранчеві». У дослідних зразках із концентраціями 50 і 100 мг/дм<sup>3</sup> Cd<sup>2+</sup> колір називався «здебільшого ненасичений темний помаранчевий», хоча візуально зразки дуже відрізнялися в обох випадках.

Те саме відмічено для дріжджів *Rh. glutinis* Y-1333. За концентрацій 70–150 мг/дм<sup>3</sup> Zn<sup>2+</sup> у культури колір пігментів визначений як «темний сіруватий помаранчевий».

Отже, ця система не є об'єктивною для оцінки кольору пігментів, тому ми звернули увагу на відомий спосіб визначення різниці в інтенсивності кольору пігментів (dE) мікроорганізмів між контролем та дослідом [3].

Отримане чисельне значення dE найбільш точно демонструє різницю кольорів пігментів та дозволяє об'єктивно оцінити вплив металів на інтенсивність кольору пігментів мікроорганізмів (рис. 1).



А

Б

Рис. 1. Значення різниці в інтенсивності кольору пігментів dE на концентраційний ряд металів у дріжджів *Rh. aurantiaca* Y-1195 (А) та *Rh. glutinis* Y-1333 (Б)

Результати розрахунку dE показали, що чим більшою є різниця в інтенсивності кольорів контрольних та дослідних культур, тим більше значення dE.

Так, за концентрації 10 мг/дм<sup>3</sup> Cd<sup>2+</sup> у культури *Rh. aurantiaca* Y-1195 зафіксовано помірне пігментоутворення колоній при візуальній оцінці (++) , значення dE дорівнювало 13,5 ум. од.

За концентрації 200 мг/дм<sup>3</sup> іонів Кадмію колонії були без пігментів (-), тому dE складала 18,0 ум. од. Таку саму закономірність прослідкували в досліді із дріжджами *Rh. glutinis* Y-1333 в присутності іонів Цинку.

За концентрації 20 мг/дм<sup>3</sup> іонів Цинку пігментоутворення колоній характеризувалося як помірне (++) , dE складала 13,7 ум. од., за 150 мг/дм<sup>3</sup> Zn<sup>2+</sup> зустрічалися пігментні та безпігментні колонії (±), тому значення dE було більшим (17,5 ум. од.).

Отже, за допомогою такого способу надається можливість кількісно виразити відмінності в інтенсивності кольору пігментів, який, однак, не дозволяє ідентифікувати видовий склад мікроорганізмів. Проте при розробці методу ідентифікації пігментованих форм мікроорганізмів ми звернули увагу на деякі аспекти його методології.

### МЕТОД ІДЕНТИФІКАЦІЇ ПІГМЕНТОСИНТЕЗУВАЛЬНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Розроблений метод відноситься до мікробіології, екології, харчової промисловості та може бути використаний для швидкої ідентифікації пігментосинтезуювальних мікроорганізмів.

Існує багато способів ідентифікації мікроорганізмів, заснованих на визначенні їхньої хімічної будови, спектральних та хроматографічних властивостей.

Відомий спосіб ідентифікації мікроорганізмів [6], який включає відбір та підготовку проб; вирощування мікроорганізмів на поживному середовищі; газове-хромато-мас-спектрометричний або газове-хроматографічний аналіз біомаси на вміст компонентів мікробних клітин: жирних кислот, оксикислот, альдегідів та інших хімічних компонентів мікробних клітин; введення отриманих даних в комп'ютер для розрахунку, де простежується закономірність і повторюваність хімічного складу певного виду мікроорганізмів і адитивність профілів окремих мікроорганізмів в їх сумарній біомасі; порівняння отриманих даних з базами даних, які попередньо створені; виявлення маркерів мікроорганізмів та ідентифікація видового складу мікроорганізмів.

Однак недоліком цього способу є потреба у висококваліфікованому персоналі, використання спеціального високовартісного обладнання, складність та тривалість способу. Крім того, спосіб має недостатню наочність ідентифікації видового складу мікроорганізмів.

Найбільш близьким до нашого методу є спосіб ідентифікації мікроорганізмів [7], який включає відбір проб; приготування поживних середовищ; засівання проб; інкубування; мікроколориметричне дослідження кривих росту бактерій; цифрову обробку мікроколориметричних кривих росту бактерій; порівняння отриманих даних із даними вже ідентифікованих видів та ідентифікацію видового складу мікроорганізмів. Проте цей спосіб потребує застосування вартісного спеціалізованого обладнання, значно трудомісткий та тривалий у використанні.

В основу нашого методу поставлено завдання розробити спосіб ідентифікації пігментосинтезувальних мікроорганізмів, який шляхом вирощування мікроорганізмів на поживному середовищі, виявлення відтінків їх кольору у цифровому вигляді, визначення різниці інтенсивності кольору колоній у порівнянні з еталоном, співставлення отриманих даних з даними вже ідентифікованих мікроорганізмів дозволить підвищити експресність та наочність способу, спростити процес ідентифікації мікроорганізмів; також цей спосіб надасть можливість виконувати інші етапи ідентифікації видової приналежності мікроорганізмів, і створювати за цими показниками відповідну базу даних пігментосинтезувальних мікроорганізмів [8].

Контрольним кольором обраний фіолетовий із показниками кольорової моделі  $L=16$ ,  $a=37$ ,  $b=-18$ . Саме порівняння з цим кольором помаранчевих і червоних відтінків надає найбільшу різницю інтенсивності кольору між колоніями мікроорганізмів. Наприклад, відносно чорного ( $L=0$ ,  $a=0$ ,  $b=0$ ), білого ( $L=99$ ,  $a=0$ ,  $b=0$ ) та зеленого ( $L=31$ ,  $a=-33$ ,  $b=22$ ) кольорів спостерігалася незначна відмінність у різниці інтенсивності кольору між досліджуваними культурами.

Після цього оцінювали різницю в інтенсивності кольору колоній мікроорганізмів відносно контрольного кольору (рис. 2 Д). Отримані значення наведені в табл. 2.

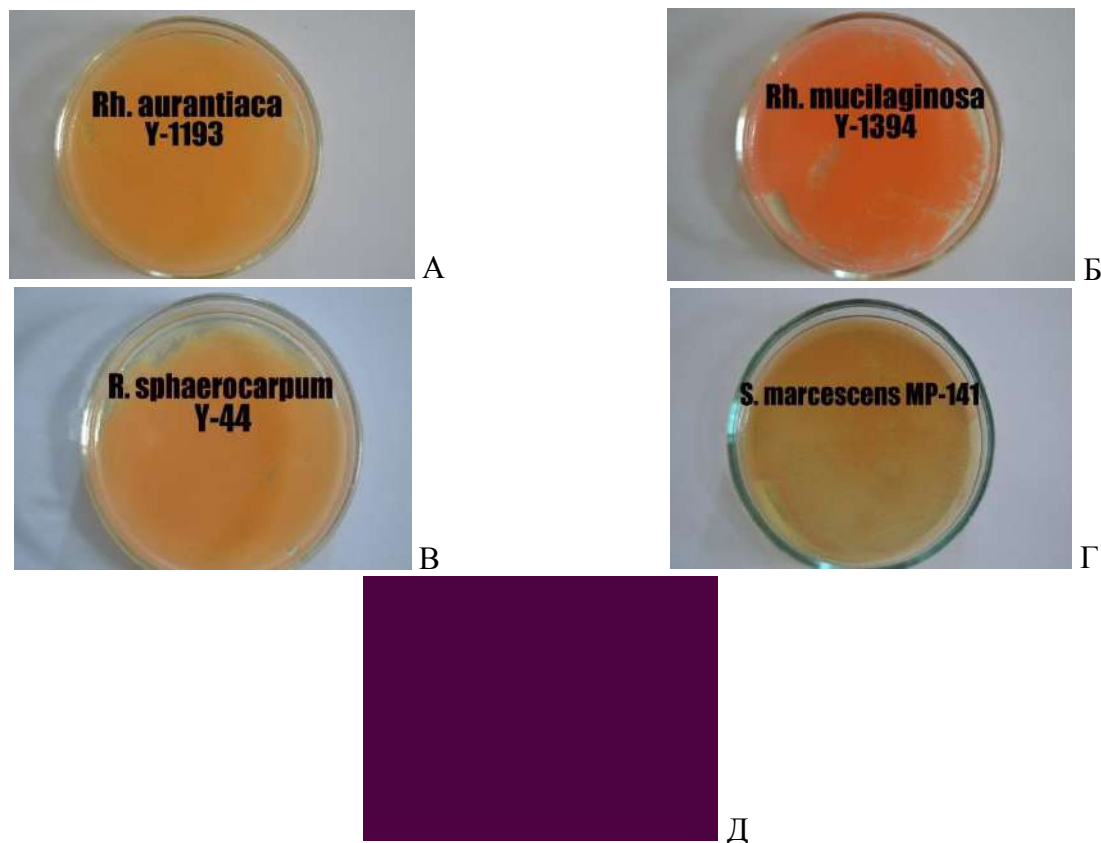


Рис. 2. Колекційні культури дріжджів (А-В) та бактерій (Г) після триденного інкубування; контрольний фіолетовий колір, зі значеннями кольорової моделі  $L=16$ ,  $a=37$ ,  $b=-18$  (Д)

Навіть серед однієї систематичної групи мікроорганізмів зустрічаються штами, які продукують різний якісний склад пігментів, внаслідок чого dE між ними дуже відрізняється. Так, для дріжджів *Sporobolomyces roseus* Y-1443 dE становила 33,93 ум. од., а для штаму *Sp. roseus* Y-1444 dE була на 10 одиниць більшою (43,55 ум. од.).

Проте не для всіх мікроорганізмів можна встановити видову приналежність: за даними результатів досліджень дріжджі *Rh. mucilaginosa* Y-1395 і *Rh. glutinis* Y-1335 та *Rh. aurantiaca* Y-1195 і *Rh. glutinis* Y-1333 мають близькі значення dE, тому ми можемо визначити тільки родову приналежність (*Rhodotorula*). У цьому випадку доцільним буде проведення інших етапів ідентифікації видової приналежності мікроорганізмів.

Таблиця 2 – Різниця в інтенсивності кольорів пігментосинтезувальних мікроорганізмів

№ з/п	Вид мікроорганізму	Значення dE, ум. од. M ± m
Контроль (фіолетовий колір, L=16 a=37 b=-18)		
Дріжджі		
1	<i>Rhodotorula aurantiaca</i> Y-1193	51,40 ± 0,47
2	<i>Rh. aurantiaca</i> Y-1195	45,64 ± 0,25
3	<i>Rh. glutinis</i> Y-1333	45,68 ± 0,37
4	<i>Rh. glutinis</i> Y-1335	44,76 ± 0,28
5	<i>Rh. mucilaginosa</i> Y-1394	41,89 ± 0,07
6	<i>Rh. mucilaginosa</i> Y-1395	44,12 ± 0,22
7	<i>Rhodosporidium sphaerocarpum</i> Y-44	48,30 ± 0,53
8	<i>R. diobovatum</i> Y-42	46,59 ± 0,34
9	<i>R. diobovatum</i> Y-43	35,40 ± 0,40
10	<i>Sporobolomyces roseus</i> Y-1443	33,93 ± 0,37
11	<i>Sp. roseus</i> Y-1444	43,55 ± 0,28
12	<i>Metchnikowia pulcherrima</i> sp.	37,37 ± 0,32
13	<i>Nadsoniella nigra</i>	25,65 ± 0,45
Бактерії		
14	<i>Serratia marcescens</i> MP-141	36,30 ± 0,44
15	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	62,57 ± 1,21
16	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	60,76 ± 0,91
17	<i>Sarcina lutea</i>	77,97 ± 1,42
18	<i>Chromobacterium violaceum</i>	13,19 ± 0,03

Отже, головною перевагою цього способу є його економічність та простота реалізації, а також відсутність потреби в обов'язковій наявності спеціалізованого обладнання, що дозволяє швидко визначити родову (видову) приналежність мікроорганізмів.

Перспективою подальших досліджень є розширення таблиці-визначника шляхом визначення різниці в інтенсивності кольору пігментів між колекційними культурами мікроорганізмів та контрольним кольором-еталоном.

## ВИСНОВКИ

1. Розглянуті методи визначення інтенсивності пігментоутворення мікроорганізмів дозволили виявити недоліки у використанні онлайн-програми «ColorHexa». По-перше, у цій програмі не всім кольорам та їх відтінкам присвоєно назву, по-друге, декілька відтінків кольорів об'єднуються в загальний опис, хоча візуально зразки значно відрізняються.
2. Розроблений спосіб експрес-ідентифікації пігментованих форм мікроорганізмів без значних ускладнень, додаткових систематичних дій, фінансових та енергетичних затрат. Складено таблицю-визначник пігментосинтезувальних дріжджів та бактерій.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Рильський О. Ф. Наукове обґрунтування прокаріотичної біоіндикації забруднення важкими металами природного середовища: дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.16 / Нац. аграр. ун-т. К., 2011. 351 с.
2. Крупей К. С. Біоіндикація забруднення води пігментосинтезувальними дріжджами: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16 / Чернівецький нац. ун-т ім. Юрія Федьковича. Чернівці, 2017. 158 с.
3. Спосіб визначення інтенсивності пігментоутворення у бактерій: пат. 49812 Україна: МПК (2009), C12Q 1/00, C12M 1/00, C12M 1/34. № u200912311; заявл. 30.11.09; опубл. 11.05.10, Бюл. № 9. 10 с.
4. Хвоць С. Т., Варлинсткий Н. Н., Попов Е. А. Микропроцессоры и микро-ЭВМ в системах автоматизированного управления / под. общ. ред. С. Т. Хвоць. Львов: Машиностроение, 1987. 645 с.
5. Гук М. Аппаратные средства IBM PC. / под. ред. М. Гук. Санкт-Петербург: Питер, 2006. 1072 с.
6. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов: пат. 2086642 Россия: C12N1/00, C12N1/20, C12Q1/04. № 93057595/13; заявл. 24.12.93; опубл. 10.08.97, Бюл. № 1. 10 с.
7. Vinas L. D. M., Loren J. G. J. Bermudes. Analysis of microcalorimetric curves for bacterial identification. *Canadian Journal of Microbiology*. Canada, 1987. Vol. 33. № 1. P. 6-11.
8. Спосіб ідентифікації пігментосинтезувальних мікроорганізмів: пат. 117350 Україна: МПК (2017.01) C12N 1/00 G01N 21/00 C12Q 1/02 (2006.01) C12R 1/00 (2006.01). № u201613543; заявл. 28.12.16; опубл. 26.06.17, Бюл. № 12. 8 с.



УДК.....

## ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ У «ВІСНИК ЗАПОРІЗЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ. БІОЛОГІЧНІ НАУКИ»

До друку приймаються статті українською та англійською мовами, що відповідають тематиці серії видання й містять нові наукові результати, не опубліковані раніше.

За структурою стаття має відповідати вимогам, затвердженим постановою президії ВАК України від 15.01.2003 р. № 7-05/1 «Про підвищення вимог до фахових видань, внесених до переліків ВАК України», тобто містити такі необхідні елементи:

- **постановка проблеми** у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;
- **аналіз останніх досліджень і публікацій**, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор;
- **виділення невирішених раніше частин загальної проблеми**, котрим присвячується означена стаття;
- **формулювання цілей статті**;
- **виклад основного матеріалу дослідження** з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;
- **висновки** з даного дослідження і **перспективи подальших досліджень** у даному напрямку.

Виклад матеріалу статті має бути послідовним, логічно завершеним, із чіткими формулюваннями, що виключають подвійне тлумачення або неправильне розуміння інформації; мова тексту має відповідати літературним нормам, бути професійною і лаконічною. Автор зобов'язаний забезпечити високий науковий рівень викладеного матеріалу, повноту і системність висвітлення питання, достовірність результатів і даних, що наводяться, правильність цитування та посилань на літературні джерела. Статті публікуються мовою оригіналу.

### 1. МАКЕТ СТОРІНКИ

Для оригінал-макета використовується формат А4 з полями з усіх боків – 2 см. Для виділення окремих елементів статті застосовуються такі гарнітури, розміри шрифтів та написання для:

- УДК: Times New Roman, 12 пт, нежирний, усі прописні;
- заголовку статті: Times New Roman, 14 пт, напівжирний по центру;
- прізвищ, ініціалів авторів: Times New Roman, 12 пт, усі рядкові;
- назв і адрес організацій: Times New Roman, 12 пт, усі рядкові, *курсивом*;
- адреси електронної пошти: Times New Roman, 12 пт, усі рядкові;
- заголовків анотацій, прізвищ авторів, назв і адрес організацій та тексту анотацій: Times New Roman, 10 пт, *ключові слова* – *курсивом*, міжрядковий інтервал – одинарний;
- основного тексту, виносков, посилань, підписів до рисунків та надписів над таблицями: Times New Roman, 14 пт;
- підзаголовків: Times New Roman, 14 пт, напівжирний, усі прописні;
- інтервал між абзацами – 6 пт, міжрядковий інтервал – полуторний.

У разі необхідності для шрифтових виділень у таблицях і рисунках дозволяється застосовувати шрифт Courier New. Для стилістичного виділення фрагментів тексту вживаються написання: курсив, напівжирний, напівжирний курсив зі збереженням гарнітури, розміру шрифту та інтервалу абзацу.

### 2. ТИПОГРАФСЬКІ ПОГОДЖЕННЯ ТА СТИЛІ

**УДК** вказується в першому рядкові сторінки й вирівнюється за лівим краєм.

**Заголовок статті** набирається в наступному за УДК рядкові й вирівнюється по центру.

У третьому рядку з вирівнюванням по центру зазначаються **прізвища, ініціали авторів**.

У наступному рядку розміщується інформація щодо повної **адреси та назви організації, де працює (навчається) автор**, яка також вирівнюється по центру (*курсивом*).

Четвертий рядок – *адреса електронної пошти авторів*, розташована по центру.

**Далі, якщо стаття подається українською мовою**, розміщується україномовна **анотація** (5-8 речень) з ключовими словами. Другою анотацією є розширена англійськомовна (1800 знаків), перед якою вказується

назва статті, прізвища та ініціали авторів, повна адреса та назва установи. Наприкінці анотації ключові слова англійською мовою.

**Якщо стаття подається англійською мовою**, англійська анотація повинна складатися з 5-8 речень, але бути достатньо інформативною з ключовими словами. Другою – розширеною (1800 знаків) – анотація українською мовою з ключовими словами, перед якою вказується назва статті, прізвища та ініціали авторів, повна адреса та назва установи.

Після анотацій з абзацу викладається основний текст статті.

Основний текст статті повинен мати такі розділи: **ВСТУП, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ, ВИСНОВКИ, ЛІТЕРАТУРА.**

**Заголовки наукових статей** повинні бути інформативними та містити тільки загальноприйняті скорочення. У перекладі заголовків статей англійською не повинно бути жодних транслітерацій, окрім неперекладних назв власних імен, приладів та інших об'єктів, що мають власні назви; також не використовується неперекладний сленг. Це стосується також анотацій і ключових слів.

Наприкінці розділу **ВСТУП** потрібно зазначити **мету дослідження**, а наприкінці розділу **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** – **перспективи подальших досліджень**.

**Ілюстрації** мають бути оригінальними рисунками або фотографіями. Фотографії скануються у 256 градаціях сірого. Ілюстрації розташовуються у відповідних місцях тексту статті (по можливості угорі сторінки) і повинні бути підписані та послідовно пронумеровані арабськими цифрами: Рис. 1, Рис. 2. Номер рисунка та підпис розташовуються безпосередньо під рисунком. Кожен рисунок та підписи до нього включаються до тексту публікації. Створення графічних об'єктів може здійснюватися будь-яким графічним редактором у форматі ВМР файлів. Виконання рисунків засобами Microsoft Word здійснюється через використання команд панелі «Рисование». Підписи здійснюються командою «Надпись». Усі графічні компоненти рисунка і підписи об'єднуються командою «Группировать» (меню «Действия» на панелі «Рисование») і подаються у вигляді одного графічного об'єкта, прив'язаного до тексту. Ілюстрації мають бути підготовані та масштабовані так, щоб розміри букв тексту на ілюстраціях не перевищували розмір букв основного тексту статті більш ніж на 50%.

**Таблиці** розташовуються у відповідних місцях тексту статті (по можливості угорі сторінки) і повинні мати назву та бути послідовно пронумеровані арабськими цифрами: Таблиця 1, Таблиця 2. Номер та назва таблиці розташовуються безпосередньо над таблицями.

**Посилання на літературні джерела** послідовно нумеруються арабськими цифрами в порядку появи в тексті статті і зазначаються у квадратних дужках, у яких вказуються порядковий номер джерела. Перелік літературних джерел мовою оригіналу подається в порядку їх нумерації після основного тексту статті з підзаголовком: «**ЛІТЕРАТУРА**», який вирівнюється по центру. Список літератури оформлюється відповідно до ДСТУ 8302:2015 «Інформація та документація. Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання».

Анотації, ключові слова, основний текст статті, перелік літературних джерел мовою оригіналу вирівнюються по ширині.

**При оформленні статті не припускається:**

- підкреслювати заголовки, підписи і надписи;
- починати сторінку незавершеним рядком;
- переносити слова в тексті статті;
- закінчувати сторінку одним або декількома порожніми рядками, за винятком кінця статті та випадків, спричинених необхідністю уникнення висячих підзаголовків та початку абзацу в кінці сторінки;
- часто використовувати виноски, які повинні розглядатися як виняток і вживатися тільки у випадку дійсної необхідності.

**Прийом статей до друку здійснюється редакційною колегією Вісника ЗНУ при наявності таких документів:**

- 1) **текст статті (електронний, у форматі doc, docx)** надсилається електронною поштою. Назва файлу повинна містити транслітероване прізвище першого автора: (наприклад: Ivanov\_stattya.doc, docx);
- 2) **відомості про автора (авторів)**, що містять таку інформацію: прізвище, ім'я, по батькові; місце роботи або навчання; посада, науковий ступінь, учене звання; адреса для листування; контактні телефони з кодом міста, або мобільний; (наприклад: Ivanov\_avtor.doc, docx);
- 3) **витяг із протоколу засідання кафедри/відділу/лабораторії** щодо рекомендації статті до друку.

Усі статті, що надійшли до редакції, проходять «сліпе» рецензування, на підставі якого редакційна колегія приймає рішення про рекомендацію статті до друку.

**Оплата** за публікацію здійснюється після прийняття рішення редакційної колегії про рекомендацію статті до друку. Згідно з вимогами до друку приймаються статті обсягом до 12 сторінок. Якщо стаття має більший обсяг, кожна сторінка (13-та, 14-та тощо) сплачуються додатково.

Статті, рекомендовані до друку редакційними колеґіями, проходять редагування, коригування та технічну верстку згідно з видавничим форматом і шаблонами видання.

#### **Нагадуємо:**

До публікації приймаються статті, що відзначаються високим науковим рівнем підготовки, містять глибокий самостійний аналіз сучасних проблем розвитку науки.

У статтях і повідомленнях висловлені погляди, які не завжди збігаються з поглядами редакції.

Автор несе відповідальність за достовірність фактичних даних та інформації, що містяться в статтях, чіткість викладення тексту, цитування, а також за мовностилістичний рівень написання матеріалів.

Редакційна колегія здійснює зовнішнє та внутрішнє рецензування статей та залишає за собою право відмовляти в їх опублікуванні в разі, коли статті не відповідають вимогам.

**Відповідальні редактори:** *Задорожня Вікторія Юліївна* – 097-166-25-85; 098-549-01-09

*Лебедєва Наталія Іванівна* – 050-970-03-01

**Електронна пошта:** visnik.znu.bio@gmail.com; lebnatalya@ukr.net

**Адреса редакційної ради біологічного факультету:** 69600, Україна, Запоріжжя, вул. Гоголя, 62 (III корпус ЗНУ), к. 107.

Збірник наукових праць

*Вісник Запорізького національного університету*  
*Біологічні науки*

*№ 1, 2018*

Технічний редактор *О. М. Міхєєва*

Верстка, дизайн-проробка, оригінал-макет і друк  
виконані у редакційно-видавничому відділі  
Запорізького національного університету  
тел. (061) 289-12-98

Підписано до друку 03.07.2018. Формат 60 x 90/8.  
Папір Data Copy. Гарнітура «Таймс».  
Друк ризографічний. Ум.-друк. арк. 7,4.  
Замовлення № 151. Наклад 100 прим.

Запорізький національний університет  
69600, м. Запоріжжя, МСП-41  
вул. Жуковського, 66

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи  
до Державного реєстру видавців, виготівників  
і розповсюджувачів видавничої продукції  
ДК № 2952 від 30.08.2007 р.