ISSN 2410-0943

Міністерство освіти і науки України
Запорізький національний університет

Вісник

Запорізького національного університету

Заснований
у 1998 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію
друкованого засобу масової інформації
Серія КВ № 15436-4008 ПР від 22.06.2009 р.

Адреса редакції:
вул. Жуковського 66, корп. 1, ауд. 216,
м. Запоріжжя, Україна, 69060

Телефон
для довідок:
+38 066 53 57 687

Біологічні науки

№ 1, 2020

Видавничий дім
«Гельветика»
2020

DOI Вісник Запорізького національного університету:
Збірник наукових праць. Біологічні науки https://doi.org/10.26661
DOI № 1/2020 https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1

Вісник Запорізького національного університету: Збірник наукових праць. Біологічні науки. Запоріжжя: Видавничий дім «Гельветика», 2020. № 1. 72 с.

Рекомендовано до друку та поширення через мережу Internet вченою радою ЗНУ (протокол засідання № 3 від 27.10.2020 р.)

На підставі Наказу Міністерства освіти і науки України № 886 від 02.07.2020 р. (додаток 4) збірник включено до Переліку наукових фахових видань України категорії «Б» у галузі біологічних наук (091 – Біологія, 101 – Екологія).

Журнал індексується в міжнародній наукометричній базі даних Index Copernicus.

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

Головний редактор

Сарабєєв В.Л. – кандидат біологічних наук, доцент, доктор габілітований (Франція), Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)

Заступники головного редактора відповідальні за наукові напрями:

Амінов Р.Ф. – кандидат біологічних наук, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Бражко О.А. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Дворщенко К. О. – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Київського національного університету ім. Т. Шевченко (Київ, Україна)
Домбровський К.О. – кандидат біологічних наук, доцент, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Кружиліна С.В. – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Інституту рибного господарства НААН України (Київ, Україна)
Лях В.О. – доктор біологічних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Межжерін С.В. – доктор біологічних наук, професор Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАНУ (Київ, Україна)
Христенко Д.С. – кандидат біологічних наук, доцент Національного університету біоресурсів та природокористування України (Київ, Україна)
Фролов О.К. – доктор медичних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)

Члени редакційної колегії журналу:

Корнет М.М. – кандидат біологічних наук, доцент, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Швець В.М. – доктор біологічних наук, доцент, Запорізький державний медичний університет (Запоріжжя, Україна)
Омельянчик Л.О. – доктор фармацевтичних наук, професор, Запорізький національний університет (Запоріжжя, Україна)
Попеску К.Г. – доктор філософських наук, доцент, Університет Питешті (Питешті, Румунія)
Бальбуена Х. А. – доктор філософії Інституту біорізноманіття та еволюційної біології ім. Каванійєс Університету Валенсії (Валенсія, Іспанія)
Рубцова Н.Ю. – кандидат біологічних наук, доцент, Інститут паразитарних захворювань, Центр паразитології, Inc (PCI) (Скоттсдейл, США)

Відповідальний редактор: Задорожня В. Ю. – канд. біол. наук, Запорізький національний університет (Україна)

ISSN 2410-0943
© Запорізький національний університет, 2020

ЗМІСТ

РОЗДІЛ І. ДОСЛІДНИЦЬКІ СТАТТІ

БІОІНДИКАЦІЙНА ОЦІНКА ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ УРБОЕКОСИСТЕМИ ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА ЗА ДОПОМОГОЮ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ПИЛКУ ДЕРЕВНИХ ВИДІВ 5
Мельниченко Г. М., Кімакович В. Є., Кириленко Я. О.

ВМІСТ КОРТИЗОЛУ ТА ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ КАРАСЯ КИТАЙСЬКОГО *CARASSIUS AURATUS* (LINNAEUS, 1758) ЗА УМОВ АМОНІЙНОГО НАВАНТАЖЕННЯ 14
Причепа М. В., Коваленко Ю. О., Потрохов О. С., Худіяш Ю. М.

ОСОБЛИВОСТІ ЗРОСТАННЯ ТА ПОШИРЕННЯ МОХОПОДІБНИХ В УМОВАХ МІСТА ЗАПОРІЖЖЯ 22
Домбровський К. О., Рильський О. Ф., Тунік А. Г.

ВПЛИВ ГІРУДОТЕРАПІЇ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ 29
Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Амінова А. С.

БІЛОАКАЦІЄВА МІЛЬ-СТРОКАТКА (*PARECTOPA ROBINIELLA* CLEMENS, 1863) У ПАРКОВИХ ЗОНАХ М. ДНІПРА 37
Голобородько К. К., Русинов В. І., Пахомов О. Є.

ПРЕДИКТОРИ КОРОТКОСТРОКОВОЇ СМЕРТНОСТІ У ХВОРИХ НА ГЕПАТОРЕНАЛЬНИЙ СИНДРОМ 44
Руснак І. Т., Тащук В. К., Сливка Н. О., Березова М. С., Акентьєв С. О.

ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОДИНАМІКИ У ПУБЕРТАТНИЙ ТА ПОСТПУБЕРТАТНИЙ ЕТАПИ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ 50
Станішевська Т. І., Горна О. І., Горбань Д. Д.

РОЗДІЛ ІІ. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

ТОКСИЧНІСТЬ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ЯК ПОКАЗНИК ЧУТЛИВОСТІ І СТІЙКОСТІ РОСЛИН ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ: ОГЛЯД 59
Сергєєва Л. Є., Хоменко Л. О., Броннікова Л. І.

CONTENTS

SECTION I. RESEARCH PAPERS

BIOINDICATION ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL CONDITION OF IVANO-FRANKIVSK URBOECOSYSTEM WITH THE HELP OF POLLEN QUALITY INDICATORS OF SOME TREE SPECIES 5
Melnychenko H. M., Kimakovych V. Ye., Kyrylenko Ya. O.

THE CONTENT OF CORTISOL AND THYROID HORMONES IN THE BLOOD PLASMA OF GOLDFISH *CARASSIUS AURATUS* (LINNAEUS, 1758) UNDER AMMONIUM LOADING 14
Prychepa M. V., Kovalenko Yu. O., Potrokhov A. S., Khydiyash Yu. M.

FEATURES OF GROWTH AND DISTRIBUTION OF MOSSES IN THE CONDITIONS OF THE ZAPORIZHZHIA CITY 22
Dombrovskiy K. O., Rylsky A. F., Tunic A. G.

INFLUENCE OF HIRUDOTHERAPY ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF LABORATORY RATS 29
Aminov R. F., Frolov A. K., Aminova A. S.

THE LOCUST DIGITATE LEAFMINER (*PARECTOPA ROBINIELLA* CLEMENS, 1863) IN PARK AREAS OF DNIPRO CITY 37
Holoborodko K. K., Rusynov V. I., Pakhomov O. Ye.

PREDICTORS OF THE SHORT-TERM MORTALITY IN PATIENTS WITH HEPATORENAL SYNDROME 44
Rusnak I. T., Tashchuk V. K., Slyvka N. O., Berezova M. S., Akentyev S. O.

FEATURES OF HEMODYNAMICS IN PUBERTAL AND POSTPUBERTAL STAGES OF HUMAN ONTOGENESIS 50
Stanishevska T. I., Gorna O. I., Horban D. D.

SECTION II. REVIEW

THE TOXICITY OF HEAVY METAL IONS IS A MARKER OF PLANT SENSITIVENESS AND RESISTANCE TO ABIOTIC STRESSES: A REVIEW 59
Sergeeva L. E., Khomenko L. A., Bronnikova L. I.

РОЗДІЛ І. ДОСЛІДНИЦЬКІ СТАТТІ

УДК 574:504.054
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-01

Біоіндикаційна оцінка екологічного стану урбоекосистеми Івано-Франківська за допомогою показників якості пилку деревних видів

Мельниченко Г. М., Кімакович В. Є., Кириленко Я. О.
ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника», Україна
gdutchak@ukr.net

Ключові слова: *рівень стерильності пилку, морфологічна різноякісність пилку, урбоекосистема Івано-Франківська.*

У статті проаналізовано низку параметрів мікроспорогенезу за дії комплексу урбогенних чинників на прикладі домінантних деревних рослин міста. Показано зростання морфологічної різноякісності, збільшення частки стерильних та аномальних пилкових зерен у пилковій культурі. Об'єктом дослідження обрано види *Tilia cordata Mill., Betula pendula Roth.* та *Salix alba L.,* які широко представлені на території міста. Дослідження показали, що вплив урботехногенних чинників досліджуваної території має виражений гаметоцидний ефект, який проявляється депресивними змінами чоловічого гаметофіту деревних рослин: збільшенням частки безкрохмальних пилкових зерен та підвищенням його морфологічної різноякісності. Максимальний рівень безкрохмальних пилкових зерен притаманний для *Tilia cordata Mill.* Коефіцієнт стерильності пилку зазначеного виду у різних районах міста флуктує в діапазоні 1,26 – 4,80. Достовірне зменшення лінійних розмірів чоловічого гаметофіту констатовано для *Tilia cordata Mill.* та *Betula pendula Roth.* Найвища морфологічна різноякісність пилку властива для *Salix alba L.* та *Tilia cordata Mill.* Частка карликових пилкових зерен у різних районах міста коливається у межах 1,1% − 4,2% для *Salix alba L.* та 3,7% − 12,8% для *Tilia cordata Mill.;* гігантських − 2,5% − 10,2% і 2,4% − 8,5% відповідно. Забруднення повітряного басейну у центральній частині міста викидами автотранспорту індукує процеси порушення мікроспорогенезу, яке проявляється збільшенням частки стерильного і морфологічно-аномального пилку. Морфо-фізіологічні та цитологічні особливості пилкових зерен слугують інформативними біоіндикаційними ознаками урботехногенного впливу. Найбільш перспективним видом для біоіндикаційної оцінки гаметоцидності середовища в умовах міста Івано-Франківська є *Tilia cordata Mill.;* найвищою резистентністю відзначається чоловічий гаметофіт *Salix alba L.*

Bioindication assessment of the ecological condition of Ivano-Frankivsk urboecosystem with the help of pollen quality indicators of some tree species

Melnychenko H. M., Kimakovych V. Ye., Kyrylenko Ya. O.
Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ukraine

Key words: *pollen sterility level, morphological diversity of pollen, urban ecosystem of Ivano-Frankivsk.*

A number of parameters of microsporogenesis under the action of a complex of urbogenic factors on the example of dominant woody plants of the city are analyzed in the article. An increase in morphological diversity, an increase in the share of sterile and abnormal pollen grains in pollen culture is shown.

The objects of the study were *Tilia cordata Mill., Betula pendula Roth.* and *Salix alba L.,* which are widely represented in the city. The researches have shown that the influence of urban factors on the study area has a pronounced gametocidal effect, which is manifested by depressive changes in the male gametocidal effect of woody plants: increasing the proportion of starchless pollen grains and increasing its morphological diversity. The maximum level of starchless pollen grains is characteristic of *Tilia cordata Mill.* The coefficient of sterility of pollen of this species in different parts of the city fluctuates in the range of 1.26-4.80. A trustworthy decrease in the linear size of the male gametophyte was observed for *Tilia cordata Mill.* and *Betula pendula Roth.* The highest morphological diversity of pollen is characteristic of *Salix alba L.* and *Tilia cordata Mill.* The share of dwarf pollen grains in different parts of the city ranges from 1.1% to 4.2% for willow and 3.7% to 12.8% for *Tilia cordata Mill.;* giant – 2.5% – 10.2% and 2.4% – 8.5%, respectively. Pollution of the air basin in the central part of the city by vehicle emissions induces the processes of violation of microsporogenesis which is manifested by an increase in the proportion of sterile and morphologically abnormal pollen. Morphological and physiological and cytological features of pollen grains serve as informative bioindication signs of urban and technogenic influence. The most promising species for bioindication assessment of gametocidity of the environment in the city of Ivano-Frankivsk is *Tilia cordata Mill.;* the male gametophyte Salix alba L. has the highest resistance. For increasing the informativeness of biomonitoring studies in the city of Ivano-Frankivsk, it is advisable to supplement them with such indicators of gametocidity of the environment as the level of sterility of pollen grains of *Tilia cordata Mill.* and *Betula pendula Roth.;* the degree of morphological diversity of pollen *Tilia cordata Mill.* and *Salix alba L.*

Вступ

Перспективним напрямом в індикації стану урбоекосистем та визначення мутагенної напруженості навколишнього середовища є дослідження репродуктивних структур вищих рослин, насамперед чоловічого гаметофіту[1–9]. Як показали дослідження останніх років, пилкові зерна чутливі до забруднення. Зокрема, встановлено, що за дії промислових полютантів відбуваються порушення морфогенезу, зміни окремих фізіолого-біохімічних характеристик, підвищення абортивності та зниження життєздатності пилку. За умов екологічного неблагополуччя рослини продукують велику кількість тератоморфних (потворних) і стерильних пилкових зерен[4, 8–9].

Останнім часом спостерігається тенденція до доповнення традиційних фізико-хімічних методів оцінки екологічного стану урбоекосистем біоіндикаційними. Біоіндикаційні методи дозволяють визначити комплексну дію всіх забруднювачів, присутніх у об'єктах навколишнього середовища, є високочутливими і достатніми для адекватних оцінок[1–9].

Найбільш цінними біоіндикаційними властивостями характеризуються деревні рослини, які безпосередньо входять у комплекси озеленення міських вулиць. Унаслідок тривалої експозиції в антропогенно змінених умовах середовища існування вони здатні відображати хронічний вплив малих доз інгредієнтів промислових викидів, указувати на мутагенність середовища в реальному комплексі екологічних факторів[2–4, 8].

За спостереженнями В.П. Бессонової, урбопромислові забруднювачі не лише володіють загальнотоксичним впливом на біоту, а й здатні спричинювати так звані «віддалені наслідки», зокрема проявляти гаметоцидну дію[1–2]. Тому перспективним підходом в індикації стану урбоекосистем та визначення мутагенної напруженості навколишнього середовища є дослідження репродуктивних структур вищих рослин, насамперед чоловічого гаметофіту.

А.І. Горова і співавтори[3] запропонували власний методологічний підхід у цитогенетичній біоіндикації навколишнього середовища, на основі якого можна оцінити стан природних об'єктів за токсико-мутагенним фоном, що дає оцінку рівня загальної екологічної та генетичної небезпеки для людини та біоти. Для встановлення рівня токсико-мутагенної напруги середовища науковці використовують різницю між значеннями цитогенетичних показників у біоіндикаторів та аналогічними показниками в екологічно чистих районах. До основних критеріїв токсичності поряд з іншими вони відносять збільшення частоти зустрічності стерильних пилкових зерен. На основі порівняльного аналізу стан території характеризують як сприятливий, конфліктний, критичний та небезпечний[3].

О.Ф. Дзюбою[4–5] запропонована методика паліноіндикації навколишнього середовища. Дослідник рекомендує аналізувати пилок за такими параметрами, як: розміри пилку, форма, кількість апертур, їх тип і характер розташування, товщина і кількість шарів спородерми, характер і тип скульптури спородерми, порушення симетрії пилку, а також обов'язкова фіксація аномальних пилкових зерен, їх кількості.

На думку М.М. Миленької[7], під час біомоніторингових досліджень урбанізованих і техногенно-змінених екосистем на клітинному рівні необхідно досліджувати стан репродуктивних структур вищих судинних рослин, а саме частку безкрохмального та непроросло

пилку, довжину пилкових трубок, морфологічні аномалії пилкових зерен.

Т.В. Морозова[8] здійснила різнорівневу біоіндикаційну оцінку слабко урбанізованих територій Чернівецької області. Біоіндикація на субклітинному рівні організації проводилась за низкою індексів: індексом безкрохмальних пилкових зерен, індексом хромосомних порушень та мікроядерним індексом.

З огляду на вищенаведене, останнім часом стрімкого розвитку набуває паліноіндикація. Комплексні паліноіндикаційні дослідження в урбоекосистемі Івано-Франківська раніше не проводилися і мають фрагментарний характер, тому мета дослідження – оцінити стан пилку домінантних деревних видів: *Tilia cordata* Mill., *Betula pendula* Roth. та *Salix alba* L. в умовах урбанізованого середовища Івано-Франківська; вивчити перспективність використання таких показників, як рівень стерильності, середні розміри, відсоток аномальних пилкових зерен у практиці біоіндикаційних досліджень.

Матеріали та методи

Дослідження проводили у межах восьми ландшафтно-географічних районів поліфункціональної урбоекосистеми Івано-Франківська (північного, північно-східного, північно-західного, західного, центрального, південного, південно-східного та східного). Під час визначення районів дослідження керувались генеральним планом забудови міста. Як контроль було вибрано умовно екологічно чисту територію − Галицький національний природний парк.

Об'єктом дослідження вибрано види *Tilia cordata* Mill., *Betula pendula* Roth. та *Salix alba* L., які широко представлені на території міста. Пилок відбирали з квіткових суцвіть у період масового цвітіння з підвітряного боку дерева з нижнього ярусу крони з гілок одного порядку галуження за стандартною методикою[10]. Для визначення впливу урботехногенного забруднення на стан чоловічого гаметофіту нами було проведено визначення рівня стерильності, середнього діаметру та відсотка аномальних пилкових зерен.

Кількість фертильних і стерильних пилкових зерен визначали на тимчасових давлених препаратах йодним методом за стандартною методикою[10] по Граму. Морфологічну різноякісність оцінювали за частотою зустрічності гігантських та карликових пилкових зерен, що відповідно були в 1,3–1,5 раза більші чи менші за середню норму. Переглядали по 600–1000 зерен від однієї особини кожного виду, або 3000–5000 на досліджувану ділянку. Цитологічний аналіз проводили під мікроскопом Olympus CX-300, вимірювання здійснювали у разі збільшення мікроскопа 400х використанням програмного продукту Quick PHOTO MICRO 2,3 for Windows.

Отримані результати опрацьовували загальноприйнятими варіаційно-статистичними методами; достовірність виявлених відмінностей між фоновою та досліджуваними територіями визначали за t-критерієм Стьюдента за 5-відсоткового рівня значущості α.

Результати

Результати проведених біоіндикаційних досліджень показали, що спонтанний рівень стерильних пилкових зерен *Tilia cordata* Mill. на фоновій території становив у середньому 2,90%, *Betula pendula* Roth. – 2,34%, *Salix alba* L. – 1,66%. Рівень індукованих безкрохмальних пилкових зерен збільшувався в декілька разів порівняно з контрольним варіантом (рис. 1). Так, максимальний рівень безкрохмальних пилкових зерен був виявлений для липи серцелистої. Зокрема, у центральному районі міста рівень стерильності пилку становив 13,93% (у 4,80 раза вищий порівняно з контролем), у північно-східному – 10,57% (рис. 2. А), що відповідає значенню $К_{сп}$ – 3,64 (рис. 2. Б). Найнижчі значення $К_{сп}$ представників виду *Tilia cordata* Mill. відзначено у східному, західному, південному та південно-східному районах міста (1,34, 1,66, 1,63, 1,26 відповідно (рис. 2. Б)). Найвищий рівень стерильності чоловічого гаметофіту берези повислої також спостерігали у центральному районі міста, але він був нижчий, ніж у липи серцелистої на 5% і у 3,82 раза перевищував фоновий показник. Високий рівень безкрохмального пилку констатовано у північно-східному районі – 8,84%, що у 3,78 раза перевищував фонове значення (рис. 2. А). Мінімальна стерильність пилку берези відзначена в особин зі східного, західного та південного районів, коефіцієнт стерильності становив 1,37, 1,56 та 1,32 відповідно (рис. 2. Б). Рівень стерильності пилку верби білої коливався в діапазоні від 6,33% у центральному районі міста до 2,05% в південно-східному за фонового значення – 1,66%. Низький рівень безкрохмального пилку також було відзначено на території східного (2,41%), західного (2,39%) та південного (2,11%) (рис. 2. А) районів.

Для більш повного визначення впливу техногенного забруднення на стан пилкових зерен нами було проведено визначення середніх діаметрів пилкових зерен. Розмір життєздатного пилку липи варіював від 28 до 52 мкм, верби – від 14 до 36 мкм (було зафіксовано декілька пилкових зерен розміром 44 мкм), берези – 14–30 мкм.

У межах урбоекосистеми Івано-Франківська спостерігали зменшення середніх розмірів пилку *Tilia cordata* за рахунок збільшення кількості

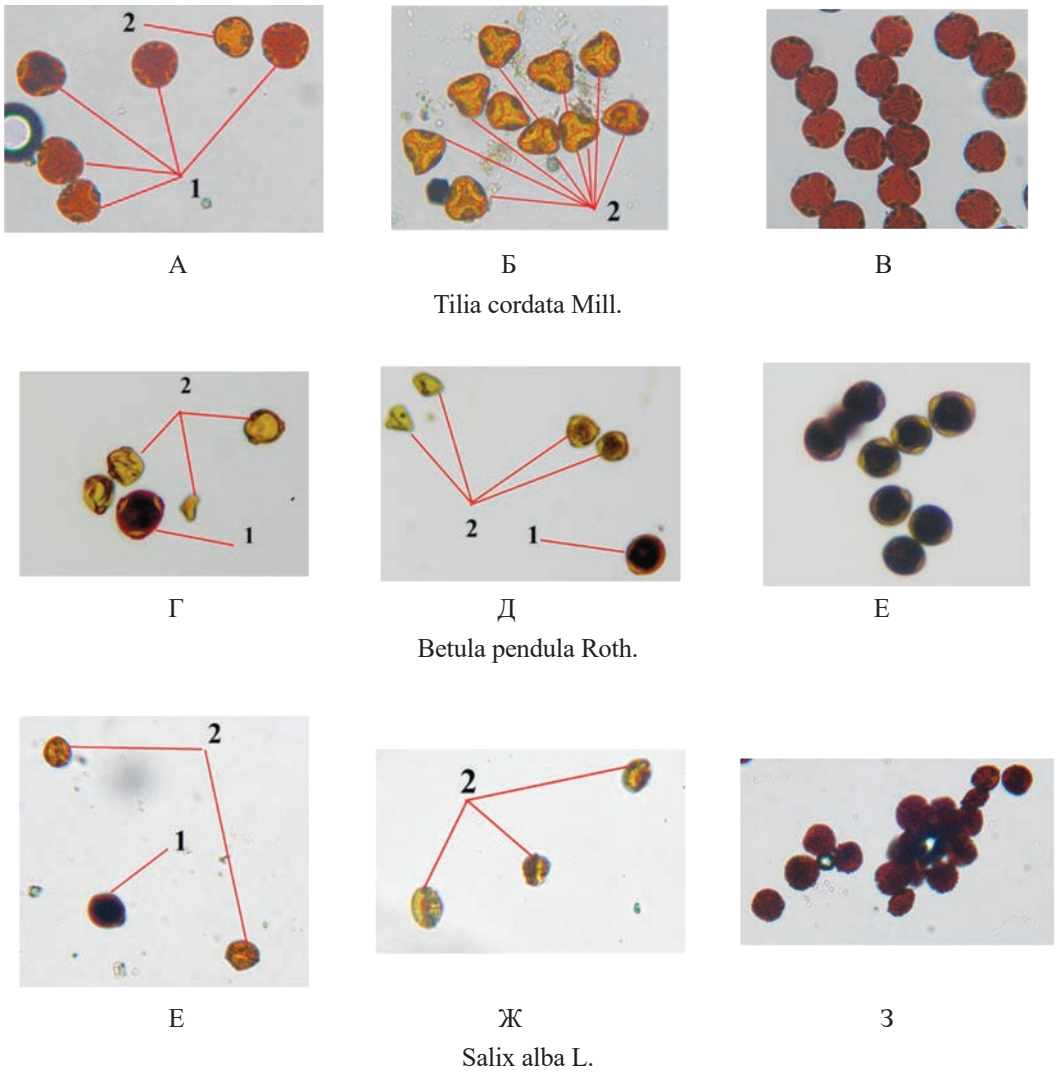


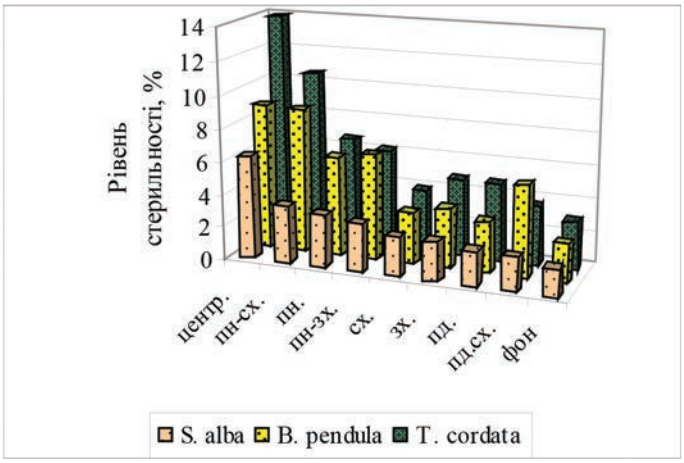
Рис. 1. Мікрофотографії пилкових зерен *Tilia cordata* Mill., *Betula pendula Roth., Salix alba* L. : А, Б, Г, Д, Є, Ж: 1 – Фертильний пилок, 2 – стерильний; В, Е, З – усі фертильні. Забарвлення: розчин йоду в йодистому калії (за Грамом). Збільшення: 400

карликових пилкових зерен (за винятком південного району) (табл. 1). Для південного, південно-східного та західного районів міста різниця була статистично недостовірною. Для східного, північного, північно-східного та центрального районів міста фіксували зниження середнього діаметру пилкових зерен у середньому на 3 мкм порівняно із контролем. Зменшення середніх розмірів у межах вищезазначених районів міста супроводжується зростанням гетерогенної групової реакції (Cv, %). Зокрема, коефіцієнт варіації у центральному районі міста становив 15,90%, тоді як на фоновій територій – 7,73%.

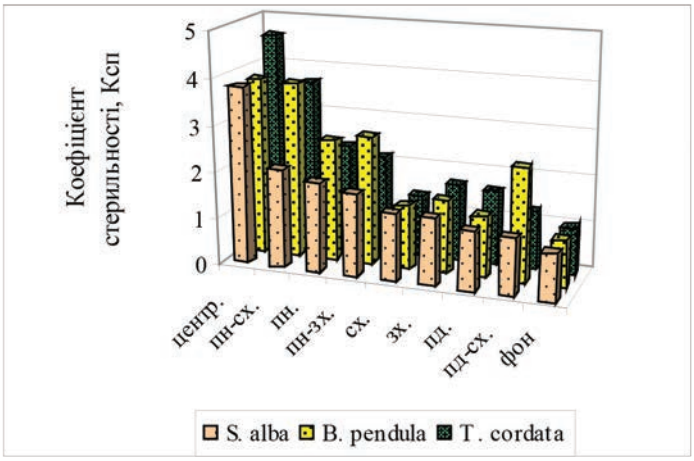
Зменшення лінійних розмірів пилку берези повислої порівняно з контролем спостерігали лише для центрального району міста, а для всіх інших різниця була статистично недостовірною (табл. 1). Коефіцієнт варіації коливався від 7,46% у західному районі до 11,58–13,08% у центральному та північно-східному за фонового значення – 6,24%.

Для верби білої констатували збільшення середніх розмірів пилку в центральному та північно-східному районах міста у середньому на 1,4 мкм за рахунок зростання частки гігантських пилкових зерен. У інших районах міста зміни середніх розмірів були статистично недостовірними (табл. 1). Для представників виду *Salix alba* L. зафіксовано найвищі, порівняно з іншими досліджуваними видами, коефіцієнти варіації (25,04% – у північному, 23,57% – у центральному та 24,58 – у північно-східному, за фонового – 10,71%).

Зростання морфологічної різноякісності пилку липи серцелистої у різних районах урбоекосистеми Івано-Франківська порівняно з фоновою територією відбувається в основному за рахунок



А



Б

Рис. 2. А. Рівень стерильності пилку (%); Б. Коефіцієнт стерильності пилку у різних районах урбоекосистеми Івано-Франківська

збільшення кількості карликових пилкових зерен (рис. 3 А-Б). Відсоток карликових пилкових зерен варіював від 12,8% у центральному районі міста до 3,4% на фоновій території, а гігантського пилку – від 8,5% до 1,6%. Найменше пилку аномальних розмірів виявлено у південному та південно-східному районах міста (2,4 і 3,0% карликового та 3,7 і 4,5% гігантського відповідно) (рис. 4).

Для берези повислої фіксували найменшу кількість морфологічно-аномальних життєздатних пилкових зерен. Кількість карликового пилку була найвищою у центральному районі і становила 5,7% за фонового 1,3%, а гігантського – у північному (3,1%) (рис. 4). У північно-західному, південному та західному районах гігантського пилку, як і на фоновій території, не було виявлено. Для верби встановлено зворотну закономірність: зростання частки гігантського пилку в усіх районах міста за винятком південно-східного (рис. 3 В-Г). У центральному районі частка гігантських пилкових зерен становила 10,2% за фонового 2,7%. Найменшу кількість гігантського пилку виявлено в південному та південно-східному районах (3,2 та 2,5%, відповідно) (рис. 4).

Обговорення

Отримані результати біоіндикаційних досліджень свідчать про низький рівень безкрохмальних пилкових зерен у представників досліджуваних видів, що ростуть на відносно чистій території. Збільшення відсотка безкрохмального пилку констатовано в умовах урбанізованого середовища м. Івано-Франківська. Це, очевидно, є наслідком впливу полютантів на репродуктивні структури досліджуваних видів. Найменшу чутливість до впливу урбогенних факторів порівняно з *Tilia cordata* Mill. та *Betula pendula* Roth. проявляють представники виду *Salix alba* L.

Таблиця 1 – Середній діаметр пилкових зерен *Tilia cordata* Mill., *Betula pendula* Roth., *Salix alba* L.

Район дослідження	Діаметр пилку, мкм M±m		
	T. cordata	*B. pendula*	*S. alba*
Контроль	40,83±0,53	24,00±0,19	22,15±0,27
Південний	40,98±0,50	23,76±0,20	22,02±0,28
Південно-східний	39,52±0,65	24,11±0,22	21,86±0,32
Західний	39,42±0,70	23,64±0,21	22,71±0,44
Східний	39,02±0,64*	23,97±0,30	22,32±0,46
Північно-західний	38,50±0,70*	23,39±0,25	22,10±0,36
Північний	37,91±0,72*	23,32±0,31	23,13±0,60
Центральний	37,47±0,99*	23,13±0,31*	23,67±0,76*
Північно-східний	37,23±0,55*	22,69±0,48	23,51±0,60*

* – достовірна відмінність від контролю ($p < 0,05$)

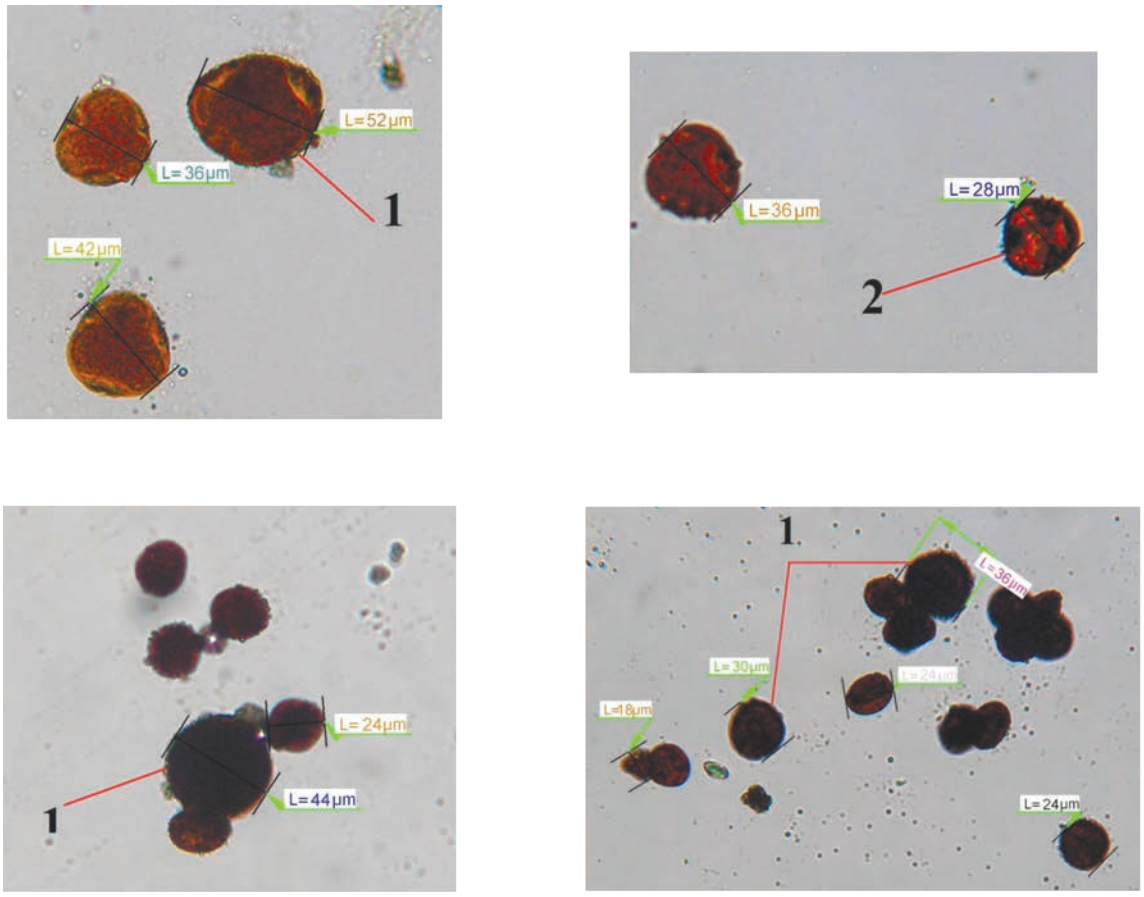


Рис. 3. Морфологічна різноякісність пилкових зерен *Tilia cordata* Mill. (А, Б) та *Salix alba* L. (В, Г) в умовах урбоекосистеми Івано-Франківська: 1 – гігантські пилкові зерна; 2 – карликове пилкове зерно

Зростання рівня стерильності пилку в умовах урбанізованого середовища підтверджується дослідженнями низки науковців. Зокрема, дослідженнями В.П. Бессонової[2] встановлено прямий зв'язок між рівнем забруднення і стерильністю пилку в урбоекосистемі Запоріжжя. В усіх досліджуваних пилкових зернах 11 видів деревних рослин спостерігали значно більший показник стерильності у моніторингових точках, ніж у контролі, і суттєві варіації цього показника. Також спостерігали позитивну кореляцію між зростанням частоти морфологічно аномальних ПЗ і рівнем забруднення.

Дослідженнями М.М. Миленької[7] підтверджено зростання частки безкрохмального пилку в умовах

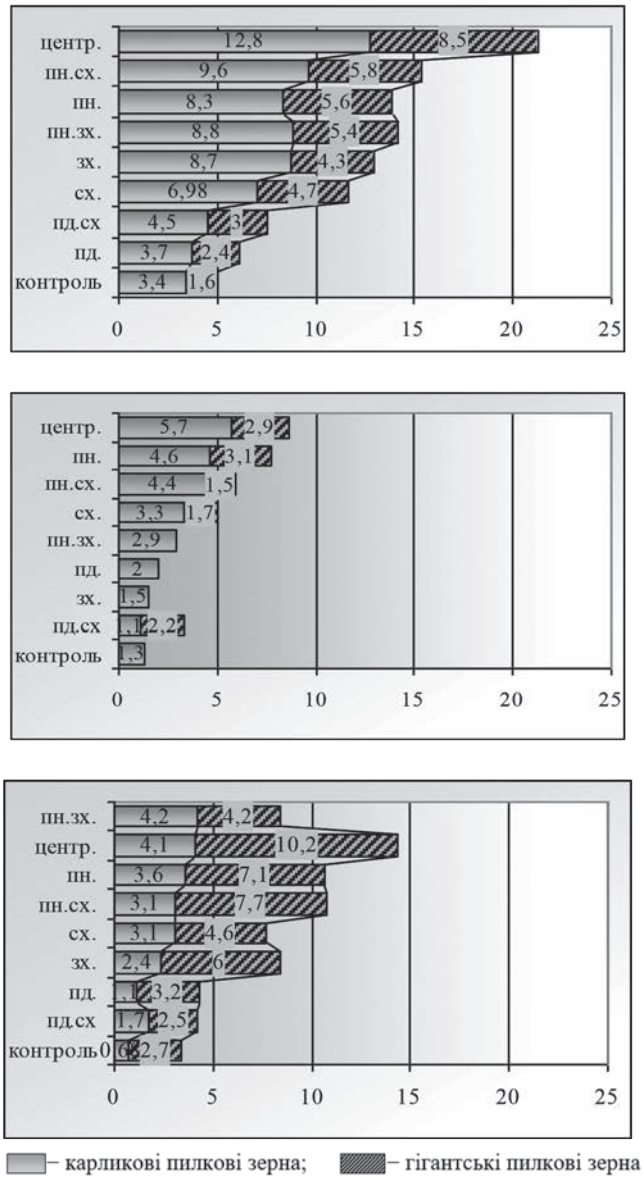


Рис. 4. Частота появи гігантських та карликових пилкових зерен *Tilia cordata* Mill., *Betula pendula* Roth., *Salix alba* L. у різних районах міста

Бурштинської урбоекосистеми. Було виділено відмінні за рівнем токсико-мутагенної напруги зони. Найбільш чутливими до комплексу урботехногенних факторів виявились *Populus pyramidalis* Roz., *Tilia cordata* Mill. та *Betula pendula* Roth., які автор вважає найбільш перспективними для практики біоіндикаційних досліджень.

Т.В. Морозовою[8] встановлено, що найбільш чутливим до сукупного рівня забруднення ґрунтів важкими металами є індекс безкрохмальних ПЗ *Ranunculus acris* L. Також було здійснено оцінку наслідків аеротехногенного забруднення навколишнього середовища промисловими викидами за їхнім гаметоцидним впливом на деревні рослини в умовах промислових зон м. Чернівці. Проведені дослідження показали збільшення відсотка безкрохмальних ПЗ в умовах промислового забруднення довкілля.

У межах урбоекосистеми Івано-Франківська також констатували зменшення середніх розмірів пилку *Tilia cordata* та *Betula pendula* за рахунок збільшення кількості карликових пилкових зерен. Зменшення середніх розмірів пилку *Tilia cordata* спостерігали у всіх районах міста за винятком південного району. Зменшення лінійних розмірів пилку берези повислої порівняно з контролем спостерігали лише для центрального району міста, а для всіх інших різниця була статистично недостовірною. На відмінну від липи серцелистої та берези повислої, для

верби білої констатували збільшення середніх розмірів пилку в центральному та північно-східному районах міста (у середньому на 1,4 мкм) за рахунок зростання частки гігантських пилкових зерен. Для берези повислої фіксували найменшу кількість морфологічно-аномальних життєздатних пилкових зерен.

Аналогічні зміни пилку під впливом факторів міського середовища спостерігала М.М. Миленька (в урбоекосистемі Бурштина) та І.Й. Случик (в урбоекосистемі Івано-Франківська)[7], де поряд зі зниженням рівня фертильності пилку спостерігалося зменшення його середніх розмірів та зростання морфологічної різноякісності, що виражалося у збільшенні кількості карликових і гігантських пилкових зерен, що, відповідно, були в 1,5–2 рази менші чи в 1,3–1,5 раза більші за середнє значення.

Згідно з результатами проведених біоіндикаційних досліджень інтенсивність прояву гаметоцидного ефекту, зумовленого урботехногенними факторами, відрізняється у різних районах міста. Так, у центральному районі міста констатовано максимальне ушкодження чоловічого гаметофіту, що узгоджується із результатами проведеного екологічного моніторингу міста[11]. Найбільшим забруднювачем атмосферного повітря в урбоекосистемі Івано-Франківська є автомобільний транспорт, на який припадає близько 83% від сумарного забруднення. Найзабрудненіше повітря зафіксоване в центральній частині міста, що характеризується інтенсивним рухом автотранспорту[11] та найімовірніше індукує процеси порушення мікроспорогенезу, що проявляється збільшенням частки стерильного і морфологічно-аномального пилку.

Достовірне збільшення показників стерильності та морфологічної різноякісності пилкових зерен досліджуваних деревних рослин у північно-східному та північному районах міста, ймовірно, пов'язане із дальнім аеропереносом забруднювачів, зокрема від Бурштинської ТЕС, ВАТ «Івано-Франківськцемент», фірми «Барва», які розташовані з підвітряного боку стосовно міста та відіграють значну роль у формуванні екологічної ситуації.

Висновки

Отже, вплив урботехногенних чинників досліджуваної території має виражений гаметоцидний ефект, який проявляється депресивними змінами чоловічого гаметофіту деревних рослин: збільшенням частки безкрохмальних пилкових зерен та підвищенням його морфологічної різноякісності. Послідовне зростання рівня ушкодження чоловічого гаметофіту у районах: фонова територія, південний, південно-східний, східний, західний, північно-західний, північний, північно-східний, центральний, свідчить про зростання антропогенного навантаження цих екотопів.

Морфо-фізіологічні та цитологічні особливості пилкових зерен слугують інформативними біоіндикаційними ознаками урботехногенного впливу. Найбільш перспективним видом для біоіндикаційної оцінки гаметоцидності середовища в умовах міста Івано-Франківська є *Tilia cordata* Mill.; найвищою резистентністю відзначається чоловічий гаметофіт *Salix alba* L. Для підвищення інформативності біомоніторингових досліджень у місті Івано-Франківську доцільним є їх доповнення такими показниками гаметоцидності середовища, як рівень стерильності пилкових зерен *Tilia cordata* Mill. та *Betula pendula* Roth., ступінь морфологічної різноякісності пилку *Tilia cordata* Mill. та *Salix alba* L.

Література

(1) Бессонова, В.П.; Лыженко, И.И. Влияние загрязнения среды на прорастание и физиологическое состояние пыльцы некоторых древесных растений. *Ботан. Журн.* **1991**, *76*, 1, 422–426.

(2) Бессонова, В.П.; Бессонов, Е.П.; Зверковський, В.М. Оцінка стану пилку деревних рослин в урботехногенній екосистемі. *Питання біоіндикації та екології.* **2013**, *18,* 1, 70–83.

(3) Горовая, А.И.; Бобырь, Л.Ф.; Скворцова, Т.В. Методологические аспекты оценки мутагенного фона и генетического риска для человека и биоты от действия мутагенных экологических факторов. *Цитология и генетика.* **1996**, *30*, 6, 78–86.

(4) Дзюба, О.Ф. Палиноиндикация качества окружающей среды. Недра: Санкт-Петербург, **2006**.

(5) Дзюба, О.Ф. Изучение пыльцы из поверхностных проб для оценки качества окружающей среды. *Нефтегазовая геология. Теория и практика.* **2006**, *1*, 1−18.

(6) Ибрагимова, Э.Э. Индикация загрязнения среды автотранспортными выбросами по их гаметоцидному действию на растения. *Матеріали міжнар. науково-практ. конф. «Сучасні наукові дослідження* 2006». Днепропетровск: Наука і освіта, 2006. Т. 18. С. 45–48.

(7) Миленька, М.М. Життєздатність пилку деревних рослин як критерій якості навколишнього середовища. *Екологія та ноосферологія.* **2009**, *20*, 181–187.

(8) Морозова, Т.В. Різнорівнева біоіндикаційна оцінка екологічного стану слабкоурбанізованих селітебних територій Чернівецької області : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.16 «Екологія». Чернівці, 2005. 22 с.

(9) Шевцова, Т.В.; Гаркава, К.Г.; Бриндза, Я.; Островський, Р.С.; Мотильова, М. Морфометрія пилкових зерен берези бородавчастої як індикатор якості екостану. *Питання біоіндикації та екології.* **2014**, *19*, 2, 121–138.
(10) Руденко, С.С.; Костишин, С.С.; Морозова, Т.В. Загальна екологія: практичний курс. Навчальний посібник. Частина 1. Урбоекосистеми. Чернівці: Книги – ХХІ, **2008**, 342.
(11) Головне управління статистики в Івано-Франківській області. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.ifstat.gov.ua/

УДК [597.2/5:577.17]:504.05
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-02

Вміст кортизолу та тиреоїдних гормонів у плазмі крові карася китайського *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) за умов амонійного навантаження

Причепа М. В., Коваленко Ю. О., Потрохов О. С., Худіяш Ю. М.
ORCID: 0000-0002-3114-2402,
Інститут гідробіології Національної академії наук України, Україна
prichepa1987@ukr.net

Ключові слова: *карась китайський, гормони, вплив амонію, адаптивні реакції.*

Розглянуто особливості зміни вмісту кортизолу, тироксину та трийодтироніну в плазмі крові карася китайського до довготривалого перебування у середовищі, забрудненому сполуками амонію. Вміст гормонів було визначено імуноферментним методом із використанням стандартних комерційних наборів. Встановлено, що у плазмі крові карася з водойми, яка містить високу концентрацію амонійного азоту в воді (до 48,0 мг N/дм3), рівень трийодтироніну підвищувався у 1,38 раза, проте вміст тироксину знижувався у 3,87 раза порівняно з умовним контролем. Зміна показників вмісту тиреоїдних гормонів у сироватці крові карася свідчить на користь трансформації резервів Т4 у активну форму Т3. Це наголошує на активації обмінних процесів за впливу сполук амонію. Також були встановлені корелятивні зв'язки між зростанням вмісту неорганічного амонію та Т3 (r=0,847) і зниженням Т4 (r=-0,773). Також встановлено (p≥0,05) нижчий вміст кортизолу у плазмі крові карася, що перебував у водоймі, забрудненій сполуками неорганічного амонію. Це свідчить на користь відсутності явищ гострого стресу на момент проведення досліджень.

Зміна вмісту Т3 вказує на спрямованість гормональної відповіді риб на вплив надмірних концентрацій неорганічного амонію. У результаті тривалого пристосування риб до токсичного забруднення водного середовища у плазмі крові карася китайського істотно змінюється вміст гормонів, які залучені у регуляції обміну речовин, зокрема на посилення процесів, спрямованих на забезпечення нормальної життєдіяльності. У результаті цього нами встановлено також суттєві відмінності між лінійно-масовими показниками риб, що було наслідком тривалого перебування угруповання карася китайського у не типових екологічних для цього виду умовах. Отримані результати зміни вмісту гормонів: кортизолу, тироксину, трийодтироніну відображають фізіологічний стан досліджуваного виду риб за умов антропогенного забруднення. Це дозволяє їх активно залучати для проведення біомоніторингу екологічного стану окремих водойм, зокрема за інтенсивного забруднення середовища сполуками азоту. Отримані результати доповнюють вже наявні показники щодо дослідження фізіолого-біохімічних показників карася китайського за умов азотного навантаження.

The content of cortisol and thyroid hormones in the blood plasma of Goldfish *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) under ammonium loading

Prychepa M. V., Kovalenko Yu. O., Potrokhov A. S., Khydiyash Yu. M.
Institute of Hydrobiology of National Academy of Science of Ukraine, Ukraine

Key words: *goldfish, hormones, influence of ammonium, adaptive reactions.*

The peculiarities of changes in the content of cortisol, thyroxine and triiodothyronine in the blood plasma of goldfish for a long stay in an environment contaminated with ammonium compounds are considered. The hormone content was determined by the enzyme immunoassay using standard commercial kits. It was found that in the blood plasma of goldfish from the reservoir, which contains a high concentration of ammonium nitrogen in water (up to 48.0 mg N / dm3), the level of triiodothyronine increased by 1.38 times, however, the thyroxine content decreased by 3.87 times compared to the conditional control. The change in the parameters of the content of thyroid hormones in the goldfish in the blood plasma testifies in favor of the transformation of T4 reserves into the active form of T3. This emphasizes the activation of metabolic processes when exposed to ammonium compounds. Also, correlations were established between an increase in the content of inorganic ammonium and T3 ($r = 0.847$) and a decrease in T4 ($r = -0.773$). It was also found ($p \geq 0.05$) a low content of cortisol in the blood plasma of a goldfish that was in a reservoir contaminated with inorganic ammonium compounds. This indicates the absence of acute stress phenomena at the time of the research.
The change in the content of T3 indicates the direction of the hormonal responses of fish to the effect of excessive concentrations of inorganic ammonium. As a result of long-term adaptation of fish to toxic pollution of the aquatic environment in the blood plasma of the goldfish, the content of hormones involved in the regulation of metabolism, in particular, the enhancement of processes aimed at ensuring normal vital activity, changes significantly. As a result, we also found significant differences between the linear mass indicators of fish, which was a consequence of the long stay of the goldfish group in non-typical ecological conditions for this species. The obtained results of changes in the content of hormones: cortisol, thyroxine, triiodothyronine reflect the physiological state of the studied fish species under conditions of anthropogenic pollution. This allows them to be actively involved in biomonitoring of the ecological state of individual water bodies, including for intensive pollution of the environment with nitrogen compounds. The results obtained supplement the already existing indicators for the study of physiological and biochemical parameters of goldfish under nitrogen loading.

Вступ

Розвиток сільського господарства та глобальні кліматичні зміни призводять до екзогенного та ендогенного надходження біогенних сполук до водойм. Будь-які хімічні сполуки антропогенного походження, що потрапляють до водного середовища в кількості, яка перевищує середні природні фонові значення, можуть розглядатись як забруднювачі. Особливо яскраво це виражено на озерних та ставкових екосистемах. Це істотно впливає на якість водного середовища, яке, своєю чергою, є місцем існування для багатьох представників водної фауни. За таких умов можуть створюватись зони посиленого або екстремального забруднення. Це створює екологічні умови, які виходять за межі оптимальних для більшості представників іхтіофауни.

Вплив неорганічного азоту на риб висвітлено у літературі[1–3]. Проте такі дослідження спрямовані на вирішення впливу високих концентрацій неорганічних сполук азоту на життєстійкість риб, функціонування окремих органів у короткочасових експериментах. У свою чергу, механізми пристосування риб до впливу сполук неорганічного азоту у разі довготривалого перебування у такому середовищі залишаються маловивченими[4]. Тому для його визначення необхідно проводити комплексні дослідження, в тому числі і за біохімічними показниками водяних тварин, зокрема за вмістом гормонів у плазмі крові риб.

Токсичні речовини можуть змінювати структуру та функції органів та тканин, зокрема ендокринних залоз риб, що може мати серйозні наслідки для процесів росту, розвитку та репродукції риб[5]. Натепер дослідження впливу токсичних речовин антропогенного походження на гідробіонтів здебільшого проводяться в розрізі модельних експериментів. Такі дослідження зазвичай виявляють чутливість тією чи іншою мірою гідробіонтів, але не здатні повністю розкрити адаптивні властивості їх до негативної дії факторів середовища. У природних водних екосистемах характер і тривалість дії негативних чинників істотно відрізняються, що зумовлює дещо інші особливості відповіді організму на різних рівнях адаптації[6]. Види, що існують за несприятливих екологічних умов, формують угруповання, які здатні забезпечувати такі стратегії виживання, які дозволяють їм існувати та відтворюватись за цих умов. Серед важливих показників фізіолого-біохімічного стану провідне місце належить вмісту гормонів, оскільки нейрогуморальна система залучена у регулювання адаптивної відповіді організму риб за тривалого пристосування. Вивчення особливостей зміни вмісту гормонів у плазмі крові риб можуть розкривати деякі аспекти, які пов'язані з адаптивними реакціями у разі існування в умовах надмірного токсичного забруднення. Відомо, що зміни вмісту гормонів у плазмі риб часто використовують як біомаркери щодо оцінки фізіологічного стану природних угруповань риб[7–8]. Завдяки своїй чутливості до коливання чинників довкілля зміна вмісту тиреоїдних гормонів та кортизолу яскраво ілюструють зміни фізіологічного стану риб ще до видимих ознак деградації водної екосистеми[7]. Саме водойми дендропарку Олександрії (Київська обл.) яскраво ілюструють проблему тривалого забруднення сполуками неорганічного азоту водного середовища. На зазначеній території низка водойм забруднюються вже близько 20 років шляхом надходження через підземні водні джерела значної кількості сполук неорганічного азоту. На це наголошують численні дослідження, проведені на цих водоймах[9–11]. Саме на цих водоймах можна прослідкувати особливості поетапної адаптації риб до високих концентрацій неорганічного азоту.

Своєю чергою зміна вмісту гормонів, які залучені у регуляцію енергетичного обміну, може розкривати один з аспектів адаптивної стратегії риб за існування у нестабільному середовищі.

Мета дослідження – дослідити вміст ключових діагностично важливих гормонів у плазмі крові карася китайського *Carassius auratus* (L) за дії надмірної концентрації неорганічного азоту, що є важливим у проведенні екологічного моніторингу водойм такого типу.

Матеріали та методи

Відбір біологічного матеріалу проводили протягом липня 2018 р. у водоймах м. Білої Церкви (ставки дендропарку «Олександрія»). Відлов риб здійснювали гачковими знаряддями лову. Об'єктом досліджень був карась китайський *Carassius auratus* (L). Вік риб – 3 роки. Відбір проб води для гідрохімічних досліджень здійснювали у ранкові години. Вміст розчиненого кисню визначали за методом Вінклера, концентрацію біогенних речовин (азоту нітратного, нітритного та амонійного) здійснювали фотоколориметричним методом з використанням приладу КФК – 2 МП[12]. Водневий показник (pH) визначали за допомогою pH-метра PH-009 (1). Вміст гормонів у плазмі крові визначали після центрифугування крові протягом 15 хв. при 6 тис. об./хв. Вміст кортизолу, тироксину та трийодтироніну визначали імуноферментним методом з використанням наборів реагентів «ДС-ІФА-Стероїд-Кортизол» «Т3-ІФА» та «Т4-ІФА» (Науково-виробнича лабораторія «Гранум», Україна) за допомогою ІФА-аналізатора Rayto RT-2100C. Статистичну обробку матеріалу проводили за допомогою програм Excel із пакета Microsoft Office та Statistica 5.5. Експериментальні дані представлені як середнє арифметичне значення кількісних показників (M) ± стандартна помилка середнього арифметичного (m). У таблицях і на рисунках наведені середні значення і помилки середнього арифметичного. Для встановлення суттєвості відмінностей між варіантами дослідів використовували метод парного порівняння варіант (критерій Стьюдента). Різниця вважалась статистично значущою за рівня ймовірності $P \leq 0,05$. Під час виконання досліджень було враховано положення, узгоджені «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших цілей» (Страсбург, Франція, 1985)[13].

У процесі досліджень нами було умовно поділені водойми на ті, які забруднюються сполуками азоту (водойма 2), і ті, що характеризувались референтними значеннями цих показників (водойма 1).

Ставок № 1 дендропарку «Олександрія». Штучно створена водойма каскадного типу, що розташована у м. Біла Церква. Водойма має площу 0,4 га, середня глибина становить 1,0 м, а максимальна – 2,5 м. Іхтіофауна складається з 11 видів риб (власні дані). Дані стосовно гідрохімічних показників наведені у табл. 1.

Ставок № 2 дендропарку «Олександрія». Штучно створена водойма каскадного типу, має площу 1,0 га, середню глибину – 1,2 метра, максимальну – 3,5 метра. Іхтіофауна налічує 2 види – чебачок амурський *Pseudorasbora parva* (Temmink

and Schlengel, 1846) і карась китайський *Carrasius auratus* (Linnaeus, 1758). Дані стосовно гідрохімічних показників наведені у табл. 1.

Результати

За результатами проведених гідрохімічних досліджень нами було виявлено істотні відмінності між водоймами дендропарку «Олександрія», зокрема за вмістом біогенних сполук (табл. 1).

Згідно з отриманими даними стосовно вмісту цих сполук у липні 2018 року їх концентрація була значно вищою у забрудненій водоймі (дендропарк «Олександрія»), ніж у чистій, що вплинуло на фізіологічний стан риб.

Згідно з табл. 2, у разі існування угруповань карася китайського протягом тривалого часу у водоймі зі значними концентраціями сполук амонію у риб відбуваються істотні зміни у темпах лінійно-масового росту, що можна розглядати як негативний наслідок дії зазначених сполук на організм карася.

Нами було проаналізовано зміни вмісту тиреоїдних гормонів карася, угруповання якого тривалий час (близько 20 років) перебували у водоймі, яка інтенсивно забруднюється сполуками азоту (рівень амонію сягав до 48,0 мгN/дм^3 – 2018 р.).

За результатами наших досліджень у риб із забрудненої водойми № 2 було встановлено у 3,87 раза нижчий рівень Т4, ніж у контролі (рис. 1). На противагу цьому рівень Т3 (який синтезується переважно з Т4), порівняно з контролем, був вищий у 1,38 раза (рис. 2). Також були встановлені корелятивні зв'язки між зростанням вмісту неорганічного амонію та Т3 (r=0,847) і зниженням Т4 (r=-0,773).

Рівень кортизолу у сироватці крові карася із водойми, що забруднена амонійним азотом, був менший у 1,5 раза ($p \leq 0,05$), ніж у особин карася із чистої водойми (рис. 3).

Обговорення

Відомо, що до переліку найважливіших гідрохімічних характеристик якості води та стану водної екосистеми належать показники концентрації біогенних речовин[3, 14], а саме сполук азоту і фосфору, які є провідними чинниками у процесах евтрофування поверхневих вод та формування первинної продукції у водоймах. Внаслідок господарської діяльності людини у водойми можуть надходити біогенні сполуки у надмірних концентраціях, через що утворюються надлишкова первинна продукція, яка супроводжується появою цілого комплексу негативних порушень в екосистемі, що знаходить своє відображення на видовій структурі та чисельності риб[3]. Здебільшого головні сполуки азоту, які знаходяться у воді, – це йони NH^{4+}, NO_2^- і NO_3^-. У разі надлишкового вмісту цих йонів у природних водоймах може спостерігатись порушення рівня евтрофування водойм. Зазвичай їхній негативний влив в основному проявляється в гемолітичній дії[14]. Це відповідно позначається на загальному фізіологічному стані організму[15]. Варто зазначити, що концентрація неорганічних сполук азоту у воді постійно змінюється незалежно від років і сезонності, що може відображатись на фізіологічному стані водних тварин. Крім того, у водоймі встановлено зростання всіх форм азоту: нітритів, нітратів і амонію, що перевищувало референтні значення. В умовному контролі концентрація неорганічного азоту змінювалась не суттєво, що свідчило про їх стабільний фоновий рівень, який не чинив істотного впливу на процеси життєдіяльності місцевих представників іхтіофауни. Свідченням цього були кількісні відмінності у видовому складі населення іхтіофауни двох водойм.

З огляду на викладену вище інформацію варто зазначити, що зміна вмісту сполук неорганічного азоту у воді однієї із водойм дендропарку

Таблиця 1 – Концентрація сполук азоту у водоймах дендропарку «Олександрія»

Сполуки азоту	2000–2016 рр.		2018 р.	
	Ставок № 1 (умовний контроль)	Ставок № 2 (дослід)	Ставок № 1 (умовний контроль)	Ставок № 2 (дослід)
NH_4^+ – N, мг/дм^3	0,050–0,280	35,09–286,28	0,100–0,276	10,28–65,12
NO_2^- – N, мг/ дм^3	0,015–0,059	0,32–4,86	0,006–0,059	2,43–4,03
NO_3^- – N, мг/ дм^3	0,180–0,340	17,35–100,35	0,08–0,190	110,16–185,20

Таблиця 2 – Розмірно-масові характеристики риб зі ставків дендропарку «Олександрія»

Показник	Умовний контроль (водойма № 1), M±m, n=15	Забруднена водойма № 2, M±m, n=20
Вік риб,	3	3
Маса риби, г	77,9±3,4	24,5±3,1
Довжина риби, см	16,0±0,9	12,4±0,5
Коефіцієнт вгодованості за Кларк	1,7±0,7	1,3±0,3

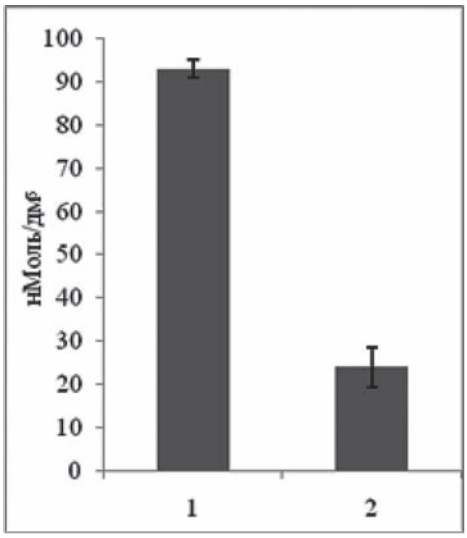


Рис. 1. Рівень Т4 у плазмі крові карася китайського у разі забруднення водойм сполуками неорганічного азоту, 1 – чиста водойма, 2 – забруднена водойма, M±m, n=6

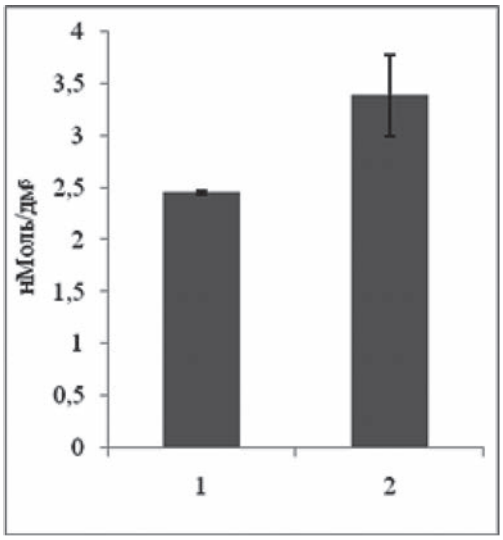


Рис. 2. Рівень Т3 у плазмі крові карася китайського у разі забруднення водойм сполуками неорганічного азоту, 1 – чиста водойма, 2 – забруднена водойма, M±m, n=6

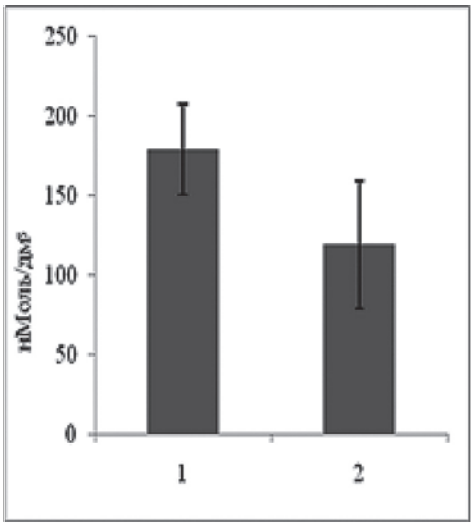


Рис. 3. Рівень кортизолу у плазмі крові карася китайського у разі забруднення водойм сполуками неорганічного азоту, 1 – чиста водойма, 2 – забруднена водойма, M±m, n=6

«Олександрія» може чинити істотний вплив на особливості функціонування органів та тканин, процеси життєздатності, росту, розвитку та можуть істотно змінювати гормональний фон риб, що там існують. Оскільки нейрогуморальна система однією із перших запускає адаптивні процеси для запобігання локальним наслідкам в угрупованнях дослідних риб. Досліджувані особини карася китайського не є винятком, що відобразилось на його фізіологічному стані та процесах росту. Саме у регуляцію цих процесів активно залучені тиреоїдні гормони, зокрема тироксин (Т4) та трийодтиронін (Т3)[16–17]. За свідченнями (В.С. Петер)[18] рівень цих гормонів знижується за дії різноманітних стресорів на риб. У риб, що перебувають у водоймах дендропарку «Олександрія», за тривалого азотного навантаження істотно вищий вміст Т3. Отримані результати могли стати наслідком вимушеного посилення енергетичних процесів, які необхідні для протидії агресивному

середовищу, у якому перебували досліджувані угруповання карася. Тому зміна вмісту гормонів, можливо, сприяла істотним змінам показників росту. На користь цього свідчили дані лінійно-масових показників досліджуваних риб, зокрема у разі перебування у екстремальних умовах. Це своєю чергою вплинуло на посилення адаптивно-компенсаторних процесів у органах і тканинах. Як правило, зміна лінійно-масових характеристик пов'язана із пластичним обміном, що зумовлено характером накопичення енергомістких сполук, зокрема ліпідів та білків, які сприяють накопиченню маси (за рахунок ліпідів) та лінійного росту (за рахунок білків). Ці процеси за нормальних умов існування притаманні для літнього періоду, зокрема липня–серпня. За дії несприятливих факторів ці показники можуть змінюватися, насамперед порушується пластичний обмін, а енергетичний обмін при цьому може навіть зростати. Це знайшло своє відображення у показниках вмісту білків у м'язах та ліпідів у печінці, що були нижчі у забрудненій сполуками азоту водоймі[11]. Це є своєрідним наслідком існування угруповань карася за несприятливих екологічних умов. Зазвичай це певний вихід зі скрутного становища, оскільки риби живуть і розмножуються в умовах «екологічного дискомфорту». З огляду на те, що за певних обставин сполуки амонію здатні переходити з однієї форми в іншу, через що у гідробіонтів цей процес може викликати незворотні зміни у фізіологічному стані[15].

Відомо, що Т3 і Т4 беруть участь у процесах, які спрямовані на подолання явищ гострого та хронічного стресу. Зазначені гормони відіграють важливу роль у регуляції обміну речовин: стимуляції окиснювальних процесів та активізації чи послабленні синтезу ліпідів, що виконують захисну роль організму у разі надходження до тканин речовин токсичної природи[18–19]. Під впливом амонійного азоту різної тривалості карась реагував зменшенням вмісту глюкози у крові за вищого вмісту глікогену в органах і тканинах відносно контролю[11]. Це також могло стати наслідком посилення загального обміну через накопичення легкодоступної енергомісткої сполуки у тканинах печінки для подальшого використання за нагальної необхідності. Передусім це важливо для риб, які існують тривалий час у разі дії несприятливого токсичного чинника. Вочевидь, відбувається підвищена потреба у енергоресурсах, які необхідні у разі надходження токсичних речовин в організм риб, зокрема за надмірного азотного навантаження. Зазначені процеси можна розглядати як своєрідну адаптивну стратегію цього виду, що виробилась протягом тривалого процесу пристосування (протягом 20 років). Наслідком таких пристосувань, зокрема й зміни вмісту тиреоїдних гормонів, є підвищення його резистентних можливостей та формування стійкого угруповання, здатного існувати у нетипових умовах, які критично діють на інші види риб. На противагу нашим дослідженням у водоймах Києва у карася рівень гормонів Т3 і Т4 знижувався залежно від токсичного забруднення[20].

Відомо, Т4 активно перетворюється на трийодтиронін та використовується для підтримки енергетичного обміну на високому рівні, що пов'язано з особливостями конкретного виду та чинників впливу. Проте найактивнішою формою тиреоїдних гормонів є Т3, йому властива більша спорідненість до відповідних рецепторів у тканинах, ніж Т4. Звичайно, коливання вмісту неорганічного азоту протягом різних сезонів та років призводить до повних змін у енергетичному обміні, що відображається на зміні вмісту двох гормонів. Проте за період послаблення токсичного навантаження відбувається накопичення енергомістких сполук, що, відповідно, дає можливість бути більш підготовленими до дії агресивного середовища у подальшому. Тому зміни рівня гормонів у риб із досліджуваних водойм пов'язані із пристосувальними особливостями досліджуваного виду, які спрямовані на забезпечення адекватної відповіді організму за умов хронічного довготривалого стресу у разі існування у відносно нестабільному середовищі.

Внутрішньовидові відмінності у рівні гормонів у карася китайського пов'язані перш за все із характером дії токсичних сполук різного хімічного походження, а також адаптивними можливостями досліджуваного виду долати негативний вплив токсичного забруднення.

Також було розглянуто зміни вмісту кортизолу. Відомо, що за дії деяких токсикантів, зокрема сполук фенолу та свинцю, рівень кортизолу істотно знижується, що пов'язано із пригніченням інтерренальної залози[21]. Кортизол виконує функції відновлення гомеостазу в післястресовий період[22–23] та має енергозаощаджуюче значення[7]. У попередніх дослідженнях, проведених на коропових видах риб, було виявлено міжвидові відмінності у нормі реакції, що відображалось у змінах гормонів тироксину, трийодтироніну та кортизолу. Тому для попередження повторних ситуацій на інших водоймах м. Києва та України загалом необхідно проводити періодичний моніторинг змін гормонального фону риб (з різних екологічних ніш та шарів водойми), які існують у водних об'єктах, що перебувають під прямим та/або опосередкованим впливом людини. Такі заходи необхідні для збереження оптимального екологічного стану природних та штучних водойм. Оскільки зміни вмісту кортизолу в сироватці крові є першочерговою реакцією організму на стресори, зокрема

у разі дії токсичних сполук, тому зміни рівня цього гормону застосовують для оцінки ступеня забруднення водойми та прогнозування його наслідків для природних угруповань риб[16]. Нижчий вміст кортизолу може також свідчити про певні пристосувальні реакції карася в умовах тривалого амонійного забруднення та відсутність гострого стресу (на момент проведення досліджень).

Результати наших досліджень узгоджуються із даними, отриманими стосовно вмісту кортизолу у плазмі крові карася китайського у разі існування протягом тривалого часу у водоймах з інтенсивним забрудненням нафтопродуктами та важкими металами. З огляду на тривалість впливу на угруповання карася китайського сполук амонію відбувались пристосувальні зміни у фізіологічному стані, передусім вмісту гормонів Т3, Т4 та кортизолу, що несе в собі адаптивний характер. Крім того, зміна цих показників адекватно відображає умови існування, де тривалий час перебуває угруповання зазначеного виду. У зв'язку з активізацією обмінних процесів, пов'язаних із детоксикацією і виведенням надлишкового амонію, істотно змінюється біохімічний склад крові карася[24]. Передусім отримані результати дозволяють припустити істотні перебудови у процесах енергозабезпечення риб, що відобразилось на вмісті енергомістких сполук та лінійно-масових характеристиках досліджуваних особин карася китайського.

Також отримані нами результати стосовно зміни вмісту кортизолу, трийодтироніну та тироксину продовжують цикл робіт, присвячених існуванню риб у нетипових для них екологічних умовах існування, спричинених надмірним впливом забруднення.

Разом із тим за роки існування у антропогенно-забруднених водоймах (на прикладі ставів дендропарку «Олександрія») у риб відбулись перелаштування обмінних процесів відповідно до наявних екологічних умов навколишнього середовища, що носять адаптивний характер. Саме тому дослідні види риб продовжують існувати у водоймах із різним токсичним забрудненням та підтримувати чисельність своїх угруповань.

Висновки

За результатами досліджень було встановлено зміни вмісту тиреоїдних гормонів у разі тривалого існування угруповань карася китайського за амонійного навантаження.

У карася, який тривалий час перебував у водоймі, що забруднена сполуками неорганічного азоту, рівень тироксину був менший (у 3,87 раза), а трийодтиронін вищий (у 1,38 раза). Це підтверджує їх участь у адаптивно-компенсаторних реакціях на токсичний вплив йонів амонію.

Було встановлено пряму кореляційну залежність між зміною трийодтироніну у плазмі крові і концентраціями йонів амонію (r=0,847). Також показано обернену кореляційну залежність між змінами тироксину у плазмі і концентраціями йонів амонію (r=-0,773).

Отримані результати свідчать про можливість здійснювати контроль за фізіологічним станом угруповань риб у разі надмірного впливу забруднення води за зміною вмісту гормонів, зокрема кортизолу, тироксину та трийодтироніну.

Вміст гормонів у плазмі крові риб може розкривати деякі аспекти адаптивних процесів, пов'язаних з існуванням у надмірно забруднених водоймах. Це дає можливості для проведення подальших досліджень із залученням додаткових показників для більш глибинного розуміння особливостей видової стратегії досліджуваного виду виживати там, де інші вимирають.

Література

(1) Tilak, K.S.; Veeraiah, K.; & Ryu, M.P. Effects of Ammonia, Nitrite and Nitrate on Hemoglobin Content and Oxygen Consumption of Freshwater Fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Journal of environmental biology*. **2007**, *28* (1), 45–47.

(2) Metwally, M.A.A.; & Wafeek, M. Effect of Ammonia Toxicity on Carbohydrate Metabolism in Nile Tilapia (*Oreochromise niloticus*). *World journal of fish and marine sciences*. **2014,** *6* (3), 252–261. http://doi: 10.5829/idosi.wjfms.2014.06.03.83245.

(3) Camargo, J.A., Alonso, A. (2006). Ecological and Toxicological Effects of Inorganic Nitrogen Pollution in Aquatic Ecosystems: A Global Assessment. *Environ. Int.* 32 (6): 831–8490. DOI: 10.1016/j.envint.2006.05.002.

(4) Svobodova, Z.; Machhova, J.; Kroupova, H.; Smutna, M.; & Groch, L. Ammonia Autointoxication of Common Carp, Case Studies. *Aquaculture International.* **2007,** 15, 227–286. http://doi.org/10.1007/s10499-007-9079-0.

(5) Cardoso, E.L.; Chiarini-Garcia, H.; Ferreira, R.M.A.; Poli, C.R. Morphological Changes in the Gills of *Lophiosilurus alexandri* Exposed to Un-ionized Ammonia. *Journal of Fish Biology*. **1996**, *49* (5), 778–787. DOI: 10.1006/jfbi.1996.0210.

(6) de La Torre, F.R.; Ferrari, L.; A. Salibián, A. Biomarkers of a Native Fish Species (Cnesterodon decemmaculatus) Application to the Water Toxicity Assessment of a peri-Urbanpolluted River of Argentina. *Chemosphere* **2005**, *59* (4), 577–583. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.12.039

(7) Sinha, A.K.; Liew, H.J.; Kumar, M. et al. Combined Effects of High Environmental Ammonia, Starvation and Exercise on Hormonal and Ion-regulatory Response in Goldfish (Carassius auratus L.). *Aquatic Toxicology* **2012**,114–115, 153–164. DOI.org/10.1016/J.aquatox.2015.01.005.
(8) Peter, M.C. The Role of Thyroid Hormones in Stress Response of Fish. *General Comparative Endocrinology*. **2011**, *172* (2), 198–210. http://doi.org/10.1016/j.ygcen.2011.02.023.
(9) Oleynik, G.N.; Starosyla, G.N. (2005). Microbiological Characteristics of Water Bodies Subjected to Intensive Anthropic Load. *Hydrob. Journal.* **2005**, *41* (60), 66–77. DOI: 10.1615/HydrobJ.v41.i6.50.
(10) Romanenko, V.D.; Potrokhov, A.S.; Zin'kovskiy, O.G. Hormonal Mechanism of Energy Supply of the Fish Adaptation to the Inorganic Nitrogen Impact. *Hydrobiol. Journal.* 2011, *47* (2), 55–62. DOI: 10.1615/HydrobJ.v47.i2.60.
(11) Коваленко, Ю.О.; Примачев, М.Т.; Потрохов, О.С.; Зіньковський, О.Г. Деякі Адаптивні Реакції Карася Сріблястого Carassius auratus gibelio (Bloch) за Надмірного Навантаження Амонійним Азотом. *Рибогосподарська наука України* **2018**, *2* (44), 116–129. DOI: 10.15407/fsu2018.02.116.
(12) Арсан, О.М.; Давидов, О.Я.; Дяченко Т.М. та ін. Методи Гідроекологічних Досліджень Поверхневих Вод. Київ: Логос, **2006**. 408.
(13) Резніков, О.Г. Проблеми етики при проведенні експериментів медичних та біологічних досліджень на тваринах України. *Перший національний конгрес з біоетики.* Тези доповідей. Київ, **2001,** 10.
(14) Патика, В.П.; Макаренко, Н.А.; Моклячук, Л.І. та ін. Агроекологічна Оцінка Мінеральних Добрив та Пестицидів: Монографія, Київ: Основа, **2005**, 300 с.
(15) Губський, Ю.І. Біологічна хімія: Підручник. Київ–Тернопіль: Укрмедкнига, **2000**, 508 с.
(16) Prychepa, M.V.; Potrokhov, A.S. Hormonal Regulation of Adaptive Processes in Fishes to Impact of Abiotic Factors (a Review). *Hydrobiological Journal* **2016**, 52 (3), 86–98. **DOI:** 10.1615/HydrobJ.v52.i3.80.
(17) Nahed, S.; Gad, S. Effect of environmental pollution by phenol on some physiological parameters of Oreochromis niloticus. *Global Veterinaria* **2008**, *2* (3), 312–319.
(18) Peter, M.C.S.; Elizabeth, K.L.; Vijayamma, J.; & Peter, V.S. Thyroid Hormone Modifies the Metabolic Response of Air-breathing Perch (*Anabas testudineus* Bloch) to Nimbecidine Exposure. *Journal Endocrinology and Reproduction*. **2009**, 1, 27–36. http://doi.org/10.18311/jer/2009/2013.
(19) Peter, V.S.; Joshua, E.K.; Wendelaar Bonga, S.E.; & Peter, M.C. Metabolic and Thyroidal Response in Air-breating Perch (*Anabastes tudineus*) to Water-borne kerosene. *General Comparative Endocrinology*. **2007**, 152, 198–205.http://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.05.015.
(20) Коваленко, Ю.О.; Шлапак, О.О.; Потрохов, О.С.; Зіньковський, О.Г. Вплив Антропогенного Забруднення Водойм на Фізіолого-біохімічні Показники Риб та Склад їхніх паразитоценозів. *Рибогосподарська наука України.* **2019**, 3 (49), 72–88. DOI: 10.15407/fsu2019.03.072.
(21) (21)Varadarajan, H.; Sankar, H.S.; Jose, J.; Philip, B. Sublethal effects of phenolic compounds on biochemical, histological and ionoregulatory parameters in a tropical teleost fish Oreochromis mossambicus (Peters). *International Journal of Scientific and Research Publications* **2014**. 4 (3), 1–12.
(22) Monteiro, S.M.; Mancera, J.M.; Fernandes, A.F.; Sousa, M. Copper Induced Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of Oreochromis niloticus. *Comp Biochem Physiol.* **2005,** 141 C, 375–383. DOI: 10.1016/j.cbpc.2005.08.002. Epub 2005 Sep 26.
(23) Zeitoun, M.M.; EL-Azrak, K.D.E.M.; Zaki, M.A.; Bahig, R. Nemat-Allah, B.R.; & Mehana, E.S.E. Effects of Ammonia Toxicity on Growth Performance, Cortisol, Glucose and Hematological Response of Nile Tilapia *(Oreochromis niloticus*). *Aceb Journal of Animal Sciense.* **2016**, *1*(1), 21–28. http://doi.org/10.13170/ajas.1.1.4077.
(24) Худіяш, Ю.М.; Причепа, М.В.; Потрохов, О.С.; Зіньковський, О.Г. Особливості Впливу Амонійного Азоту на Фізіологічні Показники Карася Сріблястого Carrasius auratus (Linnaeus, 1758). *Матеріали XII Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології.* 26–28 вересня **2019** року, м. Дніпро. 206–209.

УДК 574,583: 556,55(477,64-2)
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-03

Особливості зростання та поширення мохоподібних в умовах міста Запоріжжя[1]

Домбровський К. О., Рильський О. Ф., Тунік А. Г.
ORCID: 0000-0001-6965-6989
Запорізький національний університет, Україна
dombrov1717@ukr.net

Ключові слова: *бріофлора, деревні насадження, проективне покриття, форофіти, антропогенні комплекси, епіфіти.*

У статті наведені результати досліджень бріофлори двох антропогенних комплексів (культурофітоценозу та селітебного ландшафту) міста Запоріжжя. Визначали місцезнаходження, частоту трапляння, проективне покриття та приуроченість бріофітів до конкретних форофітів на досліджених територіях. Досліджені особливості поширення епіфітних мохоподібних, виявлено їх субстратну приуроченість до найбільш поширених деревних порід. Виділено екологічні групи мохів, їх життєві форми, здійснено оцінку видів за ступенем урбанофільності. Встановлено, що видовий склад досліджених антропогенних комплексів міста представлений 11 видами мохоподібних, з-поміж яких 7 видів є епіфітними, інші види були виявлені на інших субстратах. Серед виявлених мохоподібних 2 види є рідкісними. Найбільша кількість епіфітних бріофітів виявлена на корі *Ulmus minor* Mill., *Populus alba* L. та *Robinia pseudoacacia* L. Середнє видове різноманіття епіфітів характерне для *Acer negundo* L. та *Salix* sp. Мохи досліджених територій міста Запоріжжя реалізують життєві стратегії бріоексплерентів піонерних та бріопатієнтів (екотопічних і ценотичних). Встановлений сильний позитивний кореляційний зв'язок між площею проективного покриття бріофітів та висотою їх розташування на форофітах. За результатами розрахунків індексу чистоти повітря, який коливався від 3,4 до 5,0, території селітебного ландшафту та культуроценозу відповідають середньо й слабко забрудненим бріоіндикаційним зонам відповідно. Порівняльний аналіз видового складу бріофітів двох антропогенних комплексів міста Запоріжжя показав високий коефіцієнт спорідненості (0,60) бріофлор досліджених територій. Отже, видовий склад бріофітів цих територій є досить однорідним. Отримані дані свідчать про значну роль епіфітних мохоподібних, які здатні швидко заселяти деревні насадження антропогенних комплексів міста, що є одним із чинників стабілізації урбоекосистеми.

[1] Автори висловлюють слова вдячності професору кафедри ботаніки Херсонського державного університету Ходосовцеву О. Є. та доценту кафедри ботаніки Херсонського державного університету Загороднюк Н. В. за допомогу в перевірці та визначенні видів мохоподібних.

Features of growth and distribution of mosses in the conditions of the Zaporizhzhia city

Dombrovskiy K. O., Rylsky A. F., Tunic A. G.
Zaporizhzhia National University, Ukraine

Key words: *bryoflora, afforestation of trees, projective cover, phorophytes, anthropogenic complexes, epiphytes.*

The article presents the results of studies of bryoflora of two anthropogenic complexes (cultural phytocenosis and residential landscape) of Zaporizhzhia. Location, frequency, projective cover and confinement of bryophytes to specific phorophytes in the studied areas were determined. The distribution patterns of epiphytic mosses and their substrate preference to the most common tree species have been studied. The ecological groups of mosses, their life forms were identified and the species were evaluated by the degree of urbanophily. It was established that the species composition of the studied anthropogenic complexes of the city is represented by 11 species of bryophytes, among them 7 species of epiphytes, and the rest of the species were detected on other substrates. Among the detected bryophytes 2 species are rare. The largest number of epiphytic bryophytes is detected on the bark of *Ulmus minor* Mill., *Populus alba* L. and *Robinia pseudoacacia* L. The lower richness of epiphytes was found on *Acer negundo* L. and *Salix* sp. The strong positive correlation was revealed between the area of projective cover of bryophytes and their location height on the phorophytes. According to the calculations of the air purity index, which ranged from 3,4 to 5,0, the territories of the residential landscape and cultural cenosis corresponded to the medium and slightly contaminated areas, respectively, as follow to bryoindication. Comparative analysis of species composition of bryophytes of two anthropogenic complexes of the city of Zaporizhzhia showed high similarity index (0,60) of bryoflora of the studied areas. So, the species composition of the bryophytes of these areas is quite homogeneous. The received data indicate the significant role of epiphytic bryophytes that are able to rapidly populate tree plantations of anthropogenic complexes of the city, which is one of the stabilization factors of the urban ecosystem.

Вступ

Місто Запоріжжя є одним з індустріальних центрів південно-східної частини України. У Запоріжжі майже в центрі міської забудови розташовані потужні підприємства чорної та кольорової металургії, хімічної промисловості, машинобудівного комплексу, зокрема й моторобудівної галузі. В історичному аспекті розвиток міста як урбоекосистеми відбувався таким чином, що великі промислові підприємства були розташовані дуже близько до селітебної забудови. Унаслідок такого техногенного навантаження в Запоріжжі склався несприятливий екологічний стан, який вимагав створення зелених насаджень, які частково компенсували би негативний антропогенний вплив на довкілля. Для вирішення цієї екологічної проблеми регулярно проводили озеленення міста здебільшого за рахунок висаджування інтродуцентної дендрофлори, враховуючи біолого-екологічні властивості порід дерев до умов місця зростання[1].

В умовах антропогенно трансформованих територій урбоекосистеми форофіти є одним із поширених природних субстратів для розвитку мохоподібних. Мохоподібні широко використовуються в біоіндикаційних дослідженнях. За допомогою бріоіндикації можна оцінити екологічний стан міського середовища щодо впливу певних екологічних чинників[2–5].

Дослідження багатьох бріологів[6–8] показали, що структура мохоподібних та їх видове різноманіття можуть змінюватися внаслідок трансформації довкілля, наприклад урбанізованої території. Таким чином, мохоподібні можуть відображати урбанізацію у вигляді комплексного явища.

Бріофлора міських територій міста Запоріжжя, насамперед антропогенних комплексів, на сьогодні вивчена не досить. На тлі недостатньої вивченості бріофлори міста у бріологічному аспекті залишаються майже недослідженими урбанізовані території цієї урбоекосистеми. Деякі відомості про видове різноманіття мохоподібних Запорізької області наведені в низці робіт[9–11] у разі проведення інвентаризації мохоподібних України.

Мета дослідження – встановити видовий склад та специфіку поширення мохоподібних в умовах деяких антропогенних комплексів міста Запо-

ріжжя.

Матеріали та методи

Основою для цієї роботи стали результати дослідження оригінального гербарного матеріалу мохоподібних, зібраного авторами на територіях антропогенних комплексів м. Запоріжжя впродовж 2016–2018 рр. Згідно з класифікацією[7] нами була досліджена бріофлора двох антропогенних комплексів – культурофітоценозу (парк-пам'ятка садово-паркового мистецтва місцевого значення, Парк Енергетиків у Дніпровському районі) та селітебного ландшафту (район «Вознесенівського узвозу» – дамби вздовж центральної магістралі проспекту Соборного над частково засипаною балкою (Капустянський Яр), яка з'єднує Олександрівський і Вознесенівський райони міста).

Збір гербарних зразків проводився маршрутним методом на пробних ділянках, закладених у найбільш типових екотопах, заселених мохами. Дослідження епіфітів проводили на 12 пробних ділянках, на кожній із яких досліджували 10 порід листяних дерев незалежно від виду форофіту. Загалом було обстежено 120 екземплярів різних порід: *Acer negundo* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Populus alba* L., *Ulmus minor* Mill., *Salix* sp., що найбільш поширені в зелених насадженнях міста. Стовбур дерева обстежували до висоти 2 м. Під час збору епіфітних та епілітних мохоподібних закладалися пробні ділянки розміром 0,1×0,1 м, під час дослідження наґрунтових екотопів – 0,5×0,5 м. Встановлювали субстратну й екотопічну приуроченість бріофітів, характер мохового покриву, його загальне проективне покриття. Проективне покриття мохоподібних вимірювали за існуючою методикою[12] та оцінювали в балах (від 1 до 4) за відомою шкалою[13]. Епігейні та епіксильні види мохоподібних досліджували на 6 пробних ділянках, де зразки збирали з різних субстратів.

Гербарні зразки мохоподібних визначали за анатомічними та морфологічними ознаками методом світлової мікроскопії з використанням визначників[10, 14]. Частоту трапляння (зустрічальність) мохів розраховували за відношенням ділянок із певним видом до загальної кількості описаних ділянок (метод Раункієра). Для кількісної оцінки ступеня забруднення атмосферного повітря різних зон міста використовували індекс чистоти повітря (ІЧП)[15]:

$$ІЧП = \sum_{i=1}^{n} \frac{Q_i f_i}{10},$$

де: Q_i – екологічний індекс певного виду (індекс токсифобності); f_i – комбінований індекс покриття-трапляння; n – кількість видів.

Екологічний індекс виду (Q_i) визначався за середнім значенням кількості видів, які трапляlися поряд із цим видом на всіх пробних ділянках. Показник покриття-трапляння (f_i) визначався візуально за 5-бальною шкалою: 1 – вид трапляється дуже рідко або з дуже малим покриттям; 2 – вид трапляється рідко або з низьким покриттям; 3 – вид трапляється рідко або із середнім покриттям на деяких стовбурах; 4 – вид трапляється часто або з високим покриттям на деяких стовбурах; 5 – вид трапляється дуже часто або з дуже високим покриттям на більшості стовбурів.

За показниками індексу чистоти повітря виділяють певні бріоіндикаційні зони (ІЧП = 0,0–0,9 – сильно забруднена зона, ІЧП = 1,0–2,6 – зона достатнього забруднення, ІЧП = 2,7–4,9 – середньо забруднена зона, ІЧП = 5,0−10,0 – слабко забруднена зона, ІЧП > 10 – незабруднена зона).

Назви видів мохоподібних та їх таксономічне положення уточнені за «Чеклістом мохоподібних України»[16]. Для встановлення синантропних видів бріофлори використовували класифікацію, розроблену М.Ф. Бойко[17].

Статистичні розрахунки проведено з використанням програмного забезпечення Statistica 10.0. Для обробки результатів використовували стандартні статистичні методики: середні величини обчислювали як середні арифметичні, варіабельність оцінювали за стандартним відхиленням. Критичний рівень статистичної значимості вважався достовірним за $p \leq 0{,}05$. Перевірку нормальності розподілу проводили за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Для оцінки зв'язку між площею проективного покриття епіфітів від висоти їх розташування використовували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена (залежності відрізнялися від лінійних). Для порівняння бріофлор використовували коефіцієнт подібності Сьоренсена-Чекановського.

Анотований список мохоподібних

Amblystegium serpens (Hedw.) Shimp. – Тупокришник повзучий, на корі стовбурів дерев (*Ulmus*, *Populus*), гнилій деревині (*Ulmus*).

Bryum argenteum Hedw. – Головомох сріблястий, на бетонному бордюрі тротуарному (на його горизонтальній поверхні).

Bryum caespiticium Hedw. – Головомох дернистий, на прошарках ґрунту в заглибинах, дрібна форма (класичний *Bryum caespiticium* більший приблизно в 1,5 раза).

***Bryum* sp.** – Головомох, на бетонному бордюрі тротуарному (на його горизонтальній поверхні).

Ceratodon purpureus (Hedw.) Brid. – Всюдник пурпуровий, на корі та біля основи стовбурів дерев (*Ulmus*, *Robinia*, *Populus*), гнилій деревині (*Ulmus*).

Grimmia pulvinata (Hedw.) Sm. – Гріммія подушкова, на бетонному бордюрі тротуарному (на його горизонтальній поверхні).

Leskea polycarpa Hedw. – Льоскея багатоплода, на корі та біля основи стовбурів дерев (*Ulmus*, *Robinia*, *Acer*, *Populus*, *Salix*), гнилій деревині (*Ulmus*).

Orthotrichum patens Bruch ex Brid. – Прямоволосник відхилений, на корі стовбурів дерев (*Ulmus*, *Robinia*, *Populus*), вид включений до старої редакції Red Data Book of European Bryophyte[18].

Orthotrichum pumilum Sw. – Прямоволосник карликовий, на корі стовбурів дерев (*Ulmus*, *Robinia*, *Acer*, *Populus*, *Salix*).

Orthotrichum speciosum Nees – Прямоволосник прекрасний, на корі стовбурів дерев (*Ulmus*, *Robinia*, *Acer*, *Populus*, *Salix*).

Ptychostomum capillare (Hedw.) Holyoak & N. Pedersen (*Bryum capillare* Hedw.) – Сладкопродих волосконосний, на корі стовбурів дерев (*Ulmus*, *Robinia*, *Populus*).

Ptychostomum rubens (Mitt.) Holyoak & N. Pedersen (*Bryum rubens* Mitt.) – Сладкопродих червонуватий, на прошарках ґрунту в заглибинах.

Результати

У зборах із досліджених ділянок антропогенних комплексів міста Запоріжжя нами ідентифіковано 11 видів мохоподібних (1 таксон не віднесено до виду), усі вони є звичайними представниками бріофлори степової зони України. 2 види – *Orthotrichum patens* та *Ptychostomum capillare* – належать до «регіонально рідкісних» (у межах Степової зони) мохоподібних[10]. На двох досліджених територіях мохи розподілені нерівномірно, спільні для них лише 5 видів: *Amblystegium serpens, Orthotrichum pumilum, O. speciosum, Leskea polycarpa, Ptychostomum capillare* (див. табл. 1).

У бріофлористичному комплексі культурофітоценозу (Парк Енергетиків) виявлено місцезростання 9 видів мохоподібних (1 таксон не був віднесений до виду). У складі дослідженої пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення мохоподібні представлені епіфітною, епілітною та епіксильною групами. Епіксильні мохові обростання сформувалися на субстраті рослинного походження – гнилій деревині (повалені стовбури *Ulmus minor*). Епілітні мохоподібні мешкають на бетонному бордюрі тротуарному біля асфальтових доріжок парку. Епіфітна група знайдена на корі живих дерев (стовбурах та основі стовбурів *Robinia pseudoacacia, Ulmus minor, Acer negundo, Populus alba*).

Інший бріофлористичний комплекс селітебного ландшафту сформувався в житловій забудові приватного сектору з достатньою кількістю зелених зон (під дамбою «Вознесенівський узвіз» з обох її сторін), де виявлено 7 видів. Більшість мохоподібних росте тут на території зелених зон, які представлені переважно різновіковими листяними деревами (*Ulmus minor, Salix* sp.). Решта мохоподібних оселяється на ґрунті. Так, на ґрунті траплялися 2 види – *Ptychostomum rubens* та *Bryum caespiticium*; останній вид є високоактивним верхоплідним мохом та типовим для міських умов урбанофілом.

Вплив урбанізації на епіфітні мохоподібні проявляється у вигляді заміни аборигенних видів дерев породами дерев, які не притаманні цій місцевості (інтродуценти). Серед обстежених дерев найпоширенішими інтродуцентами м. Запоріжжя були *Robinia pseudoacacia, Acer negundo, Populus alba*. Перші два види дерев є інвазивними рослинами, які здатні активно проникати у природні насадження. Поширення дерев роду *Populus* обмежується здебільшого селітебними ділянками міста.

Широке поширення в'яза та тополі на досліджених антропогенних комплексах урбоекосис-

Таблиця 1 – Мохоподібні антропогенних комплексів м. Запоріжжя

Вид	Місцезнаходження		Субстрати			
	I	II	S1	S2	S3	S4
Amblystegium serpens	+	+		+	+	
Bryum argenteum	+					+
Bryum caespiticium		+	+			
Bryum sp.	+					+
Ceratodon purpureus	+			+	+	
Grimmia pulvinata	+					+
Leskea polycarpa	+	+		+	+	
Orthotrichum patens	+			+		
Orthotrichum pumilum	+	+		+		
Orthotrichum speciosum	+	+		+		
Ptychostomum capillare	+	+		+		
Ptychostomum rubens		+	+			

Примітки: I – Парк Енергетиків, II – район під дамбою «Вознесенівський узвіз»; S1 – ґрунт, S2 – кора дерев, S3 – гнила деревина, S4 – кам'янистий субстрат антропогенного походження

теми зумовило високе видове різноманіття епіфітних мохоподібних на цих форофітах (див. табл. 2).

Результати дослідження показників проективного покриття бріофітів антропогенних комплексів м. Запоріжжя представлені в таблиці 3.

Високими показниками проективного покриття характеризувалися епіфіти *Orthotrichum pumilum* + *Orthotrichum speciosum* (6,0–50,0%), *Orthotrichum patens* (14,2–28,7%) та *Amblystegium serpens* + *Ptychostomum capillare* (4,3–24,9%). Проективне покриття епігейних мохоподібних на досліджених пробних ділянках антропогенних комплексів було низьким і не перевищувало 1,5%.

Для визначення індексу чистоти повітря досліджених ділянок нами були встановлені індекси токсикофобності, або екологічні індекси, мохоподібних шляхом визначення проективного покриття кожного виду моху в епіфітних обростаннях, які представлені в таблиці 4.

Для Парку Енергетиків ІЧП = 1,5 + 1,5 + 0,2 + 0,3 + 0,4 + 0,6 + 0,5 = 5,0, а для дамби «Вознесенівський узвіз» ІЧП = 0,8 + 0,8 + 0,8 + 0,5 + 0,5 = 3,4. Результати кількісної оцінки ступеня забруднення атмосферного повітря антропогенних комплексів міста показали, що досліджені території належать до слабко забрудненої та середньо забрудненої бріоіндикаційних зон.

Обговорення

Мохи, виявлені в антропогенних комплексах, належать до 7 родів, 6 родин, 5 порядків, 1 класу, 1 відділу мохоподібних (Bryophyta). З-поміж 11 видів мохів, виявлених на досліджених територіях, найбільшою кількістю видів представлені родини *Bryaceae* (4 види, 36,4% видового різноманіття) та *Orthotrichaceae* (3 види, 27,3%). Решта родин представлені 1 видом кожна.

В умовах міста Запоріжжя внаслідок континентальності клімату зі специфічним посушливим літом різноманіття екологічних ніш для мохоподібних обмежене. Серед мохоподібних на більшості

Таблиця 2 – Розподіл епіфітних мохів за видами форофітів

Вид (обстежено дерев)	Обростання (%)	Кількість видів бріофітів	Покриття (в балах)				Середнє
			1	2	3	4	
Ulmus minor (50)	38 (76,0)	7	-	28	10	-	2,26
Populus alba (22)	20 (90,9)	7	-	12	8	-	2,40
Robinia pseudoacacia (8)	6 (75,0)	6	-	-	6	-	3,00
Acer negundo (4)	2 (50,0)	3	-	2	-	-	2,00
Salix sp. (36)	22 (61,1)	3	-	16	6	-	2,27

Таблиця 3 – Середні показники проективного покриття (%) бріофітів на досліджених ділянках м. Запоріжжя за 2016–2018 рр. ($\bar{x}$ ±SD, n≥5)

Види	Культурофітоценоз, 2016 р.	Селітебний ландшафт	
		2017 р.	2018 р.
Orthotrichum pumilum + *Orthotrichum speciosum*	24,46±16,69	15,98±5,02	16,94±15,34
Amblystegium serpens + *Ptychostomum capillare*	10,16±2,33	4,66±0,30	21,85±6,61
Ptychostomum capillare + *Ceratodon purpureus*	-	-	19,26±5,10
Orthotrichum patens	21,30±7,24	-	-
Ptychostomum rubens	0,47±0,03	1,03±0,09	-
Bryum caespiticium	-	0,65±0,04	-
Grimmia pulvinata +*Bryum argenteum* + *Bryum* sp.	16,50±0,08	-	-
Amblystegium serpens + *Leskea polycarpa*	0,49±0,05	-	-

Таблиця 4 – Індекси токсикофобності видів мохоподібних м. Запоріжжя

№ з/п	Вид	Q_i, Парк Енергетиків	Q_i, дамба «Вознесенівський узвіз»
1	*Orthotrichum pumilum*	5,3	4,3
2	*Orthotrichum speciosum*	5,3	4,3
3	*Leskea polycarpa*	5,3	4,3
4	*Amblystegium serpens*	2,0	5,0
5	*Ptychostomum capillare*	2,0	5,0
6	*Orthotrichum patens*	2,5	
7	*Ceratodon purpureus*	2,5	

досліджених ділянкок антропогенних комплексів міста переважають види мезоксерофіти (70%) – епіфіти, які здатні витримувати низьку температуру й дефіцит вологи. Для досліджених ділянок м. Запоріжжя характерні антропофільні, урбанофільні види мохоподібних, які є високорезистентними до забруднення атмосферного повітря (зокрема, *Leskea polycarpa*, *Ceratodon purpureus*, *Grimmia pulvinata*, *Ptychostomum capillare*, *Bryum caespiticium*, *B. argenteum*), помірні урбанофіли *Orthotrichum pumilum*, *O. speciosum* та крайній урбанофіл *Amblystegium serpens*. Ці види бріофітів характерні для антропогенних бріофлор інших міст України[19].

На корі стовбурів та у прикомлевій частині стовбура листяних порід пов'язане обростання 7 видів мохоподібних. На корі *Populus alba* виявлено місцезростання всіх 7 видів мохоподібних. Тут утворюються обростання мохоподібних, які представлені 2–3 видами. У формуванні обростань були виявлені такі мохові угруповання: *Orthotrichum pumilum* + *Orthotrichum speciosum* з домішкою *Leskea polycarpa* (проективне покриття 18–50%); *Amblystegium serpens* + *Ptychostomum capillare* приблизно в рівному співвідношенні (покриття до 13%); *Orthotrichum patens* з домішками стерильних екземплярів *Ptychostomum capillare*, *Ceratodon purpureus* (проективне покриття не перевищує 14%).

Склад і структура обростань мохоподібних, зібраних на стовбурах *Ulmus minor* (покриття 4–21%), *Robinia pseudoacacia* (покриття 28–32%), *Salix* sp. (покриття 18–22%) та *Acer negundo* (покриття до 8%), подібні до мохових угруповань на тополях. У межах досліджених територій нами не було виявлено чітко виражену видоспецифічність мохових угруповань, віднесених до окремих видів форофітів. Найкраще виражені епіфітні мохові обростання були виявлені на таких видах дерев, як *Populus alba* (90,9%), *Ulmus minor* (76,0%), *Robinia pseudoacacia* (75,0%).

За результатами проведеного дослідження на території обстежених ділянок антропогенних комплексів виявлено 3 життєві форми мохоподібних. У дослідженій групі мохоподібних переважають види із життєвою формою щільної дернини (*Ceratodon purpureus*, *Ptychostomum capillare*, *Bryum caespiticium*), що становлять 55% від загальної кількості бріофітів. Мохоподібні із життєвою формою подушкоподібної дернини та плаского килима становлять 27% та 18% відповідно.

Важливою характеристикою окремих видів мохоподібних є тип життєвої стратегії. Розподіл мохоподібних за групами відповідно до типу реалізованої ними життєвої стратегії був таким:

− переважаючою групою виявилися піонерні бріоексплеренти (6 видів, 54,5%), що схильні захоплювати різноманітні субстрати, які утворилися в умовах урбоекосистеми. До цієї групи належать *Ceratodon purpureus*, *Ptychostomum capillare*, *Bryum caespiticium*, *B. argenteum*, *Grimmia pulvinata*, *Ptychostomum rubens*. Перші чотири види належать до групи особливо активних (ценоекотопічно) мохоподібних;

− екотопічні бріопатієнти (4 види, 36,4%) були представлені переважно епіфітними бріопатієнтами (рід *Orthotrichum*);

− серед групи ценотичних бріопатієнтів був виявлений один вид мохоподібних – *Leskea polycarpa*.

За відношенням до освітлення в мохоподібних досліджених антропогенних комплексах міста переважають геліофіти та сциофіти – по 4 види відповідно (разом становлять 73% від загальної кількості бріофітів). Геліосциофіти представлені 3 видами (27%).

У бріофлорі досліджених територій м. Запоріжжя кількість однодомних і дводомних видів мохоподібних приблизно однакова з невеликим переважанням однодомних, а саме: 6 видів (54,5%) та 5 видів (45,5%).

На досліджених територіях, що зазнали тією чи іншою мірою антропогенних змін, було виявлено синантропну (апофітну) фракцію мохоподібних, а саме 9 видів (81,8%) мохів. 8 видів синантропних мохоподібних (72,7%) – геміапофіти, 1 вид (9,1%) – евентапофіт.

Унаслідок порівняння видового складу мохоподібних двох ділянок антропогенних комплексів міста за коефіцієнтом Сьоренсена-Чекановського було з'ясовано, що коефіцієнт спорідненості видового складу бріофітних угруповань був високим (0,60). Отже, видовий склад бріофітів цих територій урбоекосистеми є досить однорідним. Поряд із типовими для антропогенних ландшафтів тут спостерігаються відносно рідкісні види мохоподібних (*Orthotrichum patens*, *Ptychostomum capillare*), які у степовій зоні спорадично трапляються у природних угрупованнях. Пояснюється це різноманітністю екотопів у досліджених ділянках.

Найбільша кількість мохоподібних росте на корі стовбурів вищих рослин (7 видів), до інших субстратів віднесені 2–3 види. Отже, збільшення площ деревних насаджень у межах антропогенних комплексів міста автоматично буде збільшувати їх біорізноманіття.

За індексом чистоти повітря (5,0) Парк Енергетиків належить до слабко забрудненої бріоіндикаційної зони. Значення ІЧП під дамбою «Вознесенівський узвіз» (3,4) відповідало зоні середнього забруднення.

Площа проективного покриття епіфітних мохових обростань і висота їх розташування на обстежених форофітах досить добре корелюють:

коефіцієнт кореляції Спірмена, розрахований для дослідних ділянок селітебного ландшафту міста у 2018 р., становить 0,78. При цьому високі значення загального проективного покриття забезпечувалися п'ятьма найпоширенішими видами бріофітів.

Висновки

Бріофлора двох антропогенних комплексів (культурофітоценозу та селітебного ландшафту) м. Запоріжжя включає 11 видів мохоподібних, що заселяють чотири різні типи екотопів.

Структурний аналіз бріофлори досліджених територій міста показав, що в угрупованнях мохоподібних домінують представники родин *Bryaceae* та *Orthotrichaceae*, види життєвих форм дернини щільної, екологічних груп мезоксерофітів, геліофітів і сциофітів; також встановлено переважання синантропних видів (81,8%) над індигенофітами. Особливою рисою, що характеризує цю частину бріофлори антропогенних комплексів м. Запоріжжя, є збільшення частки антропофільних, урбанофільних видів, які є стійкими до забруднення атмосферного повітря, а також майже однакова кількість одно- й дводомних видів.

Мохи досліджених територій м. Запоріжжя реалізують життєві стратегії бріоексплерентів піонерних та бріопатієнтів (екотопічних і ценотичних). Видовий склад бріофітів двох антропогенних комплексів міста є досить одноманітним, про що свідчить високий коефіцієнт спорідненості Сьоренсена-Чекановського.

За індексом чистоти повітря встановлено, що територія культурофітоценозу характеризується як слабко забруднена зона, а ділянка селітебного ландшафту відповідає середньо забрудненій бріоіндикаційній зоні.

Предметом наших подальших досліджень стане інвентаризація списків мохоподібних в об'єктах природно-заповідного фонду, а саме парків-пам'яток садово-паркового мистецтва. Ці дослідження є важливою частиною моніторингу бріофлор у межах антропогенних комплексів міста Запоріжжя.

Література

(1) Яловенко А.С., Бессонова В.П. Характеристика паркових зон міста Запоріжжя. *Питання біоіндикації та екології* **2010**, *15* (2), 71–79. URL: https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004.
(2) Бойко М.Ф. Характеристика мохоподібних як індикаторів стану навколишнього середовища. *Чорноморський ботанічний журнал* **2010**, *6* (1), 35–40.
(3) Daly, G.T. Bryophyte and in Lichen Indicators New of Air Pollution Christchurch, Zealand. *Proc. New Zeal. Ecol. Soc.* **1970**, *17*, 70–79.
(4) Govindapyari, H.; Leleeka, M.; Nivedita, M.; Uniyal, P. Bryophytes: Indicators and Monitoring Agents of Pollution. *NeBIO* **2010**, *1* (1), 35–41.
(5) Pescott, O.L.; Simkin, J.M.; August, T.A.; Randle, Z.; Dore, A.J.; Botham, M.S. Air Pollution and Its Effects on Lichens, Bryophytes, and Lichen-Feeding Lepidoptera: Review and Evidence from Biological Records. *Biol. J. Linn. Soc.* **2015**, *115* (3), 611–635. URL: https://doi.org/10.1111/bij.12541.
(6) Барсуков О.О. Епіфітні мохоподібні м. Харкова. *Український ботанічний журнал* **2014**, *71* (2), 214–222.
(7) Глухов О.З. Індикація техногенного забруднення середовища із застосуванням мохів. *Промышленная ботаника* **2007**, *7*, 3–10.
(8) Рыковский Г.Ф. Концептуальная модель происхождения и эволюции мохообразных. 2014, с. 560.
(9) Бойко М.Ф. *Мохообразные в ценозах Степной зоны Европы: монография*, Херсон, Айлант; 1999.
(10) Бойко М.Ф. *Мохоподібні Степної зони України: монографія*; Айлант: Херсон, 2009.
(11) Лазаренко А.С. Определитель лиственных мхов Украины, АН УССР: К. 1955, с. 467.
(12) Улычна К.О., Гапон С.В. К методике изучения эпифитных моховых обростаний. *Проблемы бриологии в СССР*; 1989; с. 201–206.
(13) Барсуков О.О. Бріофлора урбанізованих територій Харківської області. *Чорноморський ботанічний журнал* **2014**, *10* (3), 305–321. URL: https://doi.org/10.14255/2308-9628/14.103/3.
(14) Игнатов М.С. *Флора мхов средней части европейской России. Т. 1 Sphagnaceae – Hedwigiaceae, КМК: М.*; 2003.
(15) Мамчур. З. Бріоіндикація забруднення повітря у місті Львові та на його околицях. *Вісник Львівського ун-ту. Сер. біологічна* **2005**, *40*, 59–67.
(16) Бойко М.Ф. *Чекліст мохоподібних України*; Айлант: Херсон, 2008.
(17) Бойко М.Ф. Синантропна бріофлора України. *Чорноморський ботанічний журнал* **2005**, *1* (№ 2), 24–32.
(18) *Red Data Book of European Bryophytes*; Trondheim, 1995. URL: https://doi.org/10.2307/3244314.
(19) Мамчур. З. Урбанофільні Епіфітні Мохи у м. Львові. *Вісник Львівського ун-ту. Сер. біологічна.* 2010, 54, 115–122.

УДК 615.8: 636.028
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-04

Вплив гірудотерапії на репродуктивну функцію лабораторних щурів

Амінов Р. Ф., Фролов О. К., Амінова А. С.
ORCID: 0000-0002-8471-1525
Запорізький національний університет, Україна
91_amin_91@ukr.net

Ключові слова: *медична п'явка, фертильність, надсім'яники, сперматозоїди, еякулят.*

Згідно з останніми даними щодо ветеринарії та сільського господарства одним із важливих чинників зменшення поголів'я у тваринництві є порушення фертильності тварин. Тому актуальним завданням постає пошук різних методів, які сприятимуть зменшенню безпліддя. Особливу увагу привертають природні фактори, до яких належить і гірудотерапія – використання медичних п'явок, біологічно активні речовини яких мають широкий спектр терапевтичних ефектів. Тому метою нашої роботи стало дослідження впливу медичної п'явки на репродуктивну функцію самців щурів, які є загальноприйнятою моделлю в біологічних і доклінічних експериментах. Роботу виконано на 40 нелінійних білих самцях та 40 самицях щурів вагою 250–270 г і віком 6,5–7 місяців та їх новонародженому приплоді. Дослідження проводили на тваринах, які пройшли карантинний режим і не мали зовнішніх проявів захворювання. Для проведення дослідження на самцях було сформовано дві групи тварин – контрольну й експериментальну. Дослідним самцям після їх фіксації робили приставки на куприкову зону медичної п'явки Hirudo verbana із середньою вагою 1,1±0,2 г один раз на тиждень (двічі перед спарюванням і двічі після спарювання з інтактними самицями). Фіксуючі маніпуляції робили також із контрольними самцями, проте без приставок п'явок, після чого їх спарювали з інтактними самицями. Дослід із самцями тривав протягом 1 місяця, із самицями – до народження в них приплоду. У самців досліджували вагу тіла, лімфоїдних органів та надсім'яників, враховували загальну кількість сперматозоїдів і їх фертильність. В інтактних самиць визначали загальну кількість приплоду та їх вагу. Згідно з експериментальними даними в дослідних самців за гірудологічного впливу відбувається збільшення ваги тіла (на 16,8%) та лімфоїдних органів (тимус – на 23,0%, селезінка – на 11,5%) порівняно з контрольною групою тварин ($p<0,05$). Наші експериментальні дані доводять, що гірудологічний вплив також сприяв позитивній стимуляції показників репродуктивної функції самців: збільшувалася вага надсім'яників, кількість сперматозоїдів в еякуляті з паралельним зниженням морфологічно дефектних гамет серед них порівняно з інтактними тваринами. Стимуляція репродуктивних ознак у дослідної групи самців сприяла підвищенню фертильності в інтактних до гірудологічного впливу самиць, які народжували більший за кількістю й вагою приплід із майже нульовою їх смертністю.

Influence of hirudotherapy on the reproductive function of laboratory rats

Aminov R. F., Frolov A. K., Aminova A. S.
Zaporizhzhia National University, Ukraine

Key words: *medicinal leech, fertility, epididymis, sperm, ejaculate.*

One of the important factors in reducing livestock is the fertility dysfunction. The relevant problem is to find effective and natural methods to reduce infertility. Particular attention is drawn to hirudotherapy to use biologically active substances of medical leeches in therapeutic practice. Our study is focused on the effect of medical leeches on the reproductive function of male rats, which are a common model in biological and preclinical experiments. The work was performed on 40 nonlinear white male rats weighing 250–270 g, aged 6,5–7 months and their newborn offspring. The study used animals that were quarantined and had no external manifestations of the disease. Two groups of animals were formed for the study – control and experimental. After locking the animals, Hirudo verbana with an average weight of 1,1±0,2 g were attached to the coccygeal zone, once a week (twice before mating and twice after). Locking manipulations were also performed with control males, but without leech attachments, after which they were mated with intact females. The experiment with males lasted for 1 month, and females before birth in their offspring. Males were tested for body weight, lymphoids, and over the testicles, total sperm count and fertility, fertility, and total offspring. According to the experimental data, the significant weight gain (by 16,8%) and lymphoid organs (thymus by 23,0% and spleen by 11,5%) of the experimental animals compared to the control group of animals was observed under hirudological effect. Our experimental data show that hirudological influence also contributed to the positive stimulation of male reproductive function: increased weight over the testes, the quantity of sperm in the ejaculate with a parallel decrease in morphologically defective gametes among them compared to intact animals. Stimulation of reproductive traits in the experimental group of males, contributed to increased fertility in intact to hirudological influence of females, who gave birth to a larger number and weight of offspring, with almost zero mortality.

Вступ

Сучасна медико-біологічна спільнота констатує, що забруднення навколишнього середовища та стреси різної етіології сприяють зростанню порушень репродуктивної функції[1-6]. У XXI столітті демографічна карта України змінилася в бік смертності порівняно з рівнем народжуваності, і з кожним роком ця тенденція збільшується. Одна з основних причин цих змін – порушення репродуктивної функції як жінок, так і чоловіків[7-14]. Безпліддя є однією з головних проблем світового рівня в багатьох галузях, зокрема медицині, ветеринарії та сільському господарстві[15,16]. В Україні є близько 1,5 мільйона безплідних через порушення репродуктивної функції пар[17,18]. Також зростає безпліддя у ветеринарії та сільськогосподарському тваринництві.

Аналіз останніх наукових робіт показав, що більшість досліджень присвячені жіночому безпліддю[19-22], тоді як вивченню чоловічого приділяється мало уваги[5,23,24]. Однак у більшості випадків саме чоловіче безпліддя стає причиною проблем із зачаттям. Чоловіче безпліддя становить до 50% від загальної кількості безплідних шлюбів[25,26]. За чоловічого безпліддя основними патологічними станами репродуктивної функції є порушення фертильності та загальної кількості сперматозоїдів в еякуляті, про що свідчить періодичний перегляд норм спермограми в останні десятиліття Всесвітньою організацією охорони здоров'я, яка вказує на відповідне їх зниження[27].

Аналіз проблеми безпліддя у ветеринарії та сільському господарстві виявив, що воно є одним з основних негативних факторів, які знижують поголів'я, а тому й економічну ефективність тваринництва[32]. Тому актуальним для дослідників стає пошук різних методів, які сприятимуть зменшенню цієї недуги. Особливу увагу зараз привертають різні натуротерапевтичні методи впливу, до яких належить і гірудотерапія – використання медичних п'явок. Її біологічно активні речовини (далі – БАР) мають широкий спектр терапевтичних ефектів: здійснення регуляції гемостазу та тонусу судин, протизапальну, реге-

нативну, нейротропну, бактеріостатичну, імуномодулюючу дію[28-31]. О.К. Фролов та співавтори (2010) довели, що після гірудологічного впливу в кіз підвищується вага тіла, збільшується молочність без ускладнення маститом, а в репродуктивний період спостерігається 100% запліднення, народження двійнят зі збільшеною масою порівняно з контрольною групою[32]. Інші дослідники експериментально підтвердили, що за умови застосування гірудотерапії як основного методу в жінок пришвидшується виліковування певних захворювань, а саме ендометріозу, гіпоплазії матки, полікістозу яєчників, які можуть викликати безпліддя в жінок[33]. Через такий широкий спектр дії БАР медичних п'явок та світову проблему безпліддя, особливо чоловічого, постала необхідність дослідити їх вплив на репродуктивну функцію самців щурів та опосередковано через них на фертильність інтактних самиць.

Матеріали та методи

Роботу було виконано на 40 нелінійних білих самцях та 40 самицях щурів вагою 250–270 г і віком 6,5–7 місяців. Для дослідження використовували тварин, які пройшли карантинний режим і не мали зовнішніх проявів захворювання. Маніпуляція з тваринами проводилася з дотриманням регламентованих норм та правил поводження з лабораторними тваринами, а саме принципів біоетики, законодавчих норм та вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та наукових цілей, і Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Для проведення дослідження на самцях було сформовано дві групи тварин – контрольну й експериментальну. Після фіксації тварин у розробленому нами фіксаторі[34] самцям робили приставки на куприкову ділянку медичної п'явки *Hirudo verbana* із середньою вагою 1,1±0,2 г один раз на тиждень (двічі перед спарюванням з інтактними самицями та двічі після). Час від приставки до відпадання п'явок тривав 20–30 хв. Фіксуючі маніпуляції робили також із контрольними самцями, проте без приставок п'явок. Після цього їх також спарювали з інтактними самицями з умовами коїтусу, як і в дослідній групі. Самців виводили з досліду через місяць спостережень шляхом дислокації шийних хребців із наступною декапітацією. Фізіологічний стан тварин вивчали за морфометричними показниками, зокрема досліджували вагу тіла та основних лімфоїдних органів (селезінку і тимус). Репродуктивну функцію самців аналізували в такій послідовності: визначали масу надсім'яників, потім їх розрізали вздовж та вимивали з них еякулят у 5 мл 5%-го розчину глюкози, зробленому на фізіологічному розчині, попередньо нагрітому до температури тіла тварини[35,36]. В отриманій суспензії еякуляту рахували загальну кількість сперматозоїдів за допомогою камери Горяєва. Еякулят до визначення фертильності перебував у термостаті за температури 38°С. Визначення фертильності сперматозоїдів проводили в камері Горяєва (до фертильних відносили сперматозоїди, які в камері переміщувалися у просторі чи здійснювали рухи на одному місці). Морфологічні дослідження сперматозоїдів проводили на мазках, які робили з нерозведеного еякуляту, який після фіксації в 96%-му спирті фарбували 15%-им розчином Романовського-Гімзи 30 хв. Приплід від дослідної та контрольної груп самців отримували після спарювання з інтактними до гірудологічного впливу самицями шляхом аналізу при їх народженні – визначення смертності та загальної ваги. Самиць до самців підсаджували після виконання другої приставки п'явок і тримали із самцями до вагітності самиць упродовж 2 тижнів. Дослідження проводилися в один і той же сезон і час. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою параметричних статистичних методів (t-критерій Стьюдента), попередньо перевіривши вибірку на нормальність розподілу зі значеннями в таблицях, поданих у формі X ± SE, де X – середнє значення показника з вибірки, SE – стандартна помилка середнього, з пакетом додатків Microsoft Excel Excepts та PAST. Відмінності вважалися надійними на рівні значущості $p<0,05$.

Результати

Під час аналізу ваги тіла та лімфоїдних органів у дослідних самців зареєстроване збільшення цих показників порівняно з контролем ($p<0,05$) (див. табл. 1).

Дослідження експериментальної групи тварин, яким робилися приставки на куприкову ділянку медичної п'явки (рис. 1), виявило значне збільшення ваги надсім'яників порівняно з контролем ($p<0,05$) (див. табл. 2).

Дослідження еякуляту з надсім'яників дослідної групи самців показало різке збільшення загальної кількості сперматозоїдів в 1 мкл еякуляту в експериментальної групи тварин (майже

Таблиця 1 – Вага тіла та лімфоїдних органів після гірудологічного впливу

Група тварин	Вага тіла, г	Вага тимусу, мг	Вага селезінки, мг
Самці контроль, n=20	246,2±11,2	209,6±10,4	865,8±13,1
Самці експеримент, n=20	296,1±12,1*	272,1±11,1*	978,1±12,0*

Примітка: * – показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p\leq0,05$)

в 2 рази) порівняно з контрольною групою ($p<0,05$), а показник фертильності – в 4 рази (див. табл. 2 та рис. 2).

Під час морфологічного аналізу в мазку сперматозоїдів в експериментальній групі траплялося набагато менше (у 2 рази) дефектних сперматозоїдів, ніж у контрольній групі (див. табл. 2 та рис. 3).

Під час дослідження приплоду від самців дослідної групи було зареєстровано значне збільшення їх чисельності та загальної маси порівняно з контрольною групою ($p<0,05$) (див. табл. 3). У дослідній групі народжувалися завжди активні та здорові тварини порівняно з контрольною, у якій іноді траплявся частково мертвий приплід під час народження ($p<0,05$).

Обговорення

Згідно з експериментальними даними під впливом БАР МП в дослідних самців щурів відбувалося збільшення ваги тіла та лімфоїдних органів (тимусу, селезінки). Ці дані підтвердили наші попередні досліди на самках щурів[28-31]. Так, у дослідної групи самок щурів збільшується маса тіла та дослідні лімфоїдні органи (тимус, селезінка). Причому гістологічні дослідження виявили збільшення основних структур тимусу й селезінки[28-31]. Як уже було зазначено, східна динаміка впливу БАР МП визначалася також у дослідах із малою рогатою худобою[32]. У всіх зазначених дослідних груп тварин позитивні морфофізіологічні зсуви супроводжувалися адекватними змінами їх репродуктивної функції. Так, у нашому експерименті в дослідної групи самців щурів підвищувалася вага надсім'яників, збільшувалася кількість сперматозоїдів, покращувалися їх морфологічні та фізіологічні властивості. Цей факт ми виявили вперше, у доступній нам літературі ми не зустрічали схожі дані. Під час аналізу морфологічних показників сперматозоїдів у мазках експериментальної групи виявлялася менша кількість морфологічно дефектних сперматозоїдів, що свідчить про позитивний гірудологічний вплив і на морфологію сперматозоїдів. При цьому варто зазначити, що багатьма дослідниками доведено, що морфологічно дефектні сперматозоїди

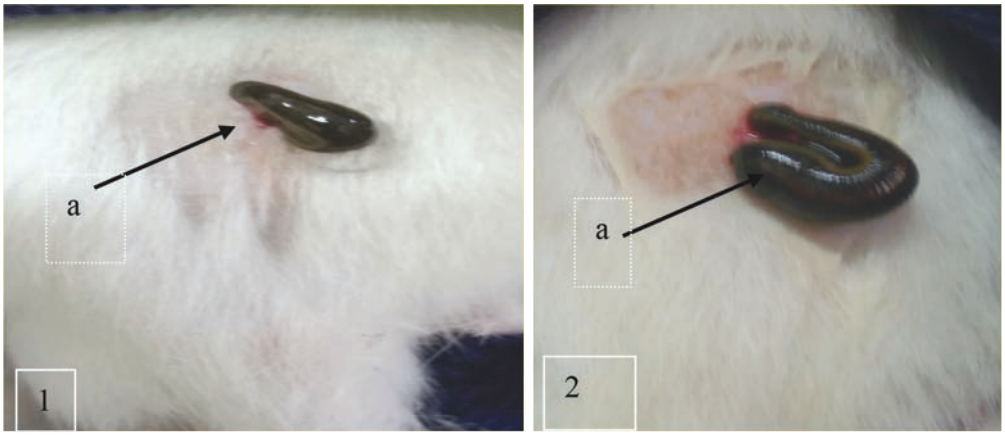


Рис. 1. Приставка медичної п'явки на куприкову ділянку 1, 2: а – *Hirudo verbana*

Таблиця 2 – Вага надсім'яників та дані спермограми самців після гірудологічного впливу

Група тварин	Вага надсім'яників, мг	Загальна кількість сперматозоїдів в 1 мкл з 5 мл суспензії еякуляту	Фертильність сперматозоїдів в 1 мкл з 5 мл суспензії еякуляту	Дефектні сперматозоїди на 200 клітин (шт.)
Контроль, n=20	511±23	5750±287	300±14	47,0±4,0
Експеримент, n=20	678±31,7*	9950±497*	1200±59*	20,0±3,0*

Примітка: * – показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p\leq0,05$)

Таблиця 3 – Середні показники чисельності, загальної ваги та смертності приплоду, отриманого від інтактних самиць, яких спарювали з контрольними або експериментальними самцями

Група тварин		Показники приплоду		Кількість народжених мертвих тварин (шт.)
		Кількість (шт.)	Загальна вага (г)	
Інтактні самиці	Самці контроль, n=20	5,3±1,0	35,3±7,0	0,9±0,02
	Самці експеримент, n=20	9,8±1,4*	68,1±5,1*	0,0001±0,00001*

Примітка: * – показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p\leq0,05$)

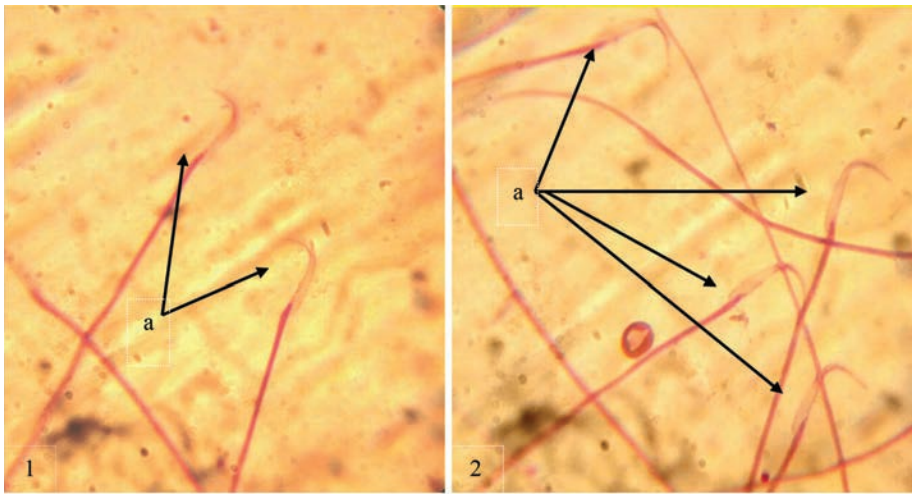


Рис. 2. Сперматозоїди самців-щурів (а): 1 – контроль; 2 – під гірудологічним впливом (об. × 100; ок. × 7, «Біолар» (Польща))

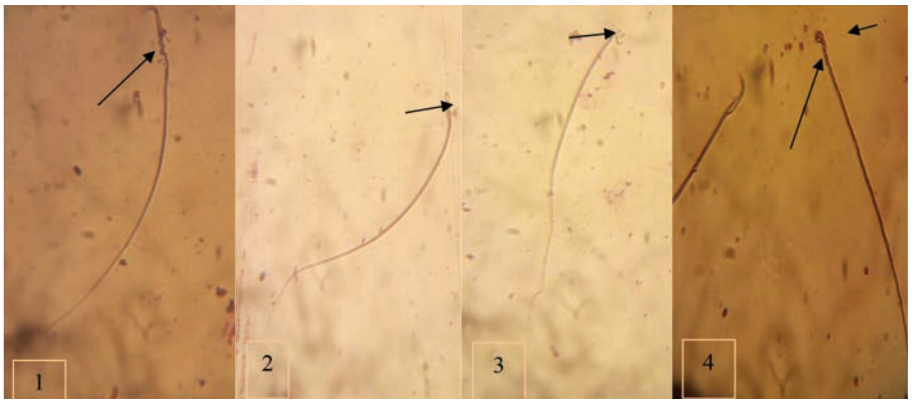


Рис. 3. Найбільш поширені морфологічні дефекти сперматозоїдів, позначені чорними стрілками: 1 – шийний дефект; 2, 3 – головний дефект; 4 – дефект голови та шийки сперматозоїда (об. × 100; ок. × 7, «Біолар» (Польща))

в більшості випадків унеможливлюють запліднення яйцеклітини[40,41]. Тому зменшення дефектних сперматозоїдів за рахунок гірудовпливу підвищує ймовірність запліднення.

Підвищення морфофізіологічних і репродуктивних властивостей у дослідних груп тварин має багатофакторні механізми. Насамперед це зумовлюється комплексною дією самого гірудологічного впливу. По-перше, пошкодження МП шкірного покриву годувальника генерують у нього захисні рефлекторні реакції в нейроендокринній та імунній системі. По-друге, обмежена крововтрата за рахунок годування МП та наступного незначного крововиливу з ранки приводить до мобілізації регіонарного мікроциркуляторного русла й подальшого перерозподілу кровообігу, що стимулює репараційні реакції. По-третє, і найголовніше, введення в ранку під час годування більше 100 компонентів БАР у відповідній дозі й послідовності забезпечує весь спектр гомеостатичного впливу на організм годувальника. З нього ми виділяємо для обговорення їх імунотропну дію. Так, у наших та багатьох інших дослідженнях встановлено, що саме імунітет контролює морфогенетичний структурний гомеостаз[30,31,37-39]. Зокрема, встановлено, що БАР МП проявляють насамперед протизапальну дію, і цей механізм, як нами встановлено, здійснюється шляхом індукції локального апоптозу імунокомпетентних клітин[42], тоді як на системному рівні БАР МП активують усі ланки імунної системи організму: її центральні (тимус і кістковий мозок), периферійні (селезінку) органи, мієлоїдні та лімфоїдні показники крові[30,31]. Своєю чергою стимуляція імунітету забезпечує всі морфофізіологічні прояви гірудологічного впливу, а саме фізичні показники маси тіла дослідних тварин та їх приплоду, зокрема й репродуктивні властивості тварин[30,31].

Наші експериментальні дані підтверджуються сучасними відкриттями в галузі імунології. Так,

групою вчених було доведено провідну роль у структурному гомеостазі саме імунної системи, яка виконує морфогенетичну функцію – здійснює контроль і регуляцію метаболізму, проліферацію та диференціювання клітин усіх тканин, зокрема й імунокомпетентних[37-39]. Цю функцію виконує набір клонів помірно аутореактивних без цитостатичного ефекту до стадії специфічних тканинних структур Т- та В-лімфоцитів[37-39]. Вони здійснюють тонку регуляцію диференціювання клітин у тканинах за умови фізіологічних і репаративних регенерацій. Окрім того, в останнє десятиліття була виявлена й функціонально охарактеризована нова група імунокомпетентних клітин – вроджені лімфоїдні клітини (англ. ILC)[43]. Вони є відносно резидентними клітинами, інфільтрують відповідні органи та першими реагують на зміну структурного мікрооточення, а потім здійснюють цитокінову мобілізацію клітин вродженого й надалі клоноспецифічного (Т- і В-лімфоцитів) адаптивного імунітету на відтворення структурного гомеостазу, контролюючі метаболічні та морфогенетичні реакції клітин усіх тканин. Водночас клональні Т- і В-лімфоцити здійснюють тонку регуляцію диференціювання клітин у тканинах за їх фізіологічної, а також репаративної регенерації[37-39].

Варто зауважити, що позитивний вплив БАР МП на самиць дослідних тварин, який представлений у попередніх наших дослідах[29-31], і надалі реалізувався адекватними показниками в їх приплоду: збільшувалася кількість народжуваного приплоду, вага тіла та лімфоїдних органів. Цей факт ми також пояснюємо активацією морфогенетичної функції імунної системи. Однак, повертаючись до нашого досліду, варто зауважити, що вищезазначені позитивні ефекти впливу БАР МП мали місце й у приплоду від дослідних щурів, які народжувалися від інтактних до гірудологічного впливу самиць. Цей феномен, імовірно, зумовлений якістю еякуляту дослідних самців, що виявлений нами вперше. Однак механізм його здійснення ще потребує подальших спрямованих експериментальних досліджень. При цьому, незважаючи на таку невизначеність, наше дослідження допоможе наблизити до вирішення проблем фертильності в людей і тварин та відкриває новий напрям у вивченні статевих репродуктивних відносин.

Висновки

Гірудологічний вплив стимулює морфогенетичну функцію імунної системи самців: збільшується вага тіла та основних лімфоїних органів, а також активується репродуктивна функція, яка проявлялася у збільшенні ваги надсім'яників і загальної кількості сперматозоїдів та в паралельному зменшенні морфологічно дефектних клітин, що відіграє вирішальну роль у заплідненні. Від самців дослідної групи народжувалася більша кількість умовно здорового приплоду порівняно з контролем, де іноді траплявся частково мертвий приплід під час народження. Отримані результати окреслюють перспективу для подальшого вивчення репродуктивної функції після гірудологічного впливу в питанні не лише еякуляту, а й морфології репродуктивних органів тварин.

Література

(1) Потемина Т.Е.; Тукмакова Т.С. Влияние теплового воздействия на сперматогенез в эксперименте. *THOSE. STM*. **2011**, 4, с. 99–101.

(2) Odum, J.; Creasy, D.; Cartwright, J. Guidance document for histologic evaluation of endocrine and reproductive tests in rodents. *ENV/JM/MONO,* **2009**, *11*(106), pp. 1806–1810.

(3) Оганесян, М.А., Скуратовская, Л.Н., Дроздов, Г.А. Нарушение репродуктивной функции в условиях психоэмоционального стресса. *Патофизиология и современная медицина,* Материалы II Междунар. конф. Москва, сентябрь 6–9, 2004.

(4) Трошин, В.Д. Стресс и стрессогенные расстройства, Медицинское информационное агентство: Москва, 2007.

(5) Потемина, Т.Е.; Кузнецова, С.В.; Ляляев, В.А. Изменение параметров семенной жидкости самцов белых крыс при различных видах экспериментального стресса. *Биомедицинские исследования.* **2009**, *2*, с. 23–26.

(6) Верещако, Г.Г.; Чуешова, Н.В.; Бакшаева, М.А.; Козлов, А.Е.; Цуканова, Е.В.; Шалатонин, В.И. Чувствительность репродуктивной системы крыс-самцов к изолированному и сочетанному действию внешнего облучения (1,0 Гр) и магнитного поля промышленной частоты (50 Гц). *Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология*. **2017**, *1*, с. 46–53.

(7) Rezvanfar, M.A.; Sadrkhanlou, R.A.; Ahmadi, A. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Human & Experimental Toxicology.* **2008**, *27*(12), pp. 901–910. URL: https://doi.org/10.1177/0960327108102046.

(8) O'Shaughnessy, P.J.; Morris, I.D.; Baker, P.J. Leydig cell regeneration and expression of cell signaling molecules in the germ cell-free testis. *Reproduction*. **2008**, 135(6), pp. 851–858. URL: https://doi.org/10.1530/REP-07-0529.

(9) Mohamed, I.E.; Nur, E.E.; Abdelrahman, M.E. The antibacterial, antiviral activities and phytochemical screening of some Sudanese medicinal plants. *EurAsia J BioSci.* **2010**, *4*(2), pp. 8–16. URL: https://doi:10.5053/ejobios.2010.4.0.
(10) Саяпина, И.Ю.; Огородникова, Т.Л. Количественная оценка функциональной активности семенников крыс на этапах адаптации к низким температурам. *Научный журнал КубГАУ*. **2013**, *89*(5), с. 1–13.
(11) Логинов, П.В.; Николаев, А.А. Коррекция сперматогенеза в условиях воздействия микроволнового излучения КВЧ-диапазона. *Фундаментальные исследования*. **2015**, 2(14), с. 3085–3090.
(12) Власенко, Е.К.; Сычик, С.И.; Стельмах В.А.; Ильюкова, И.И.; Грынчак В.А.Особенности влияния гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты на репродуктивные функции белых крыс. *Вестник ВГМУ*. **2015,** *14*(3) с. 83–89.
(13) Лебедева, С.А.; Спасов, А.А.; Бугаева, Л.И.; Смирнов, А.В.; Толокольников, В.А.; Бундикова, Т.М. Влияние дефицита магния на поведенческую активность, процессы фертильности и репродуктивные органы крыс-самок. *Микроэлементы в медицине*. **2016**, *16* (1), с. 15−21.
(14) Спасов, А.А.; Гетманенко, А.Ю.; Бугаева, Л.И.; Лебедева, С.А.; Коржова, Т.М.; Кузубова, Е.А.; Мальцев М.С. Влияние алиментарной гипомагнезиемии на процессы репродукции крыс. *Волгоградский научно-медицинский журнал.* **2017**, *1*, с. 17–21.
(15) Данкович, Н.А. Проблема бесплодия и пути ее решения. *Семейная медицина*. **2005**, *1*, с. 10–13.
(16) Лесин, А.И. Некоторые социально-физиологические причины бесплодия супружеской пары. Есть ли перспектива дальнейшего существования человечества?. *Здоровье мужчины*. **2007**, с. 194–200.
(17) Louis, G.M.; Lum, K.J.; Sundaram, R. Stress reduces conception probabilities across the fertile window:evidence in support of relaxation. *Fertil. Steril.* **2011**, *95,* pp. 2184–2189. URL: https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.06.078.
(18) Паращук, Ю.С.; Каліновська, О.І.; Грищенко, М.Г.; Паращук, В.Ю. Безплідність у шлюбі : навч. посібник. ХНМУ: Харків, 2014.
(19) Мубаракшина, О.А. Особенности применения препаратов магния беременными женщинами. *Фарматека*. **2013**, *18*, с. 2–5.
(20) Толокольников В.А.; Смирнов А.В.; Спасов А.А.; Бугаёва Л.И.; Лебедева С.А.; Быхалов Л.С. Сравнительная характеристика патоморфологических изменений матки крыс при развитии дефицита магния в условиях фармакологической коррекции. *Современные проблемы науки и образования*. **2015**, *3*.
(21) Зарубина, Е.Г.; Лысова, А.Н. Роль кисспептина в нормализации эстрального цикла взрослых половозрелых самок крыс. *Современные проблемы науки и образования*. **2015,** *2*(1).
(22) Татарчук, Т.Ф.; Косей Н.В.; Регеда, С.И.; Яроцкая, Н.В.; Горохова, А.А. Гиперпролактинемия в генезе стресс-индуцированного бесплодия. Возможности фитотерапии. *Здоровье женщины.* **2017,** *3*(119), с. 28–36.
(23) Быков В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века. *Проблемы репродукции*, **2000**, *1*, с. 6–13.
(24) Oyewopo, A.O.; Olaniyi, S.K.; Oyewopo, C.I. Radiofrequency electromagnetic radiation from cell phone causes defective testicular function in male Wistar rats. *J. Repr. Endocr. & Infertility.* 2017, 2(22), pp. 1–5.
(25) Евдокимов, В.В.; Селиванов, Т.О. Нарушение сперматогенеза при варикоцеле: патогенез и прогноз лечения. *Андрология и генитальная хирургия*. **2006**, *3*, с. 12–13.
(26) Волошин, Н.А.; Тополенко, Т.А. Морфофукциональные особенности формирования яичек крыс от момента рождения до второго месяца жизни. *Український морфологічний альманах*. 2009, 7(2), с. 32–34.
(27) Cooper T.G.; Noonan E.; von Eckardstein S.; Auger J.; Baker H.W.; Behre H.M.; Haugen T.B.; Kruger T.; Wang C.; Mbizvo M.T.; Vogelsong K.M. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update.* **2010**. *16*(3), pp. 231–45.
(28) Iwasaki, A.; Medzhitov, R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. Science. **2010**, *327*, pp. 291–295.
(29) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К. Проліферативна активність клітин кісткового мозку щурів за впливу біологічно активних речовин медичної п'явки. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. **2017**, *8* (4), с. 501–505.
(30) Aminov, R.F.; Frolov, A.K. Influence of ectoparasite – Hirudo verbana on morphogenetic reactions of the host organism – rattus. *Current trends in immunology*. **2017**, *18* pp. 107–117.
(31) Aminov, R.F.; Frolov, A.K. The impact of fetal load of Hirudo verbana saline extract antigens morphometrical, hematological and immunological parameters of rats in the early stages of post-embryonic development. *Annals of parasitology*, **2018,** *64*(1), pp. 13–20.

(32) Фролов, А., и др. Влияние гирудотерапии на физиологические показатели у коз. *Тваринництво України.* **2010**, *7*, с. 7–10.
(33) Лялина, Е.Г. Сочетанное применение гирудотерапии, рефлексотерапии и гомеопатии в лечении женского бесплодия. *Психосоматические и интегративные исследования*. **2016**, *2*, 0207.
(34) Амінов, Р.Ф.; Фролов, О.К.; Федотов, Є.Р. (Запорізький національний університет). Пристрій для фіксації дрібних лабораторних тварин. Патент Україна 107289, травень 25, 2016.
(35) Крылова Е.В., Потемина Т.Е., Корягин А.С., Нестеров Г.Д. Профилактическое действие маточного молочка пчел на показатели сперматогенеза крыс при остром тепловом стрессе. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. **2011**, *6* (1), с. 138–143.
(36) Chueshova, H.B. Comparative effects analysis short-term and long-term electromagnetic exposure mobile phone (1800 MHz) for reproductive system male rats. *Vestsi NAS Belarusi Ser. honey Navuk.* **2016**, 3, pp. 74–77.
(37) Бабаева, А.Г. Регенерация: факты и перспективы. РАМН: Москва, 2009.
(38) Бабаева, А.Г.; Геворкян, Н.М.; Зотиков, Е.А. Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей РАМН: Москва, 2009.
(39) Бабаева А.Г. Еще раз о морфогенетической, или строительной функции 200 лимфоцитов. *Вестник российской академии естественных наук*. **2010,** *4*, с. 70–74.
(40) Бичко С.В; Дунаєва О.В.; Артеменко О.Б.; Терещенко О.В. Виявлення пошкоджень сперматозоїдів птиці під час низькотемпературного консервування. *Проблеми криобиологии*. **2005**, *15*(3), с. 272–275.
(41) Гурженко, Ю.М.; Куценко А.О. Особливості порушень сперматогенезу чоловіків із безпліддям залежно від застосованих методик допоміжних репродуктивних технологій. *Семейная медицина*. 2016, *5*(67), с. 132–137.
(42) Амінов Р.Ф. Проліферативна активність лімфоцитів крові нелінійних самиць щурів, їх приплоду на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні гірудовпливу. Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. **2018**, *1*, с. 40–45.
(43) Eric Vivier, David Artis, Marco Colonna, Andreas Diefenbach, James P Di Santo, Gérard Eberl. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell*. **2018,** 174(5): 1054–1066.

УДК 591.5+595.7
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-05

Білоакацієва міль-строкатка (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) у паркових зонах м. Дніпра

Голобородько К. К., Русинов В. І., Пахомов О. Є.
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна
goloborodko@ua.fm

Ключові слова: *біологічна інвазія, інвазійні лускокрилі, Gracillariidae, міське середовище.*

У роботі проведено дослідження особливостей заселення інвазійного виду молей-строкаток (Gracillariidae Stainton, 1854) білоакацієвої молі-строкатки (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) різних паркових екосистем м. Дніпро. Оцінку масштабів інвазії та активності заселення різних екосистем мінером-інвайдером було здійснено за кількістю візуально зареєстрованих мін на листках кормової рослини робінії псевдоакації (*Robinia pseudoacacia* Linnaeus, 1753). Дослідженнями було охоплено всі основні за розмірами паркові екосистеми м. Дніпро, де висаджено дерева кормової рослини. Польові спостереження проведено протягом трьох вегетаційних сезонів (2018–2020 рр.). Морфологічні дослідження мін *P. robiniella* проводили на стадії їх максимального розвитку, що відповідало останньому віку гусені. Для цього використано такі параметри: довжину міни (L) за центральною жилкою, максимальну ширину міни (W), площу міни (S), площу листкової пластинки (Sl). Розраховували відношення довжини до ширини міни (L/W) та відношення площі міни до площі листкової поверхні (S/Sl). З'ясувалось, що найбільша кількість мін реєструвалась у більш чистих зонах м. Дніпро, що розташовувались на високих відмітках рельєфу, – Ботанічному саду ДНУ та парку імені Т.Г. Шевченка, а також у природному заповіднику Дніпровсько-Орільський. Найменша кількість мін реєструвалась ближче до центру міста, у парку Сагайдак та парку імені Лазаря Глоби. Морфологічні дослідження мін дозволили встановити, що коефіцієнт варіації довжини міни дорівнює 0,4, ширини – 0,6, а площі – 0,8. Відношення довжини до ширини менш варіативне, ніж відношення площі міни до площі листкової поверхні. Це, з одного боку, пов'язано з більш стабільною загальною формою міни, з іншого – досить мінливою площею міни, що, вірогідно, залежить від різних факторів міського середовища.

The locust digitate leafminer (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) in park areas of Dnipro city

Holoborodko K. K., Rusynov V. I., Pakhomov O. Ye.
Oles Honchar Dnipro National University, Ukraine

Key words: *biological invasion, invasive lepidoptera, Gracillariidae, urban environment.*

The study on peculiarities of introduction features of the invasive moth species (Gracillariidae Stainton, 1854) such as the locust digitate leafminer (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) was carried out in various park ecosystems of Dnipro city. Degree of invasion and activity of the invasive leaf miner introduction in various ecosystems were assessed by the number of lepidopteran leaf mines visually observed on the leaves of *Robinia pseudoacacia* Linnaeus (1753) as a main food plant species. The research covered all major park ecosystems in Dnipro where this food plant trees have been planted. Field surveys were conducted during three growing seasons (2018–2020). Morphological studies of *P. robiniella* mines were performed at the stage of their maximum development, which corresponded to final caterpillar stage. To achieve the study goal, the following parameters were used: mine length (L) along the central vein, mine maximum width (W), mine area (S), leaf blade area (Sl). The ratio of mine length to mine width (L/W) and the ratio of mine area to leaf surface area (S/Sl) were calculated. It was found that the largest number of mines was registered within ecologically cleaner areas of Dnipro city situated on higher relief position as the Botanical Garden of DNU and the Park named after T.G. Shevchenko, as well as in the Dnipro-Oril' Nature Reserve.
The smallest number of mines was registered nearly to the city center, respectively, in the Sagaidak Park and the Lazar Globa Park. Morphological studies of mines revealed that variation coefficient of mine length was 0.4, that of width was 0.6, and that of area was 0.8. Length to width ratio was less variable comtared to the ratio of mine area to leaf surface area. This is attributable to, on the one hand, the more stable overall mine shape, and, on the other hand, the rather variable mine area, which probably depends on various factors in the urban environment.

Вступ

Згідно із сучасними уявленнями[1], біологічну інвазію розглядають як другу за значенням після знищення середовищ існування загрозу для збереження природного біологічного різноманіття. Наслідком проникнення видів-інвайдерів часто можуть бути невиправні екологічні наслідки[2], що призводять до суттєвих біологічних порушень життєдіяльності цілих екосистем[3], у результаті чого наносять значні економічні збитки різним галузям господарств.

У наш час відомо 187 видів лускокрилих, що розповсюджуються Європою[4]. При цьому 90 видів є аборигенними. Інвазія цих видів пов'язана зі штучним розширенням ареалу кормових рослин. Інші 97 видів – екзотичні види, випадково інтродуковані людиною на нову територію з потенційно придатними кормовими об'єктами. Більшість екзотичних видів потрапила до Європи у другій половині XX ст. Для 78 видів з них установлено походження[4].

На сучасному етапі серед адвентивних лісових видів на території України поширились мінери, роль яких підвищується серед інших фітофагів, у зв'язку з високою здатністю пристосовуватись до досить високого рівня забруднення, дефіциту вологи, дії інсектицидів, а також великої кількості поколінь за рік[5]. Така сама ситуація спостерігається і в Європі[6].

Історія інвазії адвентивних видів лускокрилих-мінерів на території України нараховує більше 20 років[7]. За цей період найбільше занепокоєння викликають чотири види-інвайдери[3, 5, 7], що належать до родини молей-строкаток (Gracillariidae Stainton, 1854), – каштановий мінер (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimić, 1986), японська липова мінуюча міль-строкатка (*Phyllonorycter issikii* Kumata, 1963), білоакацієва міль-строкатка (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) і білоакацієвий мінер (*Phyllonorycter robiniella* Clemens, 1859).

Особливе занепокоєння викликає поява в Україні комплексу адвентивних видів псевдоакацієвих мінерів *Parectopa robiniella* та *Phyllonorycter robiniella*. На території м. Дніпро вперше поява цих інвайдерів була зареєстрована у 2007 р.[7]

На поточний момент відбулось повне заселення всіх зелених зон із насадженнями робінії. Біоекологічні особливості цих видів-інвайдерів досліджуються у Східній Європі понад 15 років[8,9,10], але й досі лишаються нез'ясованими особливості механізму заселення різних екосистем міського середовища.

Отже, мета дослідження – встановити масштаби та активність інвазії *Parectopa robiniella* у паркових зонах м. Дніпро.

Матеріали та методи

Польові дослідження було проведено протягом трьох вегетаційних сезонів (2018–2020 рр.) на території всіх основних паркових екосистем м. Дніпро, в яких висаджено кормову рослину інвайдера – робінію псевдоакацію (*Robinia pseudoacacia* Linnaeus, 1753). Кількість мін на деревах реєстрували за модельною гілкою. Шляхом рандомізації вибирали дерево і випадкову гілку на ньому довжиною не менше 1 м. Після цього підраховували кількість листків та кількість мін, що утворили особини *P. robiniella*.

На рис 1. представлена карта з ділянками, на яких проводили збір матеріалу та підрахунок мін *P. robiniella* на модельній гілці *R. pseudoacacia.*

1. Парк Мануйлівський – 48°29′N 35°03′E
2. Парк імені Лазаря Глоби – 48°28′N 35°01′E
3. Лісопарк Дружби народів – 48°31′N 35°05′E
4. Парк Придніпровський – 48°24′N 35°07′E
5. Парк 40-річчя визволення Дніпропетровська – 48°25′N 35°01′E
6. Парк імені Т.Г. Шевченка – 48°27′N 35°04′E
7. Ботанічний сад ДНУ імені Олеся Гончара – 48°26′N 35°02′E
8. Дніпровсько-Орільський природний заповідник – 48°30'N 34°46'E

Морфологічні дослідження мін проводили у зелених зонах міста протягом вегетаційних сезонів 2018–2020 рр. Пошкоджене мінами листя *R. pseudoacacia* фотографували на цифрову фотокамеру з роздільною здатністю 5 мегапікселів. До листя прикладали об'єкт-мікрометр для калібрування вимірюваних параметрів. Вимірювання проводили за цифровими фотографіями за допомогою програми ToupView 3.7. Вимірювали параметри, за якими можна об'єктивно[11] аналізувати успішність заселення: довжину міни (L) за центральною жилкою, максимальну ширину міни (W) перпендикулярно до її довжини, площу міни (S), площу листкової пластинки (Sl). Розраховували відношення довжини до ширини міни (L/W) та відношення площі міни до площі листкової поверхні (S/Sl).

Для порівняння морфометричної мінливості мін *P. robiniella*, а також заселення мінерами побудували

Рис. 1. Карта з відмітками екосистем, на яких проводили збір матеріалу та підрахунок мін *Parectopa robiniella* Clemens, 1863, що були утворені на *Robinia pseudoacacia* Linnaeus, 1753: лівий берег – лісопарк Дружби народів, парк Сагайдак; правий берег – парк імені Лазаря Глоби, парк імені Т.Г. Шевченка, Ботанічний сад ДНУ, парк 40-річчя визволення Дніпропетровська; парк Придніпровський

таблиці досліджуваних характеристик (довжина, ширина, площа міни) та індексів (відношення довжини до ширини, відношення площі міни до площі листкової поверхні). Для порівняння цих характеристик мін на *R. pseudoacacia* у різних зелених зонах міста Дніпра застосували однофакторний дисперсійний аналіз і тест Тьюкі. Обробку первинних даних проводили Microsoft Excel 2019, подальшу – у пакеті програм Statistica 13.3. Достовірними відмінностями вважали за $p < 0.05$.

Результати

За результатами статистичної обробки даних найбільша кількість мін реєструвалась у більш чистих зонах м. Дніпро (рис. 3), таких як Ботанічний сад ДНУ та парк імені Т.Г. Шевченка. Найменша кількість мін реєструвалась безпосередньо у центрі міста: у парку Сагайдак та парку імені Лазаря Глоби.

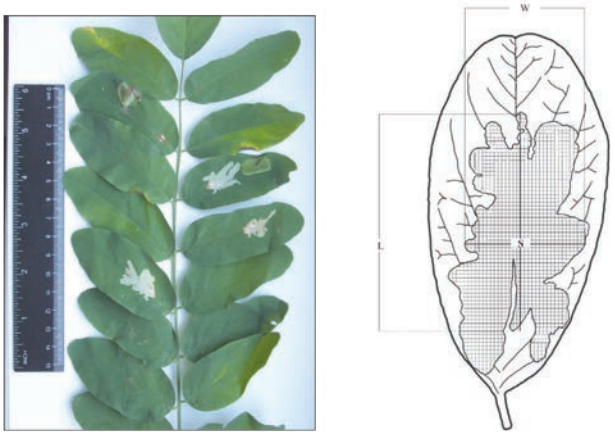


Рис. 2. Розташування мін на листку та схема морфометричних параметрів мін *Parectopa robiniella* Clemens, 1863: L – довжина міни, W – ширина міни, S – площа міни

Крива мінливості середньої кількості мін на листку (а) майже повністю повторює криву мінливості абсолютної кількості мін (*б*). Відповідно, середня кількість мін *P. robiniella* не залежить від кількості листків *R. pseudoacacia*.

За результатами однофакторного дисперсійного аналізу заселення мінерів у різних зелених зонах м. Дніпро (табл. 1) статистично достовірні ($p < 0.05$) відмінності виявились між парком Сагайдак і парком Придніпровський, парком Сагайдак та парком 40-річчя визволення Дніпропетровська, парком Сагайдак та парком імені Т.Г. Шевченка, парком Сагайдак і Ботанічним садом ДНУ.

На території Ботанічного саду ДНУ нами зареєстровано тотальне заселення дерев робінії. У результаті проведених досліджень з'ясувалось, що *P. robiniella* проявляє відносно велику пластичність до вибору умов існування. Про це свідчать статистичні дані (табл. 2), отримані під час морфологічних досліджень мін.

За результатами дослідження (табл. 2) довжина міни у середньому становить 13,7 мм, а ширина – 8,4 мм. Площа міни у середньому 3787,6 мм^2. Відношення довжини до ширини міни становить 1,9, що сильно віддаляє форму міни від кола: вона має сильно витягнену форму. Коефіцієнт варіації довжини міни дорівнює 0,4, ширини – 0,6, а площі – 0,8. Відношення довжини до ширини менш варіативне, ніж відношення площі міни до площі листкової поверхні.

Обговорення

Швидкість інвазії та екологічна пластичність, яку демонструють види-інвайдери родини молей-строкаток (Gracillariidae), має велике значення у спостереженнях за станом їх популяцій[12]. Поява в Україні адвентивних видів псевдоакацієвих мінерів (білоакацієвої молі-стро-

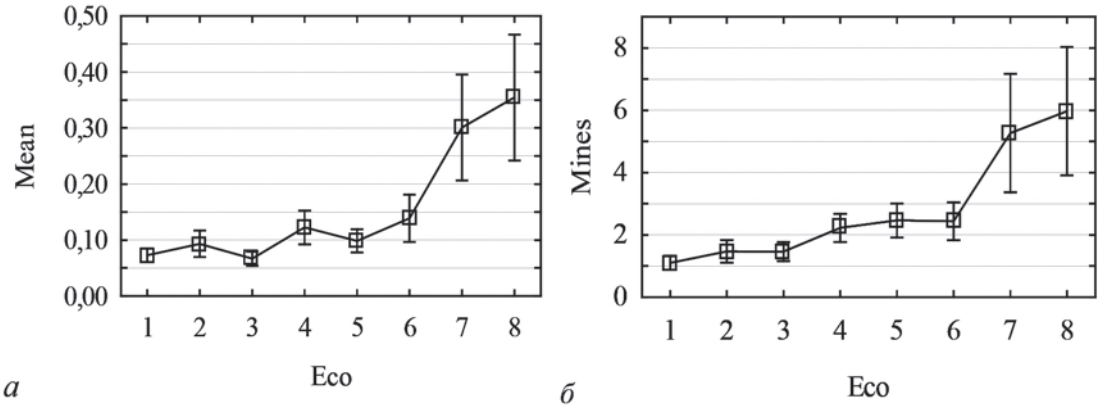


Рис. 3. Мінливість заселення *Parectopa robiniella* Clemens, 1863 на модельних гілках *Robinia pseudoacacia* Linnaeus, 1753: *а* – мінливість середньої кількості мін на листках (Mean), *б* – мінливість абсолютної кількості мін на листках (Mines); за віссю абсцис – номер екосистеми (Eco), за віссю ординат – значення характеристики

Таблиця 1 – Результати однофакторного дисперсійного аналізу заселення мінерів у різних зелених зонах м. Дніпро

Eco	*n*	*x ± SD*	*SS*	*MS*	*F*	*P*
1	242	1,10±0,32	1,0360	1,0360	1,2608	0,2682
2	232	1,47±1,02				
1	242	1,10±0,32	1,0403	1,0403	1,4135	0,2404
3	200	1,46±0,94				
1	242	1,10±0,32	9,8560	9,8560	6,8703	0,0120*
4	161	2,22±1,33				
1	242	1,10±0,32	15,7926	15,7926	4,4560	0,0387*
5	125	2,46±2,03				
1	242	1,10±0,32	14,2041	14,2041	5,0388	0,0295*
6	63	2,44±1,86				
1	242	1,10±0,32	130,2083	130,2083	6,5556	0,0146*
7	84	5,27±5,10				

*Примітка: Eco – номер екосистеми (див. Матеріали і методи), n – розмір вибірки; x ± SD, SS – сума квадратів, MS – значення квадратів , F – значення Фішера, P – ступінь достовірності, *, **, *** – ступінь достовірності, який відповідає 0,05, 0,01 та 0,001 відповідно*

катки *Parectopa robiniella* та білоакацієвого мінера *Phyllonorycter robiniella)* викликає особливе занепокоєння, оскільки *R. pseudoacacia* в умовах глобального потепління клімату відносять до стратегічних порід, надзвичайно витривалих до посухи[13].

За результатами нашого дослідження заселення мінерами робінії найбільшу щільність мін зареєстровано у більш чистих зелених зонах – у Ботанічному саду ДНУ та у природному заповіднику Дніпровсько-Орільський. Причиною може бути різність умов існування; можливо, мінери, що населяють зелені зони м. Дніпро, відчувають вплив комплексу антропогенних факторів, що стримують розвиток їх популяцій. Таким чином, робінія в межах міста менше проявляє схильність до зараження мінерами порівняно із деревами у більш чистих екосистемах. З цього можна зробити висновок, що найбільш уразливі особини робінії ті, що знаходяться за межею міста.

Морфологічна мінливість є одним із проявів адаптацій, що формує пристосування живих організмів до змін умов навколишнього середовища[14]. Ефекти впливу фактору накопичуються в біологічних об'єктах за певний проміжок часу. Морфологічні особливості живих організмів значною мірою залежать від місця їх проживання. Зумовлене це особливостями раціону, періодом розмноження, пристосуванням до тієї чи іншої екосистеми тощо. Морфологічна мінливість характеризується зміною вагових та лінійних показників – це результат впливу чинників довкілля. Морфологічна мінливість популяції є проявом загального генетичного поліморфізму і індикатором потенційної стійкості популяції в умовах високого антропогенного навантаження на природні екосистеми[15]. Дослідження морфологічної мінливості безхребетних тварин дозволяє оцінити здатність популяції підтримувати сталість, можливість змін у межах одного виду і відхилення від середніх розмірів[16], а також скласти оцінку якості довкілля[17]. Морфологічні зміни найчастіше оцінюють за допомогою морфометричних індексів[14].

Таблиця 2 – Морфометрична мінливість мін/у популяціях *Parectopa robiniella* Clemens, 1863 (n = 84) на території Ботанічного саду ДНУ

Характеристика	***CV***	***SD***	***x***
L	0,40	5,50	13,70
W	0,60	4,90	8,40
S	0,80	3178,10	3787,60
Sl	0,40	11038,60	27137,70
L/W	0,30	0,50	1,90
S/Sl	0,80	0,10	0,10

Примітка: CV – коефіцієнт варіації; SD – стандартне відхилення; x – середнє значення; L – довжина міни, W – ширина міни, S – площа міни, Sl – площа листової пластинки, L/W – відношення довжини міни до її ширини, S/Sl – відношення площі міни до площі листкової пластинки

Морфологічні характеристики мін можна сприймати як головні показники успішного живлення гусені мінерів[11]. Оцінка площі міни визначає активність живлення гусені у ній[10]. Для перевірки цих гіпотез нами було здійснено морфометричні дослідження мін *P. robiniella.* У результаті проведених у вегетаційних сезонах 2018–2020 рр. досліджень з'ясувалось, що *P. robiniella* проявляє відносно велику пластичність до вибору умов існування. Про це свідчать статистичні дані (табл. 2), отримані під час морфологічних досліджень мін: коефіцієнт варіації довжини міни дорівнює 40,

ширини – 60, а площі – 100%. Відношення довжини до ширини менш варіативне, ніж відношення площі міни до площі листкової поверхні. Це, з одного боку, пов'язано з більш стабільною загальною формою міни, з іншого – досить мінливою площею міни, що, вірогідно, залежить від впливу комплексу факторів навколишнього середовища.

Висновки

Найбільша кількість мін реєструвалась у більш чистих зонах, що розташовані на високих відмітках рельєфу м. Дніпро, – Ботанічному саду ДНУ та парку імені Т.Г. Шевченка, а також у природному заповіднику Дніпровсько-Орільський. Найменша кількість мін реєструвалась ближче до центру міста: у парку Сагайдак та парку імені Лазаря Глоби. Робінія псевдоакація в межах міста менше проявляє схильність до заселення *P. robiniella* порівняно із деревами у більш чистих екосистемах. Найбільш уразливі особини робінії до заселення мінерами ті, що знаходяться за межею міста. Дослідження морфометричної пластичності мін *P. robiniella* надають особливого значення спостереженню за їх популяціями. Дослідження трофічних зв'язків мінерів-інвайдерів допоможуть виробленню сучасної стратегії контролю чисельності цих видів, а отже, захисту провідної для степової зони України лісо-меліоративної культури – *R. pseudoacacia*.

Література

(1) Vitousek, P.M.; D'Antonio, C.M.; Loope, L.L.; Westbrooks, R. Biological invasions as global environment change. American Scientist. **1996**, 84, 468–478.

(2) Holoborodko, K.K.; Marenkov, O.M.; Gorban, V.A.; Voronkova, Y.S. The problem of assessing the viability of invasive species in the conditions of the steppe zone of Ukraine. Vìsn. Dnìpropetr. Unìv. Ser. Bìol. Ekol. **2016**, 24(2), 466–472. https://doi.org/10.15421/011663

(3) Голобородько, К.К.; Селютіна, О.В.; Крайник, Ю.М.; Пахомов, О.Є. Комплекс інвазійних Лускокрилих (Lepidoptera) на території Національного природного парку «Великий Луг». Український ентомологічний журнал. **2020**, 1–2 (18), 30–35. DOI: https://doi.org/10.15421/282004

(4) Lopez-Vaamonde, C. Chapter 11. Lepidoptera / Lopez-Vaamonde, C.; Agassiz, D.; Augustin, S.; De Prins, J.; De Prins, W.; Gomboc, S.; Ivinskis, P.; Karsholt, O.; Koutroumpas, A.; Kouttoumpa, F.; Laštůvka, Z.; Marabuto, E.; Olivella, E.; Przybylowicz, L.; Roques, A.; Ryrholm, N.; Šefrová, H.; Šima, P.; Sims, P.; Sinev, S.; Skulev, B.; Tomov, R.; Zilli, A.; Lees, D. Alien terrestrial arthropods of Europe / Eds. A. Roques et al. BioRisk. **2010**, 4 (2), 603–668.

(5) Мєшкова, В.Л.; Туренко, В.П.; Байдик, Г.В. Адвентивні шкідливі організми в лісах України. Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Серія «Фітопатологія та ентомологія». **2014**, 1–2, 112–121.

(6) Kirichenko, N.; Augustin, S.; Kenis, M. Invasive leafminers on woody plants: a global review of pathways, impact, and management. Journal of Pest Science. **2018**, First Online: 29 June 2018, 1–14.

(7) Голобородько, К.К.; Русинов, В.І.; Селютіна, О.В. Інвазійні молі-строкатки (Gracillariidae Stainton, 1854) фауни Ботанічного саду Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. Питання степового лісознавства та лісової рекультивації земель. **2018**, 47, 87–91.

(8) Šefrova, H. Phyllonorycter robiniella (Clemens, 1859) – egg, larva, bionomics and its spread in Europe (Lepidoptera, Gracillariidae). Acta Universitatis agriculturae mendelianae Brunensis, **2002**, 50, 7–12.

(9) Ivinskis, P.; Rimsaite, J. Records of Phyllonorycter robiniella (Clemens, 1859) and Parectopa robiniella Clemens, 1863 (Lepidoptera, Gracillariidae) in Lithuania. Acta Zoologica Lituanica, **2008**, 18 (2), 130–133.

(10) Fodor, E.; Hâruţa, O. Niche partition of two invasive insect species, Parectopa robiniella (Lepidoptera, Gracillariidae) and Phyllonorycter robiniella (Clem.) (Lepidoptera, Gracillariidae). Research Journal of Agricultural Science, **2009**, 41 (2), 261–269.

(11) Holoborodko, K.K.; Rusynov, V.I.; Seliutina, O.V. Addition to analysis of morphological parameters of mines on two invasive leaf-mining Lepidoptera species ((Parectopa robiniella (Clemens, 1863) and Phyllonorycter robiniella (Clemens, 1859)) on black locust . Problems of bioindications and ecology. **2018**, 23 (2) 134–141. https://doi.org/10.26661/2312-2056/2018-23/2-09

(12) Lakatos, F.; Kovacs, Z.; Staujfer, C.; Kenis, M.; Tomov, R.; Davis, D.R. The Genetic Background of Three Introduced Leaf Miner Moth Species – Parectopa robiniella Clemens 1863, Phyllonorycter robiniella Clemens 1859 and Cameraria ohridella Deschka et Dimič 85 1986. Proceedings Forest Insect Population Dynamics and Host Influences (Kanazawa, Japan, 14–19 September 2003). Kanazawa, **2006**, 67–71.

(13) Enescu, C.M.; Dănescu, A. Black locust (Robinia pseudoacacia L.) – an invasive neophyte in the conventional land reclamation flora in Romania. Bulletin of the Transilvania University of Braşov Series II: Forestry, Wood Industry,Agricultural Food Engineering. **2013**, 6 (55), 2, 24–30.

(14) Слинько, В.А.; Бригадиренко, В.В.; Пахомов, А.Е. Морфологическая изменчивость Bembidion varium (Carabidae, Coleoptera) в условиях антропогенного воздействия. Известия НАН Азербайджана (биологические науки). **2008**, 63 (5–6), 208–214.

(15) Бригадиренко, В.В.; Федорченко, Д.О. Морфологічна мінливість популяції Carabus hungaricus scythus (Coleoptera, Carabidae) в умовах острова Хортиця (Запорізька область). Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. **2008**, 1(16), 20–27.
(16) Brygadyrenko, V.V.; Korolev, O.V. Morphological polymorphism in an urban populatiom of Pterostichus melanarius (Illiger, 1798) (Coleoptera, Carabidae). Graellsia. **2015**, 71(1), 1–15. http://dx.doi.org/10.3989/graellsia.2015.v71.126.
(17) Hodkinson, I.D.; Jackson, J.K. Terrestrial and aquatic invertebrates as bioindicators for environmental monitoring, with particular reference to mountain ecosystems. Environmental Management. **2005**, 5 (35), 649–666.

UDC 616-036.88-037:[616.36-008.64-02:616.36-004
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-06

Predictors of the short-term mortality in patients with hepatorenal syndrome

Rusnak I. T., Tashchuk V. K., Slyvka N. O., Berezova M. S., Akentyev S. O.
Bukovinian State Medical University
ilonarusnakdr@gmail.com

Key words: *hepatorenal syndrome, short-term mortality, CLIF-C-ACLF scale.*

This research is aimed to determine the most important predictors of the short-term mortality of patients with hepatorenal syndrome using the CLIF-C-ACLF score. The study enrolled 109 patients with alcoholic liver cirrhosis, complicated with hepatorenal syndrome, admitted to the Chernivtsi Region Narcology Dispensary between January 2013 to August 2019. The patients were 29 to 60 years old at the time of inclusion to the study. The average duration of the alcoholic liver cirrhosis (ALC) was 3.5±1.54 years; average history of alcohol abuse – 8.42±3.53 years; gender distribution was: 77.9% (n=85) males and 22.1% (n=24) – females. All patients were prescribed the standard therapy and were distributed into 2 groups depending on the response to treatment: group 1 (n=57) – responders, group 2 (n=52) – non-responders. The number of patients who survived after 1 and 3 months differed significantly in both groups: 40/57 (70.2%) and 33/57 (57.9%), respectively, in the group of responders; and 10/52 (19.2%) and 0/52 (0%), respectively, in the group of non-responders ($p < 0.001$). The estimates of the probability of survival for each of the group members were found using Kaplan Meyer's procedure. Type 1 of hepatorenal syndrome, response to the treatment in the first 24 hours, and the high baseline score by CLIF-C-ACLF scale were identified as the predictors of short-term mortality. Improvement in renal function during treatment was observed in most patients in group 1: a decrease of the level of serum creatinine in patients with a response ranged from 323.2±91.1 to 121.6±30.0 mmol/l. The results of the study indicate that type 1 of hepatorenal syndrome, no response to treatment in the first 24 hours, and high CLIF-C-ACLF score are the most important predictors of survival in patients with hepatorenal syndrome. Monitoring of these indicators allows to identify the group of patients with the worst prognosis and to put them in priority to the liver transplantation list.

Предиктори короткострокової смертності у хворих на гепаторенальний синдром

Руснак І. Т., Тащук В. К., Сливка Н. О., Березова М. С., Акентьєв С. О.
Буковинський державний медичний університет

Ключові слова:
гепаторенальний синдром, короткострокова смертність, шкала CLIF-C-ACLF.

Це дослідження спрямоване на визначення найважливіших предикторів короткострокової смертності пацієнтів із гепаторенальним синдромом за допомогою шкали CLIF-C-ACLF. У дослідженні взяли участь 109 пацієнтів із алкогольним цирозом печінки, ускладненим гепаторенальним синдромом, госпіталізованих до Чернівецького обласного наркологічного диспансеру із січня 2013 року по серпень 2019 року. На момент включення у дослідження пацієнтам було від 29 до 60 років. Середня тривалість алкогольного цирозу печінки (АЦП) становила 3,5±1,54 року; середній анамнез зловживання алкоголем – 8,42±3,53 року; розподіл за статтю становив: 77,9% (n=85) чоловіків та 22,1% (n=24) – жінок. Усі пацієнти отримували стандартну терапію та були розподілені на 2 групи залежно від реакції на лікування: група 1 (n = 57) – респондери, група 2 (n = 52) – нон-респондери. Кількість пацієнтів, які вижили через 1 та 3 місяці, суттєво різнилася в обох групах: 40/57 (70,2%) та 33/57 (57,9%) відповідно у групі респондерів; та 10/52 (19,2%) та 0/52 (0%) відповідно у групі нон-респондерів (p <0,001). Оцінки ймовірності виживання для кожного з членів групи були знайдені за допомогою тесту Каплана-Мейєра. Тип 1 гепаторенального синдрому, відсутність відповіді на лікування протягом перших 24 годин та високий базовий бал за шкалою CLIF-C-ACLF були визначені як предиктори короткострокової смертності. Поліпшення функції нирок під час лікування спостерігалось у більшості пацієнтів групи 1: зниження рівня креатиніну в сироватці крові у респондерів становило від 323,2±91,1 до 121,6±30,0 ммоль/л. Результати дослідження вказують на те, що тип 1 гепаторенального синдрому, відсутність відповіді на лікування протягом перших 24 годин та високий бал CLIF-C-ACLF є найважливішими предикторами виживання у пацієнтів із гепаторенальним синдромом. Моніторинг цих показників дозволяє визначити групу пацієнтів з найгіршим прогнозом та поставити їх на перше місце у списку для трансплантації печінки.

Introduction

Hepatorenal syndrome (HRS) is a potentially reversible form of renal failure that occurs in patients with liver cirrhosis. The average life expectancy in untreated patients with HRS is about 2 weeks and saving their lives is challenging[1–3]. There are many instruments for assessing the severity of HRS in patients with cirrhosis, like hepatic failure scores (i.e. Child-Pugh and MELD)[4], renal failure scores (i.e. RIFLE and AKI)[5] but their accuracy depends on the clinical situation (acute or chronic course of the disease, presence or absence of complications, etc.) and on the goal set (estimation of risk of the disease aggravation, stratification of the current condition severity or prediction of the outcome)[6].

Recently, the concept of acute-on-chronic liver failure (ACLF)[7], which involves a sharp deterioration of the liver function in patients with cirrhosis, is becoming more and more recognized, i.e. development of the fulminant liver failure caused by secondary or extrahepatic causative factors – precipitating factors, such as infections and HRS in particular. In regards to this approach, the new score was developed to estimate the risk of short-term mortality (within the first 28 days after admission to the hospital) in patients with sudden deterioration of the chronic liver disease – CLIF-C-ACLF score (Chronic Liver Failure Consortium of Acute-on-Chronic Liver Failure)[8–14].

However, these scales are complex to use as they contain many indicators to predict the short-term mortality in patients who were treated for HRS. The aim of this study was to determine the most important predictors of the short-term mortality of patients with HRS using the CLIF-C-ACLF score.

Material and methods

The research enrolled 109 patients of Chernivtsi Region Narcology Dispensary admitted between January 2013 to August 2019.

Inclusion criteria: patients with alcoholic liver cirrhosis complicated with the hepatorenal syndrome within the age range between 20 and 65 years old, fulfilling the definition of CLIF-C-ACLF (the organ/system failure criteria were: liver – bilirubin, kidney – creatinine, brain – liver encephalopathy, coagulation – international normalized ratio (INR), blood circulation – use of vasopressors, lungs – SpO^2/FiO^2)[7].

Exclusion criteria: chronic kidney disease, terminal conditions, age less than 29 and more than 60 years old, viral etiology of cirrhosis (all patients were tested anti-HCV and HBsAg by ELISA method when admitted to the hospital), surgical interventions and gastrointestinal bleeding during the last 8 weeks, acute alcoholic intoxication, acute portal vein thrombosis, obstructive jaundice, decompensation of concomitant pathology.

Bioethical considerations: the study was approved by the ethics committee of the Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine (Ethics Committee No. 2019/12, August 22, 2019) in compliance with the recommendations of Declaration of Helsinki, 1964, amended by the World Medical Association, 2001[15].

HRS was diagnosed based on criteria of the Clinical Guidelines on Liver Cirrhosis and Its Complications of Ministry of Health of Ukraine, No. 751 dated September 28, 2012 and EASL (European association for the study of the liver) Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis, 2018[16].

According to both guidelines, all enrolled patients with ALC and HRS were prescribed 20% albumin intravenously (i/v) at the same dosage (1 g/kg per day on the first day of treatment and 20–40 g/day – in the next six days) and terlipressin (0,1mg/ml) in standard dosage by continuous intravenous administration for 7 days.

All patients with HRS were distributed into 2 groups depending on the response to treatment: group 1 (n=57) – responders (decrease of sCr to ≤133 mmol/l), group 2 (n=52) – non-responders (decrease of sCr less than 50% of baseline). In both groups, the treatment was evaluated every 48 hours and performed until the sCr level decreased to 133 mmol/l (or for a maximum of 14 days) and continued for another 24 hours after the response to treatment. The response to treatment was taken as the primary endpoint of the study and was used to calculate the sample size.

Statistical processing of the study results was carried out using the program package RStudio1.1.463. Patients survival was assessed by the Kaplan-Meier method[17] and was compared in both groups using a logarithmic test. Variables that were detected as predictors of response to treatment and survival with a value of $p < 0.1$ in one-dimensional analysis, were included in the multivariate logistic regression model; where the results were presented as odds with a 95% confidence interval. All tests were two-tailed. The value of $p<0.05$ was considered statistically significant with an error of α 5% and β error of 20%.

Results

The patients were 29 to 60 years old at the time of inclusion to the study. The average duration of the alcoholic liver cirrhosis (ALC) was 3.5±1.54 years; average history of alcohol abuse – 8.42±3.53 years; gender distribution was: 77.9% (n=85) males and 22.1% (n=24) – females (Table 1).

HRS in both groups was mostly represented with the type 1: group 1 – 89.5%; group 2 – 90.4% ($p>0.05$) and had the initial scoring by CLIF-C-ACLF scale (Table 2).

The number of patients who survived after 1 and 3 months differed significantly in both groups: 40/57 (70.2%) and 33/57 (57.9%), respectively, in the group of responders; and 10/52 (19.2%) and 0/52 (0%),

Table 1 – Demographic and clinical characteristic of patients with hepatorenal syndrome enrolled in the study

Characteristic	Group 1, responders (n=57)	Group 2, non-responders (n=52)
Gender		
Male, (n, %)	44 (77.2%)	41 (78.8%)
Female, (n, %)	13 (22.8%)	11 (21.2%)
Both gender age groups, years		
29–40, (n, %)	9 (15.8%)	7 (13.5%)
40–50, (n, %)	32 (56.1%)	31 (59.6%)
50–60, (n, %)	16 (28.1%)	14 (26.9%)
Clinical characteristics		
History of alcohol abuse, years	8.31±3.48	8.43±3.59
History of ALC, years	3.6±1.55	3.4±1.53

respectively, in the group of non-responders ($p < 0.001$).

The estimates of the probability of survival for each of the group members were found using Kaplan Meyer's procedure (Fig. 1).

Next, we determined the magnitudes of risks for each of the groups, which were characterized by the risk function. The risk function λ was defined as the speed of the event at time *t* under the condition of survival before time *t* or later:

$$\lambda(t) = \lim_{dt \to 0} \frac{\Pr(t \le T < t + dt)}{dt \cdot S(t)} = \frac{f(t)}{S(t)} = -\frac{S'(t)}{S(t)}.$$

Here $f(t) = F'(t) = (1 - S(t))'$ is a lifetime density function.

That is, for the group 1 the average risk of death was 0.153 ± 0.026, and it was 0.958 ± 0.034 for the group 2. Risk in the group 2 increased in 6.26 times compared to the group 1.

For the multivariate analysis were chosen those clinical and laboratory parameters which have revealed the significant correlation with the short-term mortality: age, gender, response to treatment in the first 24 hours, type of HRS and CLIF-C-ACLF score. The analysis did not reveal age and gender to be the predictors of short-term mortality. Type 1 of HRS, no response to the treatment in the first 24 hours and the high baseline score by CLIF-C-ACLF scale were identified as the predictors of the short-term mortality (Table 3).

Improvement in renal function during treatment was observed in most patients in the group 1: a decrease of the level of serum creatinine in patients with a response ranged from 323.2±91.1 to 121.6±30.0

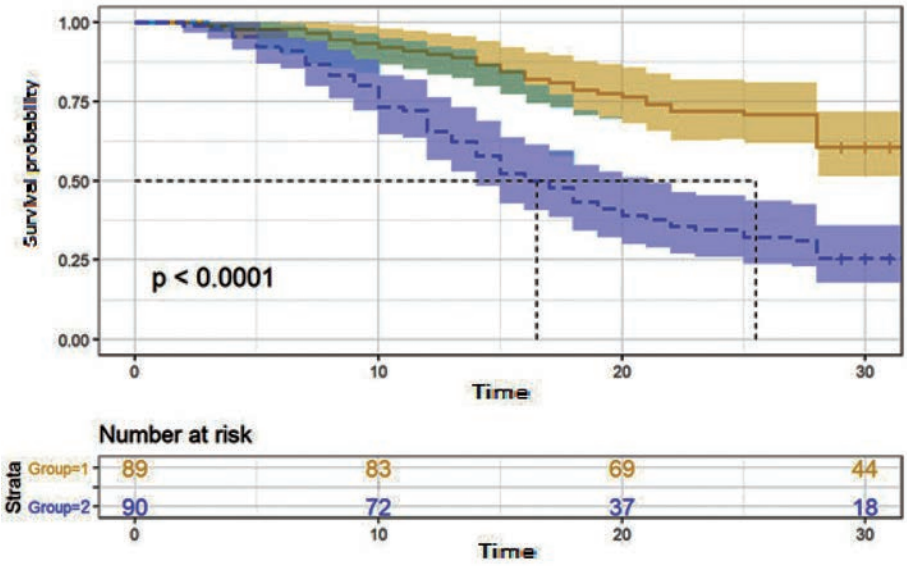


Fig. 1. Graph of the survival function of patients with HRS depending on the type of response to treatment in the first 24 hours

Table 2 – Stratification of the enrolled patients by the type of hepatorenal syndrome and the severity by CLIF-C-ACLF score

CLIF-C-ACLF score	**Group 1, responders (n=57)**		**Group 2, non-responders (n=52)**	
	HRS type 1	**HRS type 2**	**HRS type 1**	**HRS type 2**
I – n, (%)	15 (26.3%)		19 (36.5%)	
	12 (21.1%)	3 (5.2%)	16 (30.8%)	3 (5.7%)
II – n, (%)	25 (43.9%)		23 (44.2%)	
	22 (38.6%)	3 (5.3%)	21 (40.4%)	2 (3.8%)
III – n, (%)	12 (21.1%)		8 (15.4%)	
	12 (21.1%)	0	12 (21.1%)	0
IV – n, (%)	6 (10.5%)		2 (3.8%)	
	12 (21.1%)	0	12 (21.1%)	0

Note: there was no statistical significance for all data between groups 1 and 2 ($p > 0.05$)

Table 3 – Predictors of the short-term mortality for patients with the hepatorenal syndrome

Variable	Risk ratio	95% CI	p value
Age, years	0.96	0.24–0.98	p>0.05
Gender, male/female	0.54	0.16–0.87	p>0.05
Response to treatment in the first 24 hours (sCr decreased to ≤133 mmol/l)	23.92	3.21–15.75	p<0.002
Type of HRS, 1 or 2	9.8	1.1–1.2	p<0.01
CLIF-C-ACLF score (I, II, III, IV)	1.18	1.4–1.42	p<0,02

mmol/l. There were no significant differences between the two groups in terms of the treatment duration (8.2±4.4 days in the group 1 versus 9.1±5.0 days in the group 2; p>0.05).

Discussion

Type 2 HRS is considered to be more favourable for survival prognosis, as it develops slowly and gives more time for adequate treatment measures[18]. However, some studies have shown no differences between responders and non-responders to albumin+terlipressin treatment in the mortality rate of type 2 HRS patients[19]. Besides, the authors did not report any significant differences regarding the development of acute kidney injury, need for renal replacement therapy, frequency of chronic kidney disease 1 year after transplant, length of hospitalization, and survival. We could not address these issues in the present study due to the very low incidence of type 2 HRS. The small number of type 2 HRS patients in this study (10.5% of group 1 and 9.5% of group 2) is in keeping with data from the previous reports. Further investigations are needed to obtain the precise data. This may take a long time, as type 2 HRS is much rarer than type 1 HRS[20].

One of the most powerful predictors of mortality in the present study was the lack of patients' response to treatment, which goes in a line with the literature data[21]. By contrast, patients' age was not proved as the mortality predictor for both types of HRS in our research, while in the investigations of type 1 HRS only it was associated with no reversibility and poor prognosis of the disease[21].

Another concern is probably different pathogenetic mechanisms of types 1 and 2 HRS. As type 1 HRS develops rapidly and suddenly, it is mostly associated with ACLF, while type 2 HRS develops slowly and corresponds to chronic liver disease. Due to this fact, different scoring systems could be considered for the risk assessment of short-term mortality according to the type of HRS. Obviously, CLIF-C-ACLF might be more accurate for the type 1 HRS patients, while MELD score – for type 2 HRS patients. D. Perdigoto[22] attempted to compare the accuracy of CLIF-C-ACLF and MELD scores for liver cirrhosis, but the type of HRS was not considered in his study, so further endeavours are needed to answer this question.

Terlipressin, used in our study is a rather expensive medication and is not affordable sometimes. Dopamine is a commonly used substitute for terlipressin, but it has shown fewer efficacies in some studies[23], so another research is required to compare the impact of both drugs on the short-term survival of patients with HRS.

Conclusions

The results of the study indicate that the type 1 of hepatorenal syndrome, no response to treatment in the first 24 hours and high CLIF-C-ACLF score are the most important predictors of survival in patients with hepatorenal syndrome. Patients' age and gender were not revealed as predictors of short-term mortality. Monitoring of these indicators allows to identify the group of patients with the worst prognosis and to put them in priority to the liver transplantation list.

References

(1) European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. J Hepatol. **2010**, *53(3),* 397–417. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.004.

(2) European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of alcohol-related liver disease. J Hepatol. **2018**, *69,* 154–181. doi.org/10.1016/

(3) Ginès, P.; Solà, E.; Angeli, P.; Wong, F. et al. Hepatorenal syndrome. *Nat. Rev. Dis. Primers.* **2018**, *4(1)*, 23. DOI: 10.1038/s41572-018-0022-7.

(4) Kamath, P.S.; Kim, W.R. The model for end-stage liver disease (MELD). Advanced Liver Disease Study Group. *Hepatol.* **2007**, *45(3)*, 797–805. DOI: 10.1002/hep.21563.

(5) Blatt, N.B.; Cornell, T.T. Acute Kidney Injury Scoring Systems: From Over 30 to 4 (or 1)? *Pediatr. Crit. Care Med.* **2016**, *17(9)*, 892–894. DOI: 10.1097/PCC.0000000000000894

(6) Zhao, H., Gu, X., Zhao, R., Shi, Y., & Sheng, J. Evaluation of prognostic scoring systems in liver cirrhosis patients with bloodstream infection. *Medicine.* **2017,** *96(50),* e8844. DOI: https://doi.org/10.1097/MD.0000000000008844

(7) Arroyo, V.; Moreau, R.; Kamath, P.; Jalan, R. Acute-on-chronic liver failure in cirrhosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* **2016**, *2*, 16041. DOI: 10.1038/nrdp.2016.41.
(8) Picon, R. V.; Bertol, F. S.; Tovo, C. V.; de Mattos, Â. Z. Chronic liver failure-consortium acute-on-chronic liver failure and acute decompensation scores predict mortality in Brazilian cirrhotic patients. *World J. Gastroenterol.* **2017,** *23(28)*, 5237–5245. DOI: 10.3748/wjg.v23.i28.5237.
(9) Zaccherini, G., Weiss, E., & Moreau, R. Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment. *JHEP reports: innov. in hepatol.* **2020**, *3(1),* 100176. doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100176.
(10) Amin, A., & Mookerjee, R. P. Acute-on-chronic liver failure: definition, prognosis and management. *Frontline gastroenterol.* **2019**, *11(6),* 458–467. doi.org/10.1136/flgastro-2018-101103.
(11) Maipang, K., Potranun, P., Chainuvati, S., et al. Validation of the prognostic models in acute-on-chronic liver failure precipitated by hepatic and extrahepatic insults. *PLoS One.* **2019,** *14(7),* e0219516. Published 2019 Jul 10. DOI: 10.1371/journal.pone.0219516.
(12) Cai, Q., Liu, W., Zhu, M., Sheng, J. Microbial Infections as a Trigger for Acute-on-Chronic Liver Failure: A Review. *Med Sci Monit.* **2019,** *25,* 4773–4783. Published 2019 Jun 27. DOI: 10.12659/MSM.915637/.
(13) Engelmann, C., Thomsen, K.L., Zakeri, N., et al. Validation of CLIF-C ACLF score to define a threshold for futility of intensive care support for patients with acute-on-chronic liver failure. *Crit Care.* **2018**, *22(1),* 254. Published 2018 Oct 10. DOI: 10.1186/s13054-018-2156-0.
(14) Jiang, Q.Q., Han, M.F., Ma, K., et al. Acute kidney injury in acute-on-chronic liver failure is different from in decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol.* **2018,** *24(21),* 2300–2310. DOI: 10.3748/wjg.v24.i21.2300.
(15) World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Bulletin of the World Health Organization*. **2001,** *79(4)*, 373–374. World Health Organization. URL: https://apps.who.int/iris/handle/10665/268312.
(16) European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. *J. Hepatol.* **2018**, *69(2),* 406–460. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.03.024.
(17) Rich, J.T.; Neely, J.G.; Paniello, R.C.; Voelker, C.C. et al. A practical guide to understanding Kaplan-Meier curves. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* **2010**, *143(3)*, 331–336. DOI: 10.1016/j.otohns.2010.05.007.
(18) Sersté, T., Lebrec, D., Valla, D., Moreau, R. Incidence and characteristics of type 2 hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis and refractory ascites. *Acta Gastroenterol Belg.* **2008,** *71(1),* 9–14. PMID: 18396743.
(19) Rodriguez, E., Pereira G., Solà, E. et al. Treatment of type 2 hepatorenal syndrome in patients awaiting transplantation: Effects on kidney function and transplantation outcomes. *Liver transplant.* **2015,** *21,* 1347–1354. doi.org/10.1002/lt.24210.
(20) Mindikoglu, A.L.; Pappas, S.C. New Developments in Hepatorenal Syndrome. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2018**, *16(2)*, 162–177. e1. DOI: 10.1016/j.cgh.2017.05.041.
(21) Barreto, R., Fagundes, C., Guevara, M. et al. Type-1 hepatorenal syndrome associated with infections in cirrhosis: natural history, outcome of kidney function, and survival. *Hepatol.* **2014,** *59(4),* 1505–13. DOI: 10.1002/hep.26687.
(22) Perdigoto, D., Figueiredo, P., Tomé L. The role of the CLIF-C and the MELD in prognosis of cirrhosis with and without Acute-on-Chronic Liver Failure. *Annals of Hepatol.* **2016,** *18 (1),* 48–57. DOI: 10.5604/01.3001.0012.7862.
(23) Srivastava, S.; Shalimar, T.; Vishnubhatla, S.; Prakash, S. et al. Randomized controlled trial comparing the efficacy of terlipressin and albumin with a combination of concurrent dopamine, furosemide, and albumin in hepatorenal syndrome. *J. Clin. Exp. Hepatol.* **2015**, *5(4)*, 276–85. DOI: 10.1016/j.jceh.2015.08.003.

УДК 612.135-057.87
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-07

Особливості гемодинаміки у пубертатний та постпубертатний етапи онтогенезу людини

Станішевська Т. І., Горна О. І., Горбань Д. Д.
ORCID: 0000-0002-4012-7335
Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького
horban_daria@mdpu.org.ua

Ключові слова:
мікроциркуляція крові, лазерна допплерівська флоуметрія, вікові періоди онтогенезу.

Стаття присвячена вивченню особливостей вікової динаміки індивідуально-типологічних показників мікроциркуляції крові на пубертатному і постпубертатному періодах розвитку організму людини. Дослідження проводилися на базі лабораторії фізіологічних досліджень. У дослідженні взяли участь 63 умовно здорові досліджувані за добровільною згодою віком 14–15 та 18–19 років. З метою вивчення функціонального стану мікроциркуляції крові в організмі людини був використаний метод лазерної допплерівської флоуметрії. В осіб чоловічої та жіночої статей на вивченому етапі онтогенезу спостерігали збереження гетерохронності за величинами параметрів мікроциркуляції крові та середнього квадратичного відхилення тканинного кровотоку. Так, на одному віковому відрізку були вищими показники у досліджуваних жіночої статі, а на іншому – в осіб чоловічої статі. Середні величини показників мікроциркуляції крові у хлопців та дівчат одного віку достовірно не відрізнялися. Комп'ютерна програма обробки дозволяла визначити такі характеристики мікроциркуляції, як: параметр мікроциркуляції, середнє квадратичне відхилення реєстрованих допплерівських сигналів та коефіцієнт варіації. В обстежених пубертатного та постпубертатного віку обох статей виявлено три типи мікроциркуляції. Аперіодична ЛДФ-грама відповідала нормоемічному типу мікроциркуляції крові, що характеризується збалансованістю механізмів вазомоторної, метаболічної та нейрогенної регуляції мікроциркуляції за частотою і амплітудою. Для синусоїдальної ЛДФ-грами, що відповідає гіпоемічному типу мікроциркуляції крові, характерний низький показник параметру мікроциркуляції, зумовлений зниженням вазомоторних механізмів у регуляції. Монотонна ЛДФ-грама гіперемічного типу характеризувалася високим параметром мікроциркуляції, переважанням пасивних механізмів, дихальних і серцевих ритмів у регуляції мікроциркуляції. Частота співвідношення різних мікроциркуляторних типів приблизно однакова у осіб жіночої та чоловічої статі і безпосередньо залежить від їхнього віку.

Features of hemodynamics in pubertal and postpubertal stages of human ontogenesis

Stanishevska T. I., Gorna O. I., Horban D. D.
Melitopol Bogdan Khmelnytsky State Pedagogical University

Key words: *microcirculation of blood, laser Doppler flowmetry, age periods of ontogenesis.*

The article is devoted to the study of the features of age-related dynamics of individual-typological indicators of blood microcirculation in the pubertal and post-pubertal periods of human body development. The study has been carried out in the laboratory of physiological research and included 63 relatively healthy people on the voluntary consent in age of 14–15 and 18–19 years old. In order to study the functional state of blood microcirculation in the human body, the method of Laser Doppler flowmetry was used. In both sexes, at the studied stage of ontogenesis, heterochromicity was observed in the values of blood microcirculation parameters and the average square deviation of tissue blood flow. So, at one age segment, the indicators were higher in the females, and at the other – in males. The average values of blood microcirculation indicators in boys and girls of the same age did not significantly differ. The computer processing program made it possible to determine the following microcirculation characteristics: the microcirculation parameter, the average square deviation of the recorded Doppler signals, and the coefficient of variation. In the examined pubertal and post-pubertal ages of both sexes, three types of microcirculation were found. The aperiodic LDF-gram corresponded to the normoemic type of blood microcirculation, characterized by a balanced mechanism of vasomotor, metabolic and neurogenic regulation of microcirculation in frequency and amplitude. The sinusoidal LDF-gram, which corresponds to the hypoemic type of blood microcirculation, characterized by a low indicator of the microcirculation parameter due to a decrease in vasomotor mechanisms in regulation. The monotonous LDF-gram of the hyperemic type was characterized by a high microcirculation parameter, the predominance of passive mechanisms, respiratory and cardiac rhythms in the regulation of microcirculation. The frequency of the ratio of different microcirculatory types is approximately the same in women and men directly depends on their age.

Вступ

Однією з важливих медико-біологічних проблем є вивчення окремих етапів зростаючого організму в постнатальному онтогенезі. Суттєве значення у вивченні закономірностей морфо-функціонального розвитку має використання методології вікової періодизації. Є думка[1, 2] про те, що підвищена сенситивність виникає, як правило, під час переходу від одного вікового періоду до іншого.

Для вікової фізіології вивчення проблеми мікроциркуляції являє певний інтерес, оскільки дозволяє розкрити механізми, які лежать в основі пристосувальних реакцій організму. Для розуміння місця і ролі гемомікроциркуляції у підтримці тканинного гомеостазу ключове значення має аналіз становлення в онтогенезі дефінітивних конструкцій мікроциркуляторного русла і механізмів регуляції капілярного кровотоку. За даними літератури[1, 3, 4], найбільш активно перебудова системи мікроциркуляції відбувається на етапах пубертатного і постпубертатного періодів розвитку організму людини.

Своєрідність функціонування мікросудин, їх висока реактивність, специфіка організації, велика поширеність і тісна близькість з тканинними елементами органів – все це зумовлює той факт, що вони являють собою найбільшу лабільну ланку у серцево-судинній системі і є об'єктом постійного дослідження.

Дослідження системи мікроциркуляції крові у дітей[1–4] у постнатальному онтогенезі являють великий науковий і практичний інтерес. Завдяки останнім досягненням комп'ютерних технологій у галузі спектрального аналізу коливань кровотоку мікросудинного русла і розробці адекватних функціональних проб стало можливим неінвазивно за допомогою лазерної допплерівської флоуметрії (ЛДФ) виділити і проаналізувати регуляторні фактори, контролюючі мікрогемодинаміку у віковому аспекті.

Таким чином, **метою нашого дослідження** був аналіз вікової динаміки показників мікроциркуляції крові на пубертатному і постпубертатному періодах розвитку організму людини.

Матеріали та методи

Дослідження проводилися на базі лабораторії фізіологічних досліджень Мелітопольського педагогічного університету імені Богдана Хмельницького. У дослідженні взяли участь 63 майже здорові досліджувані за добровільною згодою віком 14–15 (учні загальноосвітніх шкіл міста Мелітополя) та 18–19 років (студенти МДПУ імені Богдана Хмельницького). З них – 33 дівчини та 30 хлопців-добровольців. Дослідження проводилися відповідно до сучасних вимог біоетики.

З метою вивчення функціонального стану мікроциркуляції крові в організмі людини був використаний метод лазерної допплерівської флоуметрії (ЛДФ), що дозволяло оцінити стан тканинного кровотоку і виявити ознаки зміни мікроциркуляції під впливом різних чинників.

ЛДФ здійснювали лазерним аналізатором кровотоку «ЛАКК-01» з лазерним джерелом випромінювання на довжині хвилі 0,63 мкм. Лазерний аналізатор був з'єднаний із комп'ютером. Дослідження стану мікроциркуляції проводили у досліджуваних у сидячому стані. Голівка оптичного зонду (датчика приладу) фіксувалась на вентральній поверхні 4-го пальця лівої руки; рука розташовувалась на рівні серця. Тривалість стандартного запису становила 3 хвилини у першій половині дня. Записи ЛДФ-грам робилися відповідно до методичних рекомендацій «Методика лазерної допплерівської флоуметрії»[5–8]. Комп'ютерна програма обробки ЛДФ-грами дозволяла визначити такі характеристики мікроциркуляції, як: ПМ – параметр мікроциркуляції, СКВ – середнє квадратичне відхилення реєстрованих допплерівських сигналів та коефіцієнт варіації.

За В.І. Козловим (2012)[5], параметр мікроциркуляції (ПМ) являє собою інтегральну характеристику кровотоку, який є функцією від середньої швидкості руху еритроцитів (Vcep.), показника капілярного гематокриту (Htk) і числа функціонуючих капілярів у вимірюваному об'ємі тканин (Nk):

$$ПМ=Vcep. \times Htk \times Nk$$

ПМ вимірюється в умовних одиницях і характеризує величину перфузії кров'ю одиниці об'єму тканини за одиницю часу.

Параметр σ (СКВ) – середнє коливання перфузії щодо середнього значення потоку крові М. СКВ обчислюється за формулою для середньоквадратичного відхилення[6, 7, 9]. Має розмірність у перфузних одиницях.

Також під час аналізу розрахункових параметрів доцільно орієнтуватися на співвідношення величин ПМ та СКВ, тобто на коефіцієнт варіації:

$$Kv = \frac{СКВ}{ПМ} \cdot 100$$

Важливим етапом ЛДФ-метрії є амплітудно-частотний аналіз (АЧС) гемодинамічних ритмів коливань тканинного кровотоку. АЧС-аналіз проводився за допомогою спеціального розщеплення ЛДФ-грами на гармонійні складники, у разі якого з'являється можливість визначити ступінь вираження або домінування тих чи інших коливань тканинного кровотоку в тканинній гемодинаміці. Програмне забезпечення ґрунтувалося на спектральному розщепленні ЛДФ-грами з використанням математичного апарата Фур'є[10, 11]. Амплітуда кожної гармоніки визначалася в діапазоні частот від 0,01 до 1,2 Гц.

У разі амплітудно-частотного аналізу ЛДФ-грами вираховувались амплітуда (А) міогенних метаболічних коливань у діапазоні частот від 0,01 до 0,03 Гц (1–2 коливання за хвилину) (AVLF); вазомоторних коливань у діапазоні частот від 0,05 до 0,15 Гц (4–8 коливань за хвилину) (ALF); дихальних коливань у діапазоні частот від 0,2 до 0,3 Гц (AHF) і пульсових хвиль (ACF). Внесок різноманітних ритмічних складників (Р) оцінюється за їх потужністю у відсотковому відношенні до загальної потужності спектра флаксмоцій[5, 7, 12]:

$$P = ALF2 /(AVLF2+ALF2+AHF2+ACF2) \times 100\%.$$

Аналіз кількісних показників проведено з використанням статистичної програми Microsoft Excel з визначенням середніх значень (М), середнього квадратичного відхилення (σ), середньої помилки (m).

Результати

На окремих стадіях постнатального онтогенезу система мікроциркуляції крові має різні характеристики. За нашими даними, в ході онтогенезу від 14 до 19 років у хлопчиків і дівчат триває формування системи мікроциркуляції крові і перебудова механізмів регуляції.

Так, було визначено, що показники параметру мікроциркуляції крові (ПМ) змінюються від порівняно низьких значень у пубертатному до високих показників у постпубертатному віці (таблиці 1 та 2).

У пубертатний період онтогенезу у хлопчиків-підлітків 14–15 років параметр мікроциркуляції крові не перевищував 6,7±0,4 перф. од., величина СКВ не перевищувала 0,78±0,11 перф. од., а показник інтенсивності кровотоку у середньому дорівнював 1,52±0,15 ум. од.

На відміну від хлопчиків, у дівчат-підлітків у 14–15 років реєструвався більш швидкий

темп показників мікроциркуляції крові: параметр мікроциркуляції у середньому дорівнював 7,0±0,6 перф. од., СКВ – 0,83±0,11 перф. од., ІФМ – 1,64±0,15 ум. од.

У постпубертатний період онтогенезу (18–19 років) темпи приросту показників у групі юнаків підвищувалися до 8,1±0,7 перф. од. для ПМ і 0,90±0,15 перф. од. для СКВ, тоді як серед дівчат цього віку ПМ збільшувався до 9,1±0,2 перф. од. і СКВ до 1,07±0,23 перф. од.

Також простежували, що у досліджуваних осіб зберігається гетерохронність по величинах показників ПМ і СКВ (таблиця 3).

Серед амплітудних характеристик показник низькочастотних вазомоторних коливань був максимальний у 18–19 років як серед юнаків, так і дівчат. У постпубертатному періоді у дівчат та юнаків має місце слабке зниження амплітуди високочастотного ритму.

Виходячи з якісного аналізу допплерограм було виділено три типи, які суттєво відрізнялися за своїми параметрами та відповідали певним типам мікроциркуляції крові: аперіодична ЛДФ-грама (I тип), монотонна висококоамплітудна ЛДФ-грама (II тип), монотонна низькоамплітудна ЛДФ-грама (III тип) (таблиця 4).

Складний коливальний процес, графічно представлений у вигляді аперіодичного типу ЛДФ-грам (рис. 1), відображає зміни концентрації і швидкості потоку еритроцитів. Для аперіодичних ЛДФ-грам характерні відносно високі значення ПМ 9,4±0,3 перф. од. і добре виражені аперіодичні коливання кровотоку СКВ – 1,01±0,12 перф. од.

Тимчасова мінливість кровотоку є об'єктивною характеристикою рівня життєдіяльності тканин і виступає як суперпозиція «активних» і «пасивних» модуляцій флаксмоцій. Активні модуляції перебувають під контролем міогенного та нейрогенного механізмів і характеризуються величиною амплітуди й потужності спектра VLF і LF-коливань.

У частотно-амплітудному спектрі ЛДФ-грам I типу домінують дуже низькочастотні коливання з частотою менше 0,03 Гц (VLF-коливання) і низькочастотні вазомоторні в діапазоні 0,05-0,15 Гц (LF-коливання).

Переважання амплітуди низькочастотних коливань над високочастотними ритмами в частотно-амплітудному спектрі ЛДФ-грам I типу відображає максимально висока величина ІФМ – 1,89±0,23 ум. од.

Таблиця 1 – Динаміка показників мікроциркуляції крові за даними ЛДФ у досліджуваних жіночої статі різного віку

Вік, роки	**ПМ, перф. од.**	**СКВ, перф. од.**	**ІФМ, ум. од.**	**Амплітуда коливань, перф. од.**			
				VLF	**LF**	**HF**	**CF**
14	**7,2±0,6**	**0,82±0,11**	**1,62±0,14**	**1,60± 0,53**	**1,12± 0,16**	**0,31± 0,03**	**0,04± 0,01**
15	6,8±0,5	0,84±0,14	1,66±0,15	1,59± 0,33	0,93± 0,19	0,25± 0,02	0,03± 0,01
18	9,0±0,8	1,07±0,17	1,72±0,13	2,18± 0,64	1,44± 0,22	0,28± 0,02	0,04± 0,01
19	9,1±0,2	1,07±0,23	1,71±0,15	2,17± 0,24	1,41± 0,19	0,28± 0,03	0,04± 0,01

Таблиця 2 – Динаміка показників мікроциркуляції крові за даними ЛДФ у досліджуваних чоловічої статі різного віку

Вік, роки	**ПМ, перф. од.**	**СКВ, перф. од.**	**ІФМ, ум. од.**	**Амплітуда коливань, перф. од.**			
				VLF	**LF**	**HF**	**CF**
14	6,0±0,5	0,74±0,12	1,50±0,13	1,47±0,36	0,91±0,15	0,30± 0,03	0,05±0,01
15	6,5±0,5	0,77±0,12	1,54±0,12	1,42±0,34	1,05±0,15	0,27± 0,03	0,03±0,01
18	8,0±0,7	0,90±0,15	1,70±0,14	1,95±0,46	1,38±0,24	0,26± 0,02	0,02±0,002
19	8,1±0,7	0,90±0,13	1,72±0,13	1,95±0,26	1,37±0,14	0,26± 0,03	0,02±0,003

Таблиця 3 – Основні показники мікроциркуляції крові у дівчат і хлопців на окремих етапах онтогенезу

Віковий період	**Дівчата**		**Хлопці**	
	ПМ, перф. од.	**СКВ, перф. од.**	**ПМ, перф. од.**	**СКВ, перф. од.**
Пубертатний	7,0±0,6	0,83±0,11	6,7±0,4	0,78±0,11
Постпубертатний	9,1±0,2	1,07±0,23	8,1±0,7	0,90±0,15

Таблиця 4 – Середні параметри різних типів ЛДФ-грам

Параметри		Аперіодична ЛДФ-грама (I тип)	Монотонна високоамплітудна ЛДФ-грама (II тип)	Монотонна низькоамплітудна ЛДФ-грама (III тип)
ПМ, перф. од.		9,4 ± 0,3	18,7 ± 0,9	5,4 ± 0,5
СКВ, перф. од.		1,01 ± 0,12	2,01 ± 0,3	0,55 ± 0,12
ІФМ		1,89 ± 0,23	1,34 ± 0,06	1,42 ± 0,09
VLF	А*, перф. од.	2,79 ± 0,38	1,26 ± 0,24	1,58 ± 0,14
	Внесок**, %	59 ± 2	48 ± 3	57 ± 3
LF	А, перф. од.	1,48 ± 0,16	0,83 ± 0,15	0,85 ± 0,19
	Внесок, %	33 ± 1	31 ± 1	31 ± 2
HF	А, перф. од.	0,24 ± 0,03	0,31 ± 0,07	0,22 ± 0,02
	Внесок, %	6 ± 0,5	11 ± 1	8 ± 1
CF	А, перф. ед.	0,04 ± 0,003	0,24 ± 0,05	0,10 ± 0,004
	Внесок, %	2 ± 0,2	9 ± 0,5	4 ± 0,5

Примітки: * – амплітуда коливань; ** – внесок у спектральну потужність

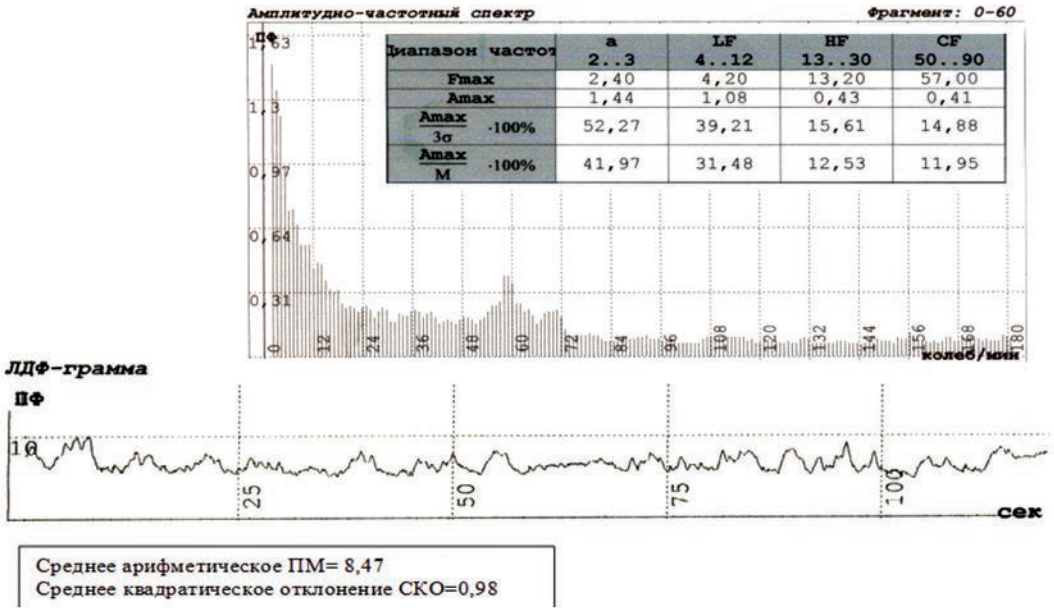


Рис. 1. Аперіодична ЛДФ-грама у досліджуваної дівчини 18-річного віку (I тип)

Таким чином, за характеристиками тканинного кровотоку і збалансованості механізмів активної і пасивної його регуляції аперіодичний тип ЛДФ-грам відповідає нормоемічному типу мікроциркуляції крові.

Такий тип мікроциркуляції крові зустрічався у 55% досліджуваних.

Помітно рідше зустрічався II тип ЛДФ-грам (у 8% випадків) (рис. 2). Досліджувані з монотонними високоамплітудними ЛДФ-грамами відрізнялися максимально високими значеннями ПМ – 18,7±0,9 перф. од. і СКВ – 2,01±0,3 перф. од. Показники інтенсивності тканинного кровотоку і рівень коливання еритроцитів були вищими.

Зберігаються типологічні особливості і серед показників частотно-амплітудного спектра. Як показують результати дослідження, середня величина амплітуди CF-ритму у монотонного високоамплітудного типу ЛДФ-грам значно вища за показник у аперіодичних ЛДФ-грам і монотонно низькоамплітудного типу.

Домінування пасивних механізмів модуляції тканинного кровотоку проявляється через достовірне зростання амплітуди і потужності спектра HF-коливань, зумовлених роботою «дихального насоса». Місцем локалізації дихальних ритмів у системі мікроциркуляції є венули.

Найбільші зміни стосувалися коливань в області кардіоритму, де амплітуда CF-коливань підвищувалася до 0,24±0,05 перф. од. за одночасного зростання величини спектральної потужності до 9±0,5%.

Отже, з урахуванням даних частотно-амплітудного спектра у разі монотонного високоамплітуд-

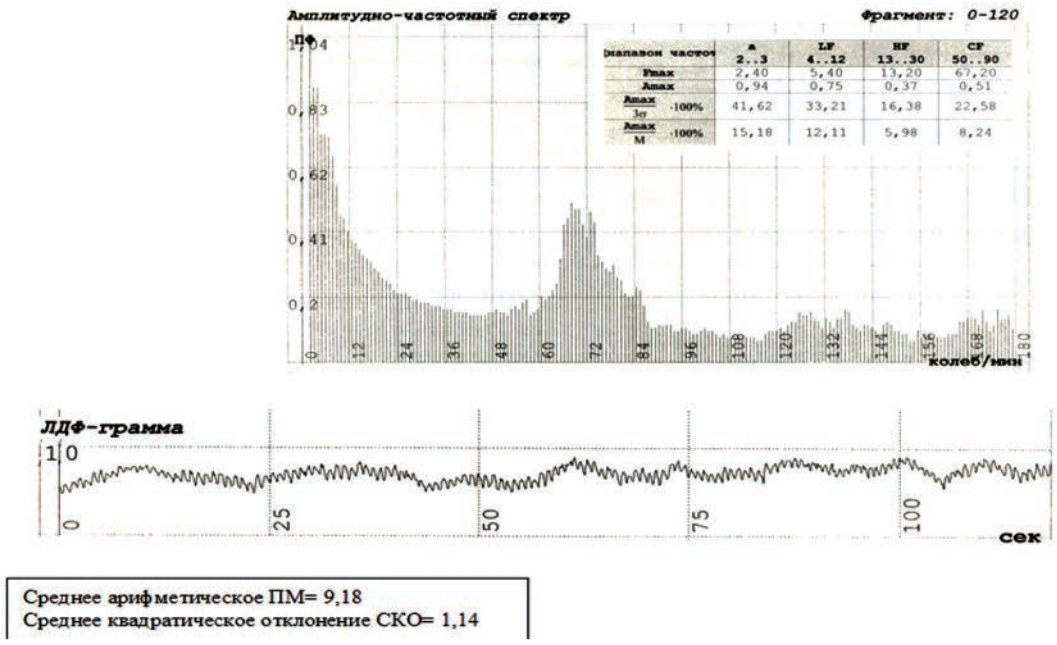


Рис. 2. Монотонна високоамплітудна ЛДФ-грама у юнака 18-річного віку (II тип)

ного типу ЛДФ-грам відбувається не тільки посилення припливу, але і ослаблення відтоку крові з мікроциркуляторного русла, що надалі може ініціювати розвиток застійних процесів.

З огляду на гіперемічний характер мікроциркуляції, а також зниження внеску вазомоторного ритму в модуляцію тканинного кровотоку, монотонні високоамплітудні ЛДФ-грами відповідають гіперемічному типу мікроциркуляції крові.

Третій тип ЛДФ-грам зустрічався приблизно у кожного третього досліджуваного – в 37% випадків (рис. 3). Монотонні низькоамплітудні ЛДФ-грами характеризувалися низькими значеннями ПМ – 5,4±0,5 перф. од. і СКВ – 0,55±0,12 перф. од. Зниження ПМ викликано підвищенням тонусу гладких міоцитів, що регулюють просвіт мікросудин, ланки мікроциркуляторного русла, насамперед прекапілярних артеріол.

Стрімке падіння амплітуди ритмів у низькочастотному спектрі на тлі незмінної величини високочастотних складників призводить до зниження величини ІФМ до 1,42±0,09 ум. од.

Сукупність отриманих параметрів частотно-амплітудного спектра монотонних низькоамплітудних ЛДФ-грам свідчить про формування спрямованості на ослаблення активних у разі одночасного посилення ролі пасивних механізмів у модуляції тканинного кровотоку.

Загалом, монотонний низькоамплітудний тип ЛДФ-грам відповідає гіпоемічному типу мікроциркуляції зі зниженим рівнем перфузії тканин кров'ю і підвищеним тонусом мікросудин, що виникають у результаті підвищення симпатичних нейрогенних впливів на тканинний кровоток.

Результати дослідження вказують на те, що мають місце відмінності за статевою ознакою показників ЛДФ-грам різних типів.

Найменші відмінності між обстеженими особами чоловічої та жіночої статі виявлені для ЛДФ-грам аперіодичного типу. За величиною інтенсивності мікроциркуляції і рівнем коливання потоку еритроцитів жіночий організм поступається чоловічому. Так, у дівчат з I типом ЛДФ-грам величина показника ПМ дорівнювала 8,3±0,8 перф. од., а СКВ – 0,95±0,09 перф. од., що на 3% і 15% відповідно менше порівняно з юнаками.

У групі осіб з монотонними низькоамплітудними ЛДФ-грамами відмінності за вивченими показниками посилюються. Дівчата випереджають юнаків за величиною інтенсивності кровотоку на 21%, а за рівнем флаксмоцій – на 11%. У досліджуваних осіб чоловічої статі з монотонними високоамплітудними ЛДФ-грамами величина ПМ на 10%, а СКВ на 14% більше порівняно з показниками у представниць жіночої статі.

У представників з аперіодичним типом ЛДФ-грам з віком підвищується величина інтенсивності кровотоку і рівень його мінливості. Так, у підлітковому віці рівень інтенсивності мікроциркуляції крові знижувався до 6,7±0,4 перф. од., що на 27,2% нижче середньогрупових значень у юнацькому віці (9,2±0,2 перф. од.) (таблиця 5).

Отже, у досліджуваних осіб з аперіодичним типом ЛДФ-грам у процесі росту і розвитку організму підвищується внесок активних механізмів

модуляції тканинного кровотоку. Одночасно відбувається підвищення амплітуди респіраторних коливань. Зниження активності міогенного контуру регуляції призводить до збільшення об'єму крові у венулярній ланці і погіршення його відтоку. За принципом зворотного зв'язку ця обставина призводить до посилення дії «дихального насоса» і зростанню амплітуди HF-хвиль.

У підлітків показники спектральної потужності змінюються: з одного боку, за рахунок зниження частки дуже низькочастотних (VLF) і низькочастотних (LF) коливань, а з іншого – підвищення спектральної потужності високочастотних (HF) і коливань в області кардіоритму (CF). Загалом, до юнацького віку формується дефінітивний рівень співвідношення активних і пасивних механізмів з домінуванням активної компоненти модуляції тканинного кровотоку.

У обстежених осіб з монотонними низькоамплітудними ЛДФ-грамами показник параметру мікроциркуляції крові був вищим у досліджуваних постпубертатного віку (6,6±0,3 перф. од.), показник рівня флаксмоцій (ІФМ) підвищувався у групі підлітків (3,01±0,24), а величина СКВ істотно не змінювалася у двох вікових періодах (таблиця 6).

Монотонний високоамплітудний тип ЛДФ-грам зустрічався в юнацькому віці, за винятком поодиноких випадків серед осіб пубертатного віку, що ускладнює можливість порівняння параметрів ЛДФ-метрії цих двох вікових періодів.

Розподіл різних типів ЛДФ-грам на різних етапах постнатального онтогенезу показав, що серед дівчат-підлітків аперіодичний тип реєструвався у 42%, а монотонний низькоамплітудний – у 55%, 3% обстежених дівчат мали монотонний високоамплітудний тип ЛДФ-грам. Для хлопчиків-підлітків у 42% випадків характерний аперіодичний тип і в 56% – монотонний низькоамплітудний. У 2% підлітків зустрічався монотонний високоамплітудний тип ЛДФ-грам.

У постпубертатному віці частота вияву ЛДФ-грам аперіодичного типу зберігається на досить високому рівні і становить 55% для дівчат і 54% для юнаків. У дівчат 18–19-річного віку рідше (38%) зустрічаються монотонні низькоамплітудні ЛДФ-грами і одночасно зростає до 7% число

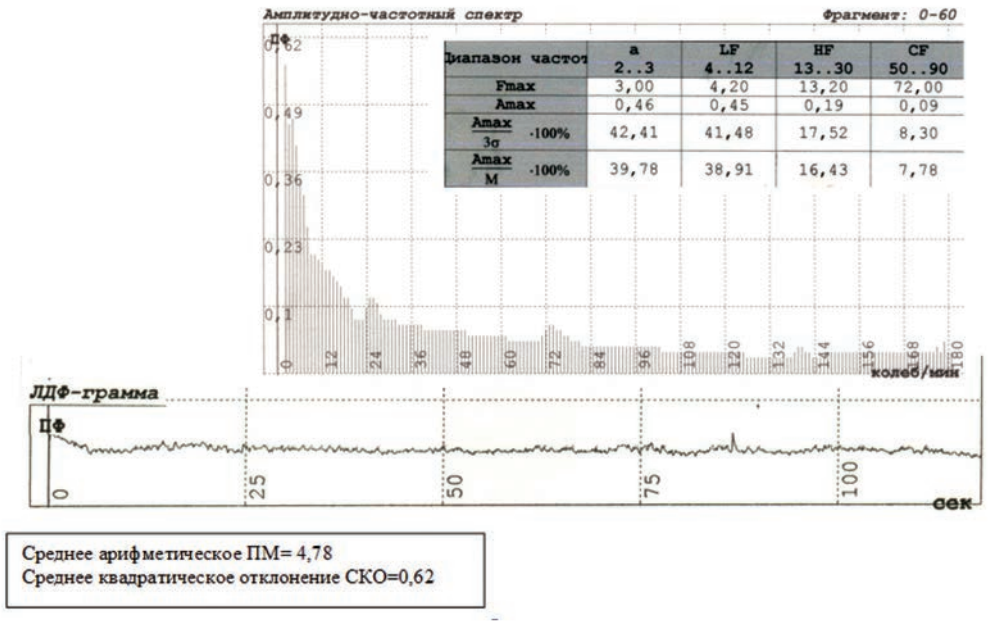


Рис. 3. Монотонна низькоамплітудна ЛДФ-грама у хлопчика 15-річного віку (III тип)

Таблиця 5 – Вікова динаміка параметрів тканинного кровотоку у досліджуваних з аперіодичним типом ЛДФ-грам

Параметри тканинного кровотоку	Пубертатний вік	Постпубертатний вік
ПМ, перф. од.	6,7±0,4	9,2±0,2
СКВ, перф. од.	1,1±0,23	0,98±0,12
ІФМ ум. од.	4,47±0,37	5,39±0,42

Таблиця 6 – Вікова динаміка параметрів у досліджуваних з монотонним низькоамплітудним типом ЛДФ-грам

Параметри	Пубертатний вік	Постпубертатний вік
ПМ, перф. од.	6,2±0,4	6,6±0,3
СКВ, перф. од.	0,68±0,14	0,71±0,05
ІФМ ум. од.	3,01±0,24	2,27±0,27

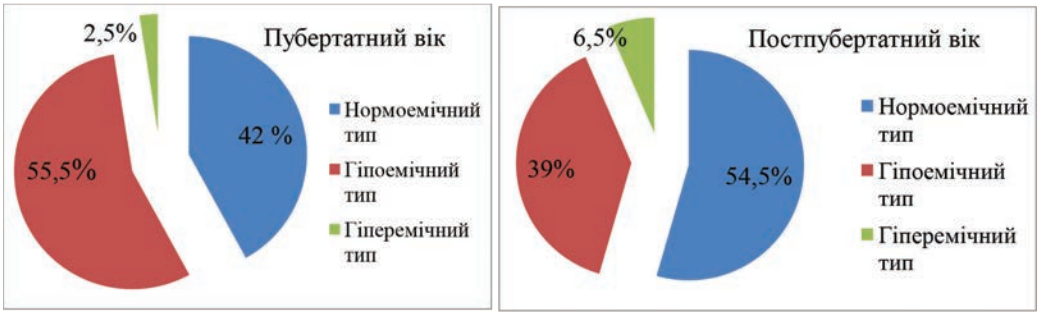


Рис. 4. Розподіл типів мікроциркуляції крові у пубертатний та постпубертатний періоди онтогенезу (%)

досліджуваних з монотонним високоамплітудним типом. У групі юнаків 18–19-річного віку монотонний низькоамплітудний тип реєструвався в 40%, а монотонний високоамплітудний – у 6% випадків від усієї вибірки.

Отримані нами дані вказують на те, що частота співвідношення різних мікроциркуляторних типів приблизно однакова у осіб жіночої та чоловічої статей і безпосередньо залежить від їхнього віку (рис. 4).

Обговорення

Таким чином, як показали результати дослідження, показники мікроциркуляції крові плавно підвищуються починаючи з 15-річного віку з досягненням максимальної величини у 19 років. Також у досліджуваних осіб зберігається гетерохронність по величинах показників мікроциркуляції крові. Так, в одному віковому періоді вищі показники спостерігалися у досліджуваних дівчат, а в іншому – в юнаків. Це відповідає віковій закономірності гетерохронного дозрівання чоловічого і жіночого організму в онтогенезі, в тому числі і системи мікроциркуляції крові.

Всесвітня практика дослідження кровообігу будується на основі вивчення показників мікроциркуляції крові у разі патологічних процесів у клініці. Тому що будь-яка зміна в організмі веде до порушення траскапілярного обміну.

Серед українських науковців досить поширені дослідження мікроциркуляції крові у разі патологій: у хворих на облітеруючий атеросклероз судин нижніх кінцівок (О. А. Тютюннік, 2007), розладів у печінковому кровоносному руслі (Є. І. Шоріков, 2000; С. В. Швець, 2001; А. Р. Сапожніков, 2002), у хворих на нестабільну стенокардію (Н. М. Сидорова, 2003), на гіпертонічну хворобу (В. П. Чижова, 2005; Л. О. Павленко, 2010) та ін.

Індивідуально-типологічні особливості мікроциркуляції крові у здорових людей у процесі онтогенезу вивчаються В. І. Козловим[1, 5, 11], Ф. Б. Литвином[4], О. А. Гуровою [3], В. В. Сидоровим [13] та іншими. В їхніх роботах фундаментально викладені індивідуально-типологічні особливості мікроциркуляції у дітей, підлітків і юнаків, функціональна перебудова мікроциркуляторного русла в процесі онтогенезу, особливості резерву капілярного кровотоку у разі проведення різних функціональних проб у спортсменів[12, 13].

Незважаючи на великий інтерес і актуальність вивчення гемодинамічних процесів, натепер питання про особливості мікроциркуляції крові у здорових людей не розкривається настільки широко, як у клінічних діагностиках[8, 14]. Натепер відсутні нормативні показники параметрів тканинного кровотоку у здорових людей у разі використання методу ЛДФ. Тому метою нашої роботи було визначення особливостей мікроциркуляції крові у молодих людей на різних етапах онтогенезу.

Висновки

В осіб чоловічої та жіночої статей на вивченому етапі онтогенезу зберігається гетерохронність за величинами параметрів мікроциркуляції крові та середнього квадратичного відхилення тканинного кровотоку, коли на одному віковому відрізку вищі показники у досліджуваних жіночої статі, а на іншому – в осіб чоловічої статі. Середні величини показників мікроциркуляції крові у хлопців та дівчат одного віку істотно не відрізнялися.

В обстежених пубертатного та постпубертатного віку обох статей виявлено три типи мікроциркуляції. Аперіодична ЛДФ-грама відповідала нормоемічному типу мікроциркуляції крові, що характеризується збалансованістю механізмів вазомоторної, метаболічної та нейрогенної регуляції мікроциркуляції за частотою і амплітудою. Для синусоїдальної ЛДФ-грами, що відповідає гіпоемічному типу мікроциркуляції крові, характерний низький показник параметру мікроциркуляції, зумовлений зниженням вазомоторних механізмів у регуляції. Монотонна ЛДФ-грама гіперемічного типу характеризувалася високим параметром мікроциркуляції, переважанням пасивних механізмів, дихальних і серцевих ритмів у регуляції мікроциркуляції.

Отримані дані про морфо-функціональні закономірності перетворення системи мікроциркуляції

крові на етапах статевого дозрівання організму мають принципове значення для розуміння механізмів онтогенезу і роблять істотний внесок у фундаментальні біологічні знання. Обґрунтовані в результаті дослідження вікові нормативні показники стану мікроциркуляції крові у підлітків і досліджуваних юнацького віку суттєво полегшують виявлення функціональних станів їхнього організму з використанням сучасних неінвазивних методів діагностики. Описані механізми активних і пасивних модуляцій тканинного кровотоку, що супроводжуються дисбалансом активності симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи і можуть стати фізіологічним обґрунтуванням застосування методу ЛДФ-метрії у діагностиці розладів системи мікроциркуляції крові.

Література

(1) Козлов, В. И. ***Р**азвитие **с**истемы **м**икроциркуляции*; РУДН: Москва, **2012**; 314 с.

(2) Тихомирова, И. А.; Бабошина, Н. В.; Терехин, С. С. Возможности метода лазерной допплеровской флуометрии в оценке возрастных особенностей функционирования системы микроциркуляции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* **2018**; № *17*(3), с. 80–86. DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-80-86.

(3) Гурова, О. А. Индивидуально-типологические особенности микроциркуляции крови у детей. *Новые исследования.* **2014**; *№ 2(39),* с. 15–23.

(4) Литвин, Ф. Б. Возрастные и индивидуально-типологические особенности микроциркуляции у мальчиков-подростков и юношей. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* **2006**; *Т. 5*, с. 44–50.

(5) Козлов, В. И.; Азизов, Г. А. ***Л**азерная **д**опплеровская **ф**лоуметрия в **о**ценке **с**остояния и **р**асстройств **м**икроциркуляции **к**рови*; РУДН ГНЦ лазер. мед.: Москва, **2012**; 32 с.

(6) Крупаткин, А. И.; Сидоров, В. В. ***Л**азерная **д**опплеровская **ф**лоуметрия **м**икроциркуляции **к**рови*; Изд-во «Медицина»: Москва, **2005**; 254 с.

(7) Крупаткин, А. И.; Сидоров, В. В. ***Ф**ункциональная **д**иагностика **с**остояния **м**икроциркуляторно-тканевых **с**истем: **к**олебания, **и**нформация, **н**елинейность*; Книжный дом «ЛИБРОКОМ»: Москва, **2013**; 496 с.

(8) Станішевська, Т. І.; Горна, О. І.; Горбань, Д. Д. Суточная динамика показателей микроциркуляции крови у девушек-студенток. *Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту.* **2015**; *№ 6*, с. 23–29. DOI: http://doi.org/10.15561/18189172.2015.0604.

(9) Lenasi, H. Assessment of Human Skin Microcirculation and Its Endothelial Function Using Laser Doppler Flowmetry. *Science, Technology and Medicine open access content.* **2011**; *13*, 271–296. DOI: http://doi.org/10.5772/27067.

(10) Osadchyi, V. V.; Stanishevska, T. I.; Gorna, O. I. Method of using laser doppler flowmetry in assessment of the state of blood microcirculation system. *Optical Fibers and Their Applications.* **2020**; *V. 11456.* DOI: ttps://doi.org/10.1117/12.2569778.

(11) Kozlov, I. O.; Zherebtsov, E. A.; Zherebtsova, A. I.; Dunaev, A. V. The analysis of processing algorithms of laser Doppler signal in LabVIEW software. *Symposium Proceedings of 2nd International Scientific Symposium "Sense. Enable. SPITSE".* **2015**; 225–227.

(12) Lesnyh, A. W.; Shimko, E. A. Measuring of Microcirculation Blood Flow in Capillaries with a Laser-Doppler Flowmetry. *Izvestiya of Altai State University.* **2017**; *1* (93), 15–18. DOI: http://doi.org/10.14258/izvasu(2017)1-024.

(13) Dunaev, A.; Sidorov, V.; Stewart, N.; Sokolovski, S.; Rafailov, E. Laser reflectance oximetry and Doppler flowmetry in assessment of complex physiological parameters of cutaneous blood microcirculation. *Progress in Biomedical Optics of SPIE.* **2013**; *8572*, 27–32. DOI: http://doi.org/10.1117/12.2001797.

(14) Станішевська, Т. І.; Горбань, Д. Д.; Денисенко, В. І. Залежність типу мікроциркуляції крові від типу вищої нервової діяльності в студентів. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки.* **2016**; *№ 1*, с. 102–109.

РОЗДІЛ ІІ. ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

УДК 581.196.143.6
DOI https://doi.org/10.26661/2410-0943-2020-1-08

Токсичність іонів важких металів як показник чутливості і стійкості рослин до абіотичних стресів: огляд

Сергєєва Л. Є., Хоменко Л. О., Броннікова Л. І.
Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Україна
Zlenko_lora@ukr.net

Ключові слова: *іони Cd^{2+} і Ba^{2+}, засолення, водний стрес, клітинна селекція, комплексна стійкість.*

Іони важких металів (ІВМ) знаходяться серед найбільш токсичних ксенобіотиків, котрі спричиняють як загальні, так і специфічні ураження організмів. Особливо це стосується елементів, токсичних у залишкових кількостях. Одні з таких ІВМ є предметом різнобічного вивчення (іони Cd^{2+}), водночас інші викликають зацікавлення завдяки своїм особливим характеристикам (іони Ba^{2+}). Часто дія ІВМ підсилюється впливом природних абіотичних факторів. Зроблено огляд загальних аспектів патологічної дії ІВМ. Розглядається використання іонних, протеомних, метаболічних складників; підкреслюється роль їхніх взаємозв'язків для встановлення генетичних детермінант стійкості. Звертається увага на спільні прояви адаптації до ІВМ та осмотичних стресів – засолення та водного дефіциту. Розглянуто токсичну дію іонів Cd^{2+} і Ba^{2+}. Пропонується ідея використання іонів Cd^{2+} і Ba^{2+} у клітинній селекції для виділення форм, стійких до водного та сольового стресів. Наведено приклади отримання клітинних ліній рослин із застосуванням летальних для клітинних культур доз іонів. Варіанти відзначались комплексною стійкістю як до іонів селекції, так і до осмотичних стресів. Життєдіяльність за стресових умов контролювалась змінами метаболому та протеому і проявлялась у збільшенні клітинної маси, збереженні водного статусу, акумуляції вільного проліну, цукрів. При цьому параметри стійкості не втрачались зі збільшенням строку вирощування, а також зберігались у разі зміни умов культивування. Водночас метаболічні показники змінювались у відповідності до змін умов культивування. Такі характеристики, а також їхня хронологія можуть свідчити на користь існування перехресних сигнальних шляхів, котрі поєднують реакції стійкості до ІВМ і осмотичних стресів. Рослини, регенеровані із таких клітинних ліній, відзначались підвищеним рівнем осмостійкості. Нетрадиційний погляд на проблему розширює рамки традиційних підходів у разі створення вихідного матеріалу.

The toxicity of heavy metal ions is a marker of plant sensitiveness and resistance to abiotic stresses: a review

Sergeeva L. E., Khomenko L. A., Bronnikova L. I.
Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine

Key words: *Cd^{2+}, Ba^{2+} ions, salinity, water stress, cell selection, combined tolerance.*

Heavy-metal ions (HMI) provoke vast common and special pathological alterations in plants. The most hazardous are HMI toxic at trace concentrations. Cd^{2+} and Ba^{2+}ions are among them. But usually HMI act together with abiotic stresses and their joint pressure is more dangerous. From the other hand, the tolerance to HMI and abiotic stresses may be combined. The organism maintenance and development under stress pressure are based mainly on the cellular properties. The comparison between the cellular mechanisms stress sensitiveness/tolerance to abiotic stresses are made. The toxic effects of HMI (Cd^{2+}, Ba^{2+}) are revealed. There were detected that Ba^{2+} ions destroy K^+ fluxes in the cells and Cd^{2+} cations affect the water status of the organism. Osmotic stresses make those damages. Cell selection with $Cd^{2+}$and Ba^{2+} is proposed as a new strategy for obtaining forms with higher tolerance to osmotic stresses. This method is the appropriate biotechnology to pick variants with particular features. Simulating systems with lethal to wild type cell cultures doses of Ba^{2+} or Cd^{2+} cations were elaborated and ion-resistant colonies of various plants were obtained. The frequency of the appearance was 10^{-6}. Resistant cell variants were exposed the stresses: salinity, water deficit, ion stresses. They maintained their viability under any stress pressure; their improved features were depended on changes in metabolism and accumulation of protective solutions, such as free proline and sugars. Recent publications characterize metabolites, transcription factors and stress-inducible proteins as parameters of stress tolerance. In general, abiotic stress tolerance is genetically polygenic process that involved various components of signalling pathways multigenic in nature. Plant resistance mechanisms to HMI are also complicated. So, the further research requires improve HMI tolerance as well as tolerance to other abiotic stresses.

Вступ

Серед найбільш токсичних ксенобіотиків, котрі спричиняють як загальні, так і специфічні ураження живих організмів, є іони важких металів (ІВМ). Системний вплив ІВМ з часом посилюється, оскільки вони можуть суттєво знижувати природну стійкість біооб'єктів до біотичних та абіотичних стресорів довкілля.

Важкі метали – це елементи, густина яких перевищує 5 г/см^3. У межах групи розрізняють дві категорії, а саме: фізіологічно актуальні іони, шкодочинні у надлишкових кількостях і токсичні у залишкових кількостях[1]. До другої категорії належать катіони Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Ba^{2+}, а також аніони деяких металів. Одні з ІВМ є предметом різнобічного вивчення, водночас інші викликають зацікавлення завдяки своїм особливим характеристикам[2–4]. Тому надзвичайно важливе встановлення взаємодії у клітинах регуляторних механізмів усіх рівнів, котрі мають стосунки до реакцій на дію ІВМ. Крім досконального дослідження послідовностей і функціонування регуляторних генів, таких як транскрипційні фактори, варто критично оцінювати специфічну та загальну експресії контрольних механізмів відповідей рослин з боку протеому, метаболому, іоному. Численні факти відображають зміни, провоковані абіотичними стресами[5–8]. Всі вони свідчать на користь участі значної кількості генів, а також перед- і пост-транскрипційних і/або трансляційних факторів і процесів у протіканні реакцій рослин, спрямованих на подолання зовнішнього пресингу. Тому деякі автори наполягають на використанні поняття усебічної «(global) регуляції генома»[9]. Під цим кутом зору викликає зацікавлення порівняння чутливості/стійкості рослин до ІВМ та інших абіотичних стресів – осмотичних, температурних тощо.

Токсичність ІВМ; клітинні реакції чутливості/стійкості

Негативна дія ІВМ проявляється від моменту потрапляння в рослину до моменту виділення/секвестрування. При цьому точкою зміни концентрації ІВМ у ґрунтах вважають природний вміст кларків[10]. Після поглинання ІВМ діють на всіх рівнях, починаючи від субклітинного, завершуючи цілісним організмом. Так, катіони Cd^{2+} і Zn^{2+} у концентраціях, що переважають 250 мкМ, суттєво знижували синтез ДНК[11]. Водночас іони Cd^{2+} у

концентрації 50,0 мкМ стимулювали синтез РНК. Так, спостерігали, що рівень мРНК АТФ-сульфурилази за 24 години дії ІВМ підвищився майже у три рази[12]. У рослинах, які витримували на постійно зростаючих концентраціях Cd^{2+}, кількість мРНК збільшувалась лінійно. Аналогічна подія проходила за дії іонів Cu^{2+}, Zn^{2+}, Hg^{2+}, Pb^{2+}. Хоча рівень нуклеїнової кислоти зростав, власна активність ферменту АТФ-сульфурилази пригнічувалась Cd^{2+}.

Серед порушень клітинного рівня відзначаються зміни редокс потенціалу. Взаємодіючи з цитоплазматичною мембраною, ІВМ активізують перекисне окиснення ліпідів. Пероксидування поліненасичених жирних кислот на мембрані призводило до її ушкодження та клітинної декомпартментації[13–17]. У відповідь на окислювальний стрес зростала активність каталази, пероксидази, СОД. Так, обробка проростків цукрової тростини 2,0мМ $CdCl_2$ викликала появу семи ізоферментних форм Cu/Zn-СОД[3, 15]. Дослідники вважають, що активація пероксидного окиснення ліпідів є загальною метаболічною ланкою реакції рослини на стрес, а взаємодія ІВМ – мембрана є первинним сайтом атаки[3, 15].

Токсичний вплив ІВМ зростає по мірі їх потрапляння в клітину. Розрізняють два різновиди впливу ІВМ на поглинання. Перший зумовлений близькістю розмірів іонних радіусів ІВМ і визначається фізико-хімічними причинами. Так, Cd^{2+} (1,03 Å) знижує поглинання Zn^{2+}(0,83 Å) та Ca^{2+}(1,06 Å). Паралельно із цим феноменом на поглинання ІВМ може впливати взаємний антагонізм іонів. Іони лужних і лужно-земельних металів за ступенем гальмівного впливу на поглинання Cd^{2+} розміщуються у такому порядку: $Na^+ < K^+ < Mg^{2+} < Ca^{2+}$ [18]. Іони Zn^{2+} та Cu^{2+} і навіть елементи однієї групи можуть бути антагоністами поглинання Cd^{2+}[19]. Другий пов'язаний із викликаним ІВМ порушенням метаболізму клітин, внаслідок якого відбувається перебудова мембран[20]. Так, Л. Кендересова зі співавторами (2012) вивчали вплив ІВМ на мембрани трьох різних за стійкістю до стресів, викликаних ІВМ, видів арабідопсису. Було встановлено, що стійкі генотипи характеризувались меншою деполяризацією мембран порівняно з чутливим[21].

Конкуренція/антагонізм між ІВМ проявляється не тільки у разі внесення іонів, а також у разі їх переміщення в клітині та евакуації.

Відомо, що головний негативний ефект іону Ba^{2+} на рослини полягає у його взаємодії з фізіологічно необхідними іонами K^+[22-24]. Так, додавання лише 1,0 мМ Ba^{2+} знижувало інтенсивність потоків K^+ на 30%[22]. Цей катіон впливав на експресію гена *AtHAK1* – високо афінного транспортера K^+. Із використанням лінії арабідопсису, котра мала інсерцію в тДНК, було показано, що цей ген опосередковує Ba-чуттєвий компонент поглинання K^+[23]. Також було з'ясовано, що катіон Ba^{2+} впливає на поглинання Na^+. У галофіта *Suaeda maritima* був відкритий Ba-залежний шлях поглинання Na^+, який відкривався за умов високого засолення (150,0мМ NaCl). Було доведено, що він опосередковується каналом типу АКТ1. Присутність іонів Ba^{2+} зменшувало поглинання Na^+ і втрату K^+[24].

Перебудова компартментів клітин координується із порушенням ланок загального метаболізму. Під дією іонів Ni^{2+} вміст розчинного азоту та білка у деяких видів рослин знижувався, а рівень відновлених цукрів і крохмалю, навпаки, зростав[25, 26]. ІВМ негативно діють на фотосинтез, склад пігментів, структуру тилакоїдів[27]. Загальним проявом є зменшення вмісту ксантофілів, хлорофілу, причому рівень хлорофілу *b* знижується більше ніж хлорофілу *a*. Л. Лі зі співавторами (2012) повідомляли про зменшення квантового викиду ФС II, що є проявом пригнічення фотосинтезу[28]. За силою стресового тиску на метаболізм азоту та білків ІВМ ранжуються таким чином: Cd > Pb > Ni > Mo[29, 30].

Масштаб стресового ураження проявляється в інтегральних показниках: рості, морфогенезі, продуктивності[31]. Вразливими є всі стадії розвитку, хоча найстійкішими до шкодочинної дії ІВМ є насіння та проростки, оскільки останні на початку онтогенезу здебільшого розвиваються за рахунок вмісту ендосперму. Наприклад, схожість насіння *Vigna ambacensis*, яке пророщували на розчинах солей кадмію, ртуті, свинцю (концентрація 0,05–50,0 мМ), знижувалась навіть за найнижчої концентрації. У присутності 50,0 мМ будь-якого стресового чинника насіння не проростало взагалі[32]. Однак і цьому разі чутливість до ІВМ була генотипово залежною.

Дія ІВМ вивчається у системі *in vitro.* У дослідженнях клітинних культур прослідковується аналогія до дії стресора на цілісний організм. Для деяких генотипів визначено феномен чутливості клітинної культури як такої. Так, калюс, отриманий із різних тканин рослини *Sesbania rostrata*, характеризувався різними ступенями стійкості до іонів Pb^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}. Стійкість культури, індукованої з листків, становила 1/8–1/4 показників, отриманих для культури кореневого походження[33]. Дослідження дії іонів Cd^{2+} на суспензійну культуру клітин дурману показала, що за концентрації чинника 12,5 мкМ виживала одна (!) клітина із 10^5[, 34]. Концентрація 100,0 мкМ була летальною для клітин тютюну[35]. Отримано дані, котрі вказують на обернені, залежні від дози токсиканта, реакції рослин. Так, культивування суспензійної культури тютюну у присутності іонів Cd^{2+} показало ріст-стимулюючий ефект

0,1 мМ розчину $CdCl_2$ та пригнічуючий – 0,2 мМ такого розчину[36].

У загальному випадку дослідження культури клітин *in vitro* за різних умов культивування є, на нашу думку, доцільною (обов'язковою) процедурою, оскільки надає особливу інформацію[37].

Порівняльна дія ІВМ і абіотичних стресів

У низці випадків реакції рослин на вплив ІВМ аналогічні реакціям на інші абіотичні стреси, зокрема водний і сольовий[38–41]. Так, вивчаючи дію іонів Cd^{2+} і Hg^{2+} на корінці ячменю Л. Тамас зі співавторами (2010) відмічали подібність між ранніми сигналами токсичності Cd^{2+} та сигналами водного дефіциту[42]. Встановлено також, що сприйняття та трансдукція сигналів оксидативного стресу аналогічна цим подіям у разі впливу ІВМ[43].

Так, катіони Ba^{2+} порушують переміщення іонів K^+ та впливають на транспорт Na^+ [22–24]. Водночас патологічною дією засолення є порушення гомеостазу K^+/ Na^+. Катіони Cd^{2+} негативно діють на водний статус рослини.

Зокрема, це стосується LEA (***l**ate **e**mbryogenesis **a**bundant proteins*), білків, які належать до групи дегідринів. Ця категорія протеїнів знайдена в ядрі, цитоплазмі, мітохондріях. Подібно до шаперонів LEA можуть попереджати денатурацію внутрішньоклітинних сполук у разі зневоднення[44– 46]. Водночас встановлено, що іони Cd^{2+} спричиняють шкодочинний вплив на LEA[46].

Різноманітні стресори викликають експресію низки генів у рослині[47]. Особливо це стосується транскрипційних факторів (ТФ). Дослідження показали, що один ТФ може контролювати експресію багатьох генів-мішеней за рахунок специфічного зв'язування ТФ із *цис*-діючим елементом у промоторах його генів-мішеней[47]. Чисельні сімейства ТФ, такі як: AREB/ABF, MYB, EREB, bZIP, MYC, $DREB_1$/CBF, ARiD, C_2C_2-CO-like, C_2C_2-Gala і т.д., здійснюють вплив на стрес-індуковані реакції рослин[48]. ІВМ ініціюють ТФ, а з їхньою участю регулюють відповідні процеси.

З огляду на все вищезазначене закономірна ідея поєднання стійкості до ІВМ і абіотичних стресів (комплексної стійкості).

У загальному випадку подія появи генетично зміненої форми рослини, пов'язаної з ІВМ, не виняткова. Так, встановлено, що ознака стійкості пшениці до іонів, чутливість до іонів Cd^{2+} визначена як рецесивна, контрольована одним геном[49–51]. Підвищену чутливість пояснюють дефіцитом фітохелатинів, які відіграють суттєву роль у детоксикації ІВМ. Л. Пена зі співавторами (2012) досліджували токсичність Cd^{2+} на клітинний цикл у пшениці. Було встановлено, що розвиток G_1/S фази та перехід через S фазу зумовлюється рівнем пост-трансляційної модифікації циклін-залежної кінази (CDK). Автори вважають цей факт суттєвим для розвитку стійкості[52]. Повідомлялось про стабілізацію фотосинтезу у трансгенних рослин соняшнику з інтегрованим трансгеном, що частково репресував ендогенний ген проліндегідрогенази. Автори пов'язують цю подію із процесом метаболізму проліну[37].

Останнім часом наукові пошуки узагальнюються за ключовими окремими спрямуваннями, так званими "omics"-tools. Це – транскриптоміка, метаболоміка, іономіка, протеоміка[53, 54]. Так, метаболоміка охоплює ключові ланки метаболізму в динаміці. У рамках іономіки та протеоміки досліджуються та фіксуються зміни неорганічних компартментів і протеома. Транскриптоміка об'єднує фенотипові реакції та вказує на можливі їх причини. Отримані узагальнені дані будуть сприяти поглибленню поняття загальної стрес-стійкості.

Клітинна селекція з ІВМ для отримання рослинних форм із підвищеним рівнем осмостійкості

Системний підхід дозволив суттєво переосмислити традиційні ідеології та модифікувати відпрацьовані методології. Так, запропоновано використання ІВМ у клітинній селекції для отримання стійких до осмотичних стресів форм рослин[55–57]. Такий метод спрямований на виділення виключно клітинних реакцій чутливості/стійкості. Зміна характеру метаболізму (іоному, протеому) в ту чи іншу сторону може виявити динаміку активної адаптації.

В експериментах були створені селективні системи із додаванням летальних для клітинних культур дикого типу доз катіонів Ba^{2+} і Cd^{2+}. Із частотою 10^{-6} були отримані стійкі до ІВМ клітинні лінії тютюну, сої, соняшнику, пшениці. Після ряду пасажувань у присутності іонів-стресорів, а також за умов чергування стрес – нормальні умови стійкі клітинні варіанти переносили в умови летальних осмотичних стресів (засолення, водний дефіцит). Усі отримані тестовані варіанти відзначались стійкістю до альтернативних стресів. Життєдіяльність за стресових умов контролювалась змінами метаболому та протеому і проявлялась у збільшенні клітинної маси, збереженні водного статусу, акумуляції вільного проліну, цукрів[55]. Ротація умов культивування не впливала на розвиток культур (не зменшувала рівня стійкості). Водночас метаболічні характеристики змінювались у відповідності до змін умов культивування. Рослини, регенеровані із таких клітинних ліній, відзначались підвищеним рівнем осмостійкості[57]. Такі характеристики нових форм можуть свідчити на користь існування сигнальних шляхів, котрі поєднують реакції стійкості до ІВМ і осмотичних стресів.

Нині проблема комплексної стійкості рослин до абіотичних стресів потребує детального вивчення. Однак можна зробити низку висновків.

По-перше, деякі особливості ІВМ і реакції на них з боку рослин мають бути враховані у разі встановлення показників стійкості до абіотичних стресів. По-друге, процес моніторингу має здійснюватись на всіх етапах взаємодії стрес/об'єкт. По-третє, отримана інформація внесе додаткову користь у разі створення алгоритмів селекції на стійкість. Катіони барію (Ba^{2+}) і кадмію (Cd^{2+}) є перспективними новими складниками протоколів відбору.

На відміну від біотичного стресу, який контролюється моногенною ознакою, толерантність до абіотичних стресів є генетично складною характеристикою (динамічним процесом). Вона включає у себе чисельні компоненти сигнальних ланцюгів, мультигенних за своєю природою. При цьому зв'язки між окремими ланками можуть бути і прямими, і зворотними, і перехресними. Сімейства ТФ, диференційна експресія індукованих стресом генів забезпечує стабільність життєдіяльності у разі зміни умов культивування[58]. Адаптація до конкретної ситуації проявляється у спеціалізації метаболізму: синтезі/акумуляції протекторних сполук різного складу.

Пропонуючи ідею застосування ІВМ у клітинній селекції для отримання форм із комплексною стрес-стійкістю, крім генетичної регуляції, слід враховувати епігенетичні аспекти стійкості як такої. Особливо у зв'язку із регенерацією рослин, які б відзначались підвищеним рівнем стійкості до абіотичних факторів. Так, відзначалось, що органогенез соняшнику координується як з генетичними програмами, так і з епігенетичними подіями[59].

Методології отримання рослин із застосуванням ІВМ мають бути пов'язані із дослідженнями експресії гена(ів), продукту(ів), які беруть участь у сигнальних шляхах або синтезі функціональних чи структурних білків і метаболітів[60, 61]. Планування перспективних досліджень, які базуються на системному підході із використанням транскриптоміки, метаболоміки, протеоміки і т.д., є гарантованою стратегією покращення стійкості рослин до ІВМ та інших абіотичних стресів.

Завдання отримання форм, стійких до абіотичних стресів, із застосуванням ІВМ стає окресленим за умов реалізації ланцюга:

Запропонований у представленому огляді алгоритм успішно використаний. У такий спосіб отримано стійкі до летальних сольового та водного стресів клітинні лінії та регенеранти рослин.

Література

(1) Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, 51, 730–750.

(2) He Bing, Yang Xiao-e, Ni Wu-Zhong, Wei-You Zhang, Ye Hai-bo. Pb uptake, accumulation subcellular distribution in a Pb-accumulating ecotype of *Sedum alfredii* (Hance). *J. Zhejiang Univ. Sci.* **2003**, 4, 474–479.

(3) Gabbrielli R., Gori P., Scala NNi toxicity on carnation (*Dyanthus cariophyllus* L. cv. *Corrida*) cell cultures. Selection Ni tolerant lines and effect of Ca and Mg. *Plant Sci*. **1995**, 104, 225–230.

(4) Yong P., Macaskie L.E. Bioaccumulation of lanthanum, uranium and thorium and use of model system to develop a method for the biologically-mediated removal of plutonium from solution. *J. Chem. Technol. Biotechnol*. **1998**, 71, 15–18.

(5) Rizvi A., Ahmed B., A. Zaidi A., Khan M.S. Heavy metal mediated phytotoxic impact on winter wheat: oxidative stress and microbial management of toxicity by Bacillus subtilis BM2, *RSC Adv*., **2019**, 9, 6125–6142. RSC.

(6) Munir M., Khan Z.I., Ahmad K., Wajid K., Bashir H., Malik I.S., Nadeem M., Ashfaq A., Ugulu I. Transfer of heavy metals from different sources of fertilizers in wheat variety (Galaxy-13), *Asian J. Biol. Sci*. **2019**, 12, 832–841. CrossRef CAS.

(7) Bhalerao S.A., Sharma A.S. Toxicity of nickel in plants *Indian J. Pure Appl. Biosci*., **2015**, 3, 345–355. Search PubMed.

(8) Rizvi A., Zaidi A., Ameen F., Alumed B., AlKaftani M.D.F. Sadhir Khan M. Heavy metal induced stress on wheat: phytotoxicity and microbiological management. *RSC Adv*. **2020**, 10. 38379-38403. DOI: 10.1039/D0RA05610C.

(9) Arnholdt-Shmitt B. Stress-induced cell reprogramming. A role for global genome regulation. *Plant Physiol*. **2004**, 136, 2579–2586.
(10) Алексеев Ю.В. Тяжёлые металлы в почвах и растении. Ленинград: Агропромиздат **1987**, 141 с.
(11) Hirt H., Casari G., Barta A. Cadmium-enhanced gene expression in suspension-culture cells of tobacco. *Planta* **1989**, 179, 414–429.
(12) Lee S., Leustek T. The effect of cadmium on assimilation enzymes in Brassica juncea. *Plant Sci*. **1999**, 141, 291–207.
(13) Chen S.L., Kao C.H. Cd induced changes in proline level and peroxidase activity in roots of rice seedlings. Plant Growth Reg. **1995**, 17, 67–71.
(14) Chongpraditnum P., Mori S., Chino M. Excess copper induces Cu, Zn-superoxide dismutase in soybean root *Plant Cell Physiol.* **1993,** 33, 239–244.
(15) Jouili H., El Ferjiani E. Changes in antioxidant lignifying enzyme activities in sunflower (*Helianthus annuu*s L.) roots stressed with copper excess. *C. R. Acad. Sci. D*. **2003**, 32, 639–644.
(16) Wang Q.H., Liang X., Dong Y.J., Xu L.L., Zhang X.W., Hou J., Fan Z.Y. Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass, *Plant Growth Regul.,* **2013**, 69, 11–20. CrossRef CAS.
(17) Pérez-Pérez M.E., Lemaire S.D., Crespo J.L. Reactive oxygen species and autophagy in plants and algae. *Plant Physiol*., **2012**, 160, 156–164. CrossRef.
(18) Hordiman R.T., Jacoby B. Absorption and translocation of Cd in Bush beans (Phaseolus vulgaris) *Physiol. Plant.* **1984**, 61, 670–674.
(19) Cutler J.M., Rains D.M Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiol.* **1974**, 54, 67–71.
(20) Серёгин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения. *Физиол. растений.* **2002**, 48, 606–630.
(21) Janicka-Russak M., Kabała K. Burzyński M. Different effect of cadmium and copper on H^+-ATPase activity in plasma membrane vesicles from Cucumis sativus roots, *J. Exp. Bot.,* **2012,** 63, 4133–4142. CrossRef CAS.
(22) Kenderešová L., Staňová A., Pavlokin J., Ďurišova E., Nadubinská M., Ciamporová M. et al. Early Zn^{2+}-induced effects on membrane potential account for primary heavy metal susceptibility in tolerant and sensitive. *Arabidopsis* species *Ann. Bot*. **2012,** 110, 445–459. DOI: 10.1093/aob/mcs111.
(23) Fan L.-M., Wu W.-H., Yang Y.-Y. Identification and characterization the inward K^+ channel in the plasma membrane of Brassica pollen protoplasts. *Plant and Cell Physiol.* **1999**, 40, (8), 859–865.
(24) Rubio F., Nieves-Cordones M., Aleman F., Martinez V. Relative contribution of AtHAK5 and AtHAK1 to K^+ uptake in the high-affinity range of concentrations. *Physiol. Plant*. **2008**, 134, 598–608.
(25) Wang S.-M., Zhang J.-L., Flowers T.J. Low-affinity Na^+ uptake in the halophyte. *Suaeda maritime Plant Phys.* **2007**, 145, 559–571.
(26) Vasantha Pillay S., Rao V.S., Rao K.V.N. Effect of nickel toxicity in *Hyptis suaveoles* (L) Poit and *Helianthus annuus* L. *Ind. J. Plant Physiol.* **1996**, 1, 153–156.
(27) Paunov M., Koleva L., Vassilev A., Vangronsveld J., Goltsev V.V. Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat, *Int. J. Mol. Sci.,* **2018**, 19, 787, DOI: 10.3390/ijms19030787.
(28) Li L., Huang X., Borthakur D., Ni H. Photosynthetic activity and antioxidative response of seagrass *Thalassia hemprichii* to trace metal stress *Acta Oceanol. Sin.* **2012**, 31, 98–108. DOI: 10.1007/s13131-012-0210-3.
(29) Kervesan S., Petrovic N., Popuvic M., Kandrac J. Nitrogen and protein metabolism in young pea plant as affected by different by different nickel, cadmium, lead, molybdenum. *J. Plant Nutr.* **2001**, 24, 1633–1644.
(30) Joner E.J., Leyval C. Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes *Biol. Fertil. Soils.* **2001**, 33, 351–357.
(31) Kirmani H.F., Hussain M., Ahmad F., Shahid M. Asghar A. Impact of zinc uptake on morphology, physiology and yield attributes of wheat in Pakistan, *Cercetari Agronomice în Moldova*, **2018,** 51, 29–36. Search PubMed.
(32) Al-Yemeni M.N. Effect of cadmium, mercury, and lead on seed germination and early seedlings of *Vigna ambacensis. Indian J. Plant Physiol.* **2001**, 6 2 (N.S.), 147–151.
(33) Ku Hao-Juan, Xi Jia-bin, Yang Zhang-yi. Effects of heavy metals on *Sesbania rostrata* suspension cultures obtained from roots, stems and leaves. *Acta Sci. Nat. Univ. Sutyatseni Natur. Sci.* **2001**, 40, 84–87.

(34) Jackson R.J., Roth E.J., McClure P.R., Natanjo C.M. Selection, isolation and characterization of Cd-resistant. *Datura innoxia Plant Physiol*. **1984**, 75, 914–918.
(35) Domazlicka E., Opatrny Z. The effect of cadmium on tobacco cell culture and the selection of potentially Cod-resistant cell lines. *Biol. Plant*. **1989**, 1, 19–27.
(36) Gratao P.L., Pompeu G.B., Capaldi F.R., Vitorello V.A., Leo P.J., Ajivedo R.A. Antioxidant response of *Nicotiana tabacum* cv. Bright Yellow 2 cells to cadmium and nickel stress *Plant Cell Tissue and Org. Cult*. **2008**, 94, 73–83 DOI: https //doi.org/10.1007/sl 1240-008-9389-6.
(37) Сергеева Л.Е., Михальская С.И., Комисаренко А.Г. Современные биотехнологии повышения устойчивости растений к осмотическим стрессам. Киев; Кондор, **2019**, 160 с.
(38) Иванов А.А., Кособрюхов А.А. Изменение фотосинтетических характеристик и физиологических показателей у растений пшеницы при действии кадмия на фоне NaCl. *Сел.-хоз. биол. Сер. Биол. растений*. **2009**, 3, 104–109.
(39) Maróti M., Bognár J. Growth response of plant callus tissue to toxic heavy metal compounds and ion contaminating the environment. *Acta Bot. Hung.* **1985**, 31, 251–259.
(40) Nakazawa R., Ikawa M., Yasuda K., Takenaga H. Synergistic inhibition of the growth of suspension cultured tobacco cells by simultaneous treatment with cadmium and arsenic in relation to phytochelatin synthesis. *Soil Sci. and Plant Nutr.* **2000**, 46, 271–275.
(41) Surosz W., Palinska K.A. Ultrastructural changes induced by selected cadmium and copper concentrations in the cyanobacterium *Phormidium*: interaction with salinity. *J. Plant Physiol*. **2000**, 187, 643–650.
(42) Tamás L., Mistrik I., Huttová J., Halusková L., Valentovicová K., Zelinova V. Role of reactive oxygen species-generating enzymes and hydrogen peroxide during cadmium, mercury and osmotic stresses in barley root tip. *Planta* **2010**, 231, 221–231. DOI: 10.1007/s00425-009-1042-z.
(43) Hernandez L.E., Villasante C.O., Montero-Palmero M.B., Escobar C. Carpena R.O. "Heavy metal perception in a microscale environment: a model system using high doses of pollutants" in Metal toxicity in plants. Perception, signaling and temediation; eds D.K. Gupta and L.M. Sandalio (Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag), **2012**, 23–37. DOI: 10.1007/978-3-642-22081-4_2.
(44) Qing G., Zhai X.-G. & Han Z.-X. Cloning and sequence analysis of new gene coding drought tolerance, LEA3 from Tibet hull-less barley. *Zuowu xuebao=Acta Agr. Sin.* **2007**, 33, 292–296.
(45) Tioleter D., Jaquinod M., Mangavel C., Passirani C., Saulner P., Manon S., Teyssier E., Payet N., Avelange-Macherel M.-H., Macherel D. Structure and function of a mitochondrial late embryogenesis abundant protein by desiccation. *Plant Cell,* **2007**, 19, 1580–1587.
(46) Verslues P.E. Bray E.A. *LWR1* and *LWR2* are required for osmoregulation and osmotic adjustment in Arabidopsis. *Plant Physiol*. **2004**, 136, 2831–2842.
(47) Nakashima K., Ito Y., Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stress in plants. *Physiol. Plant*. **2009**, 149, 88–95. DOI: 10.1104/pp.108.129791.
(48) Shameer K., Ambika S., Varghese S.M., Karaba N., Udayakumar M., Sowdhamini R. STIFDB – Arabidopsis stress-responsive transcription factor Data Base. *Inr. J. Plant Genomics*. **2009**: 583429. DOI: 10.1155/2009/583429.
(49) Гамзикова О.И., Барсукова В.С. Полиморфизм и характер наследования устойчивости пшеницы к избытку никеля. *Физиол. и биохимия культ. растений* **1993**, 25, 8–14.
(50) Howden R., Goldsbrough P.B., Andersen C.R., Cobbett C.S. Cadmium-sensitive cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatine deficient. *Plant Physiol*. **1995**, 107, 1059–1066.
(51) Howden R., Andersen C.R., Goldsbrough P.B., Cobbett C.S. A cadmium-sensitive, glutathion deficient mutant of *Arabidopsis thaliana Ibid*. **1995**. 107, 1067–1073.
(52) Pena L.B., Barcia R.A., Azpilicueta C.E., Méndez A.A., Gallego S.M. Oxidative post translational modifications of proteins related to cell cycle are involved in cadmium toxicity in wheat seedlings. *Plant Sci.* **2012**, 196, 1–7. DOI: 10.1016/j. plantsci.2012.07.008.
(53) Singh S., Parihar P., Singh R., Singh V.P., Prasad S.M. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics and ionomics. *Frontiers in Plant Science* **2016**, URL: https://doi.org/103389/fpls 201501143.
(54) Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdoran F., Xie Y. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *Sci. World J.,* **2015.** DOI: 10.1155/2015/756120.
(55) Сергеева Л.Е. Клеточная селекция с ионами тяжёлых металлов для получения генотипов растений с комплексной устойчивостью к абиотическим стрессам. Киев: Логос, **2013**, 211 с.
(56) Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cadmium ions in cell selection for obtaining wheat cell forms tolerant to water stress. *Visn. Cherkassy Univ. Ser. Biology.* **2019**, 2, 74–80. DOI: 10.31651/2076-5835-2018-1-2019-2-74-80

(57) Sergeeva L.E., Bronnikova L.I. Cell selection with barium ions for obtaining genetically modified salt tolerant tobacco forms. *Visn. Cherkassy Univ. Ser. Biology.* **2020**, 1, 71–78. DOI: 10.31651/2076-5835-2018-1-2020-1-71-78.
(58) Naika M., Shameer K., Mathew O.K., Gowda R., Sowdhamini R. $STIFDB_2$: An update version of plant stress-responsive stress signals, stress-responsive transcription factors binding sites and stress-responsive genes in *Arabidopsis* and rice. *Plant Cell Phys*. **2013**, 54:e8. DOI: 10.1093/pcp/pcs185.
(59) Тищенко Е.Н., Михальская С.И. Агробактериальная трансформация подсолнечника. *Физиол. и биохим. культ. растений.* **2006**, 38. 187–196.
(60) Amini S., Ghobadi C., and Yamchi A. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants, *Journal of Plant Molecular Breeding*, **2015,** 3, 44–55. Search PubMed.
(61) Fasani E., Manara A., Martini F., Furini A., DalCorso G. The potential of genetic engineering of plants for the remediation of soils contaminated with heavy metals. *Plant Cell Environ.* **2018.** 41, 1201–1232. 10.1111/pce.12963 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].

ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ У ЗБІРНИКУ НАУКОВИХ ПРАЦЬ «ВІСНИК ЗАПОРІЗЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ. БІОЛОГІЧНІ НАУКИ»

ТИПИ СТАТЕЙ

– дослідницька стаття
– оглядова стаття
– коротке повідомлення

РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Дослідницька стаття

За структурою дослідницька стаття має відповідати міжнародному стандарту IMRAD та містити такі обов'язкові елементи: Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Висновки, Література. Обсяг основного тексту дослідницької статті від 11 до 60 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Бібліографічний список за обсягом не має перевищувати 80 джерел.

Назва статті. Якомога коротша, але достатня для розуміння змісту роботи, скорочення - тільки загальноприйняті. Слід уникати беззмістовних слів таких як «вивчення», «дослідження», «спостереження», тощо. Якщо йдеться про сполуку, біологічний вид, тощо – вкажіть їх в назві, якщо про країну чи регіон – теж. 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.

Анотація. Структурована за стандартом IMRAD, передає структуру статті, доповнює назву, якомога стисла, завершена, без абревіатур, літературних посилань та ілюстраційних матеріалів. Обсяг української та англійської анотацій – 1800-2000 знаків (з пробілами) кожна.

Ключові слова. Не повторюють слова із назви, доповнюють та деталізують назву роботи; кількість ключових слів або словосполучень - 5-6.

Вступ висвітлює сучасний стан, та актуальність проблеми, показує місце дослідження в контексті відомого. Визначає важливість проблеми, новизну дослідження, наукову «прогалину», яку закриває представлене дослідження. У вступі слід визначити мету або робочі гіпотези (не більше трьох гіпотез на одну статтю). Вступ слід розпочати із загальної проблеми та перейти до вузької теми представленій в роботи. В останньому параграфі коротко описати що саме представлено в роботі, але не повторювати анотацію.

Матеріал та методи мають забезпечити відтворюваність експерименту та містити методи лабораторного експерименту або польового дослідження; обсяг використаних для аналізу даних (розмір вибірки); опис використаних статистичних процедур обробки даних із зазначенням спеціалізованих програм в яких виконано аналіз. Цей розділ має складатись з двох підрозділів, перший з яких описує зібраний матеріал або проведений експеримент, тоді як другий – методи аналізу. Перед вибором статистичної процедури аналізу даних рекомендовано перевіряти вибірки на підпорядкованість їх закону нормального розподілу.

Автори зобов'язані дотримуватись етичних норм при роботі з тваринами відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р. (https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137). Рецензенти звертатимуть увагу на дотримання авторами етичних норм при поводженні з тваринами, недотримання таких норм може бути підставою для відхилення рукопису.

Результати представляють лише опис та аналіз власних матеріалів, не змішані з дискусією, не містять посилань на літературу. Описуються лише основні результати (а не все що було зроблено), які відповідають меті дослідження або підтверджують/відхиляють робочу гіпотезу(и). Допускається використання не хронологічного, а логічного опису. Результати слід ілюструвати мінімально необхідними зведеними даними (вихідні дані або проміжні розрахунки можуть бути в додаткових матеріалах). Перед формуванням ілюстраційних матеріалів потрібно точно визначити, на яке з поставлених у роботі питань або гіпотез відповідатимуть та чи інша таблиця або рисунок. Надаються лише ті ілюстрації, що безпосередньо висвітлюють суть роботи. Таблиці не повинні дублювати вже наведені в тексті дані. Таблиці можуть бути також використані для синтезу не тільки числових, але й літературних даних.

Обговорення не повторює результатів, порівнює та обговорює отримані власні данні з літературними. Обговорення має бути стислим, максимально доводити правильність точки зору автора, узагальнюючи результати власних досліджень та дані інших авторів щодо підтвердження тієї чи іншої наукової гіпотези. Порядок викладення обговорення має йти від окремого до загального. Обговорення має від-

повідати меті або висунутим науковим гіпотезам, які окреслені у Вступі, а також не містити висновків, а лише підводити до них.

Висновки стисло характеризують основні результати описані в рукописі, без нумерації в довільній формі. Вони не містять текстових повторень, викладених у попередніх розділах роботи. Наприкінці цього розділу слід визначити перспективи подальших досліджень.

Подяки (за бажанням). Автор може висловити подяку допоміжному персоналу, студентам, своїм колега, всім тим, хто допомагав при зборі польових або експериментальних даних, надавав корисні поради, тощо, але не приймав активної участі у підготовці рукопису. У цьому розділі також надається інформація про джерела підтримки проведеного дослідження.

Внесок авторів (за бажанням). Надається опис внеску кожного співавтора у статтю.

Оглядова стаття

Оглядова стаття повинна мати обсяг основного тексту від 11 до 60 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Бібліографічний список не має перевищувати 100 джерел. Рукопис має містити такі структурні елементи: **вступ** з окресленням проблеми та описом останніх подій/досліджень, що визначає актуальність та **мету** наведеного огляду; стислі **інформативно пов'язані між собою розділи** із заголовками, що мають представляти осмислений автором(ами) синтез літератури та власних ідей; критичний аналіз опублікованих раніше праць за цією тематикою, із визначенням не вирішених проблем та питань; **висновки** з проведеного огляду і **перспективи подальших досліджень.** Оглядова стаття має містити **текстові бокси, рисунки або таблиці** з метою викладення основних концепцій або ідей роботи, огляду тематичних досліджень, деталізації підходів та методик. Анотації українською та англійською мовами структуровані та відповідають змісту рукопису, обсягом 1800-2000 знаків кожна.

Коротке повідомлення

У вигляді короткого повідомлення може бути опубліковано перші географічні знахідки видів; опис оригінальної методики, що не планується до патентування; констатація важливих, виняткових, неочікуваних випадків експериментальних досліджень.

Коротке повідомлення неструктуроване на розділи, але має містити основні елементи дослідницької статті (Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Висновки). Обсяг основного тексту до 10 тисяч знаків з пробілами (анотація, список використаних джерел, таблиці та підписи до рисунків не враховуються). Методологія має бути короткою, але достатньою для відтворення. Анотація подається лише англійською мовою обсягом 1800-2000 знаків, структурована та відповідає змісту повідомлення. Ключові слова - англійською мовою, кількістю 5-6 слів або словосполучень. Ілюстраційний матеріал у кількості не більше трьох елементів (таблиць, рисунків, текстових боксів). Бібліографічний список не більше 20 літературних джерел. **У одному номері публікується не більше трьох коротких повідомлень**.

Загальні рекомендації до статей

Виклад матеріалу рукопису 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. Бібліографічні посилання наводяться мовою оригіналу.

ОФОРМЛЕННЯ РУКОПИСУ

Для рукопису використовується формат А4 з полями по 2 см з усіх боків. Нумеруються сторінки та рядки (для полегшення процесу рецензування). Використовується шрифт Times New Roman, 14 пт, полуторний інтервал між рядками. Заголовок статті та структурні елементи рукопису розміщуються по центру, напівжирним, усі рядкові.

Перед заголовком у лівому куті розміщується УДК.

Після заголовку у наступник рядках, по центру:

– ПІБ автора(ів);
– установа;
– адреса установи (поштовий індекс, вулиця, місто, країна,);
– електронна адреса автора;
– анотації 1800 знаків;
– ключові слова (*курсивом*).

Після анотацій з ключовими словами з абзацу викладається основний текст статті

Якщо стаття подається **українською мовою**, першою розміщується україномовна анотація з ключовими словами. Другою анотацією є англомовна анотація, 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**, першою надається англомовна анотація з ключовими словами. Другою анотація українською мовою з ключовими словами, перед якою вказується назва статті, прізвища та ініціали авторів, повна адреса та назва установи.

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

При оформленні статті не припускається:
- підкреслювати заголовки, підписи і надписи;
- переносити слова в тексті статті;
- використовувати виноски.

ВИМОГИ ДО ІЛЮСТРАЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ

Рисунки мають бути оригінальними, підписаними та послідовно пронумерованими арабськими цифрами: Рис. 1, Рис. 2. Номер рисунка та підпис розташовуються безпосередньо під рисунком. 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 повинні мати назву та бути послідовно пронумеровані арабськими цифрами: Таблиця 1, Таблиця 2. Номер та назва таблиці розташовуються безпосередньо над таблицями.

Текстові бокси призначені для пояснення основних понять, концепцій або ідей роботи, огляду тематичних досліджень, деталізації підходів та методик. Бокси повинні мати коротку назву (не більше 8 слів) та бути послідовно пронумеровані арабськими цифрами: Бокс 1, Бокс 2. Номер та назва текстового боксу розташовуються безпосередньо над ним. Бокси можуть містити невеличкі рисунки та таблиці, що позначаються римськими цифрами (наприклад Рис. I, Рис. II; Таблиця I, Таблиця II). Нумерація літератури наскрізна з урахуванням тексту та боксів. Обсяг тексту не більше 300 слів на бокс.

Всі ілюстраційні матеріали (рисунки, таблиці, текстові бокси) розміщуються в тексті рукопису після першого їх згадування.

Літературні джерела послідовно нумеруються арабськими цифрами в порядку появи в тексті статті і зазначаються верхнім регістром, вказуючи порядковий номер джерела (наприклад «…за загальноприйнятими методиками[3-5]…» або «…за Івановим[6]…»). Перелік літературних джерел мовою оригіналу подається в порядку їх нумерації після основного тексту статті з підзаголовком: «**Література**». Список літератури оформлюється відповідно до міжнародного стилю Американського хімічного товариства (ACS STYLE) рекомендованого Наказом МОН України №40 від 12.01.2017. Опис бібліографічного стилю наведено в методичних рекомендаціях Української бібліотечної асоціації (Боженко, О.; Корян, Ю.; Федорець, М. *Міжнародні правила цитування та посилання в наукових роботах: методичні рекомендації*; Українська бібліотечна асоціація: Київ, 2016.). Звертаємо вашу увагу, що у відповідності до ACS стилю бібліографічні посилання мають наводитись із зазначенням DOI. При оформленні бібліографії рекомендовано використовувати **бібліографічні менеджери**, такі як Mendeley (https://www.mendeley.com), EndNote, тощо.

Рукописи та супровідні документи приймає редакційна колегія Вісника ЗНУ в електронному вигляді (електронна пошта: editor@biology.journalsofznu.zp.ua)

Перелік обов'язкових документів:

1) Рукопис, що включає УДК, назву рукопису, ПІБ автора/ів, назву установи, електронну адресу автора відповідального за кореспонденцію, анотації (українську та англійську), основний текст роботи з ілюстраційними матеріалами, подяки (за необхідності), бібліографію (у форматі doc, docx) надсилається електронною поштою. Назва файла повинна містити транслітероване прізвище першого автора: (приклад назви файлу: Ivanov_manuscript. doc, docx);

2) Допоміжні матеріали (за бажанням автора) з додатковими таблицями, рисунками, схемами, тощо (приклад назви файлу: Ivanov_suppl.pdf) для публікації електронного варіанту разом із статтею.

3) Лист на ім'я головного редактора (приклад назви файлу: Ivanov_letter.doc, docx) з такою інформацією:

– **відомості про автора** відповідального за кореспонденцію, що містить таку інформацію: прізвище, ім'я, по батькові (повністю); місце роботи або навчання; електронна адреса для листування; номер мобільного телефону;

– **декларацію автора** про таке:

– він є автором (співавтором) рукопису;

– прізвища всіх співавторів наведені в рукописі, і жодна особа, яка не є співавтором, до них не віднесена;

– усі співавтори ознайомилися з остаточним варіантом наукової роботи та дали свою згоду на її публікацію;

– авторські права цього рукопису не передані іншому видавцю;

– цей рукопис не був раніше опублікований і не буде опублікований у будь-якому іншому виданні;

– він не порушив права інтелектуальної власності інших осіб.

– **Відомості про трьох потенційних рецензентів** (прізвище, місце роботи, електронна пошта, контактний номер телефону) які мають бути з іншої установи ніж тієї де працюють автори, що подали роботу та мають задовольняти вимоги підпункту 6 пункту 6 Порядку формування Переліку наукових фахових видань України, а саме здійснювати дослідження за спеціальністю і мати за останні три роки не менше однієї публікації у виданнях, включених до Переліку, або закордонних виданнях, включених до Web of Science Core Collection та/або Scopus. З метою уникнення конфлікту інтересів автори, за бажанням, можуть надавити **прізвища небажаних рецензентів**, що враховується редколегією при виборі рецензентів. Якщо статтю подає один із членів редколегії, то список потенційних рецензентів повинен включати щонайменше 4-х фахівців.

– **Відомості про науковий напрям**, за яким подається рукопис відповідно до наведеного вище переліку.

Адреса та контактні дані:
Редакція журналу «Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки»,
вул. Жуковського, 66, корп. ІІІ, ауд. 308, Запоріжжя, Україна, 69600
Телефон: +38 066 53 57 687
Електронна пошта: editor@biology.journalsofznu.zp.ua
Офіційний сайт: www.journalsofznu.zp.ua/index.php/biology

НОТАТКИ

Збірник наукових праць

ВІСНИК ЗАПОРІЗЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ. БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

№ 1, 2020

Комп'ютерна верстка – Н.С. Кузнєцова
Коректура – В.В. Ізак

Підписано до друку: 28.10.2020.
Формат 60x84/8. Гарнітура Times New Roman.
Папір офсет. Цифровий друк. Ум. друк. арк. 8,37.
Замов. № 0221/50. Наклад 100 прим.

Видавництво і друкарня – Видавничий дім «Гельветика»
69063, Україна, м. Запоріжжя, вул. Олександрівська, 84, оф. 414
Телефони: +38 (048) 709 38 69, +38 (095) 934 48 28, +38 (097) 723 06 08
E-mail: mailbox@helvetica.com.ua
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК № 6424 від 04.10.2018 р.