

ISSN 0206-5657

**ВІСНИК**  
ЛЬВІВСЬКОГО  
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 84

2021

**VISNYK** | **ВІСНИК**  
**OF THE LVIV** | **ЛЬВІВСЬКОГО**  
**UNIVERSITY** | **УНІВЕРСИТЕТУ**

**Series Biology** | **Серія біологічна**

**Issue 84** | **Випуск 84**

Scientific journal | Збірник наукових праць

Published 3–4 issues per year | Виходить 3–4 рази на рік

*Published since 1962* | *Видається з 1962 року*

Ivan Franko | Львівський національний  
National University of Lviv | університет імені Івана Франка

2021

Друкується за ухвалою Вченої ради  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка  
Протокол № 16/6 від 30 червня 2021 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію серія  
КВ № 14810-3581Р від 28 жовтня 2008 р.,  
перереєстровано як фахове видання України  
(наказ МОН № 528 від 12.05.2015 р.). Видання  
включене до Thomson Scientific Master Journal  
List (список ISI)

У “Віснику Львівського університету. Серія біологічна” опубліковані статті з актуальних проблем біології. Для наукових працівників, аспірантів і студентів старших курсів.

Papers on current problems in biology are published in the Visnyk. For scientific staff, Ph. D. students and Bachelors.

**Редакційна колегія:**

д-р біол. наук, проф. *В. Федоренко* – головний редактор; д-р біол. наук, проф. *В. Манько* – заступник головного редактора; *Н. Цимбалюк* – секретар; д-р біол. наук *А. Бабський*; канд. біол. наук, доц. *З. Мамчур*; д-р біол. наук, проф. *Н. Сибірна*; д-р біол. наук, проф. *Д. Санагурський*; канд. біол. наук, проф. *С. Гнатуш*; д-р біол. наук, проф. *Л. Тасенкевич*; д-р біол. наук, проф. *О. Терек*; д-р біол. наук, проф. *Й. Царик*; д-р біол. наук, проф. *Ю. Чорнобай* (Державний природознавчий музей НАН України); д-р біол. наук, проф. *Г. Антоняк*; д-р біол. наук *Б. Осташ*, канд. біол. наук, доц. *В. Гончаренко*; канд. біол. наук *М. Ватаманюк*; канд. біол. наук *О. Ватаманюк*; д-р біол. наук, проф. *М. Доліба*; д-р біол. наук *А. Лужецький*; канд. біол. наук, проф. *І. Медина*.

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Fedorenko* – Editor-in-Chief

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Manko* – Assistant Editor

*N. Tymbalyuk* – Managing Editor

Відповідальні за випуск: *В. Федоренко, Н. Цимбалюк*

**Адреса редколегії:**

Львівський національний університет  
імені Івана Франка, біологічний факультет  
вул. Грушевського, 4  
Львів 79005, Україна  
тел.: (032) 239-47-86

**Editorial office address:**

Ivan Franko National University  
of Lviv, Biology faculty  
4, Hrushevskyy St.  
Lviv 79005, Ukraine  
tel. (032) 239-47-86

E-mail: [biovisnyk@lnu.edu.ua](mailto:biovisnyk@lnu.edu.ua)

<http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/index>

<https://doi.org/10.30970/vlubs.2021.84>

Редактор: Л. СІДЛОВИЧ

Комп'ютерна верстка: В. ДЕМЧУК

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ, ВИДАВЦЯ І ВИГОТОВЛЮВАЧА:

Львівський національний університет  
імені Івана Франка  
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна  
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої  
справи до Державного реєстру видавців,  
виготівників і розповсюджувачів видавничої  
продукції. Серія ДК № 3059 від 13.12.2007 р.

Формат 70x100<sup>1/16</sup>  
Ум. друк. арк. 9,3  
Наклад 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет  
імені Івана Франка, 2021

ОГЛЯД

УДК 581.524:58.072

<https://doi.org/10.30970/vlubs.2021.84.01>

**ЗАЛЕЖНІСТЬ МІЖ ТЕМПАМИ РОЗВИТКУ І ЖИТТЄВІСТЮ ОСОБИН  
У ПОПУЛЯЦІЯХ РАРИТЕТНИХ ВИДІВ РОСЛИН ВИСОКОГІР'Я  
УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ**

**В. Кияк<sup>1</sup>, В. Штупун<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України

вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна

e-mail: [vlodkokyjak@ukr.net](mailto:vlodkokyjak@ukr.net)

Подано огляд багаторічних досліджень і численних публікацій щодо залежності між темпами розвитку й життєвістю особин у популяціях рідкісних і ендемічних видів рослин високогір'я Українських Карпат на прикладі *Ranunculus thora*, *Primula halleri*, *Leontopodium alpinum*, *Gentiana acaulis*, *Doronicum clusii*, *Saussurea alpina*, *Oreochloa disticha*, *Pulsatilla alba*, *Rhododendron myrtifolium*, *Senecio carpathicus*, *Festuca carpatica*, *Heracleum carpathicum*, *Phyteuma vagneri* та ін. Стаціонарні дослідження *in situ* проведено на дослідних ділянках, закладених 5–30 років тому. Найбільший вплив на життєвість особин і популяцій мають зміни ценозоутворюючих позицій між видами відмінних життєвих форм і стратегій. Підвищення позицій чагарників дуже прискорює пониження життєвості чагарничків і особливо трав, а підвищення ценозоутворюючих позицій більш високорослих конкурентних видів чагарничків і трав спричиняє зниження життєвості низькорослих малоконкурентних геліофітів, до яких належить більшість рідкісних видів.

Життєвість особин і популяцій зумовлює певний вплив на темпи й ритміку їхнього сезонного розвитку. За вищої життєвості особин їхній розвиток швидший, що проявляється у порівняно більш ранньому початку фенофаз. У тих ценозах, де едифікаторне значення популяції більше, спостерігається прискорене проходження фаз до цвітіння та більш тривалий період цвітіння.

У вегетативно активних видів за умов розвитку без вегетативного розмноження життєвість особин і їхній відносний вік істотно збільшуються. Внаслідок ефекту автономного розвитку пагонів і парціалей значною мірою змінюється життєвість вегетативних діаспор порівняно з вихідною життєвістю материнських особин. Ефект інерції життєвості особин і популяцій полягає у поступовій зміні їхньої життєвості за мінливих умов існування. Лише різкі несприятливі екзогенні впливи можуть спричинити раптове зниження їхньої життєвості. Найповільніше відбуваються процеси переходу особин низької життєвості в ранг високої життєвості.

*Ключові слова:* популяції рослин, онтогенез, життєвість, високогір'я, Українські Карпати

Дослідження, які поєднують популяційний аналіз за ознаками онтогенетичної та вікової структури з життєвістю особин і віталітетом популяцій, присвячені багатьом видам рослин різноманітних життєвих форм і типів біоморф [2, 4, 5, 16, 20–26, 29]. Проте питання залежності між темпами розвитку й життєвістю особин у популяціях залишаються ще недостатньо вивченими. Це зумовлене методичними причинами, адже розкриття цієї проблеми потребує детальних онтогенетичних досліджень на основі багаторічних

спостережень за фіксованими особинами, які розвиваються за різноманітних умов середовища – в широкому діапазоні множини сприятливих і несприятливих абіотичних, біотичних й антропогенних чинників на різних етапах життєвих циклів. Водночас такі дані є важливими для з'ясування механізмів динаміки популяцій за мінливих умов середовища їхнього існування. Для рідкісних видів значний практичний соціологічний інтерес становлять ці питання на індивідуальному й популяційному рівні за різноманітних природних і антропогенних загроз.

Попередні онтогенетичні дослідження у популяціях рідкісних видів рослин високогір'я Карпат виявили низку особливостей темпів розвитку й життєвості особин залежно від умов середовища у діапазоні умов від оптимальних до критичних [12, 13]. Однак аспектам зміни життєвості особин залежно від варіантів тривалості онтогенезу та його окремих фаз було приділено ще недостатньо уваги [1, 14].

Особливої ваги щодо використання у природоохоронному менеджменті мають набути відомості про особливості життєвості особин на різних етапах життєвих циклів і роль їхнього вкладу у життєздатність популяцій. Тому є істотна потреба в результатах тривалих демографічних досліджень [32]. Загалом прогноз у природоохоронній практиці щодо динаміки популяцій можливий тільки за наявності даних з аутокології видів, зокрема, їхнього онтогенезу [31].

Мета цієї статті - на основі особистих тривалих стаціонарних досліджень *in situ* і результатів наукових праць інших вчених окреслити загальні закономірності щодо залежності між темпами розвитку та життєвістю особин на прикладі популяцій рідкісних і ендемічних видів рослин високогір'я Українських Карпат.

Головними об'єктами аналізу були популяції рідкісних видів рослин, поширених у високогір'ї Українських Карпат і включених до Червоної книги України [27]: *Doronicum clusii* (All.) Tausch, *Gentiana acaulis* L., *Leontopodium alpinum* Cass., *Oreochloa disticha* (Wulfen) Link, *Parmica tenuifolia* (Schur) Schur, *Pulsatilla alba* Rcnb., *Ranunculus thora* L., *Rhododendron myrtifolium* Schott et Kotschy, *Saussurea alpina* (L.) DC., *Senecio carpaticus* Herbich, *Cerastium cerastoides* (L.) Britton., *Loiseleuria procumbens* (L.) Desv., *Primula halleri* J.F.Gmel.

Проведено також огляд популяцій ендемічних і реліктових видів: *Festuca carpatica* F.G. Dietr., *Heracleum carpaticum* Porc., *Phyteuma vagneri* A. Kerner, *Pedicularis hacquetii* Graf, *Poa deyllii* Chrtek & Jirasek, *Veronica alpina* L.

Порівняльний аналіз охоплював і деякі тривіальні види (*Pinus mugo* Turra, *Carex curvula* All., *Vaccinium myrtillus* L., *Vaccinium uliginosum* L. тощо), що є зручними модельними об'єктами – представниками різних життєвих форм.

Обрані об'єкти відображають різноманітні біоморфологічні типи (чагарники й чагарнички, дернинні, повзучі, сланкі, коротко- й довгокореневищні трави), відрізняються за екологічною приуроченістю (лучні, петрофітні, хіонофільні тощо), природоохоронним статусом (рідкісні, зникаючі, вразливі), участю в ценозах (едифікатори, субедифікатори, асектатори), перебувають під впливом як природних змін, так і антропогенних навантажень.

За життєвими формами представлені види можна згрупувати за такими типами:

- короткокореневищні вегетативно неактивні трав'яні види моноцентричного типу біоморф, які розмножуються насіннєвим способом (*Primula halleri*, *Ranunculus thora*, *Heracleum carpaticum*, *Phyteuma vagneri*, *Pedicularis hacquetii*);

- короткокореневищні та щільнодернинні вегетативно малоактивні трав'яні види моноцентричного або неявнополіцентричного типу біоморф, які розмножуються насіннє-

вим і вегетативним способом (*Leontopodium alpinum*, *Oreochloa disticha*, *Poa deyllii*, *Festuca carpatica*);

- коротко- та довгокореневищні вегетативно активні трав'яні види неявно- і явнополіцентричного типу біоморф, які розмножуються насінням і вегетативно (*Doronicum clusii*, *Gentiana acaulis*, *Saussurea alpina*, *Ptarmica tenuifolia*, *Pulsatilla alba*, *Veronica alpina*);

- повзучі вегетативно активні трав'яні види явнополіцентричного типу біоморф, які розмножуються насіннєвим і вегетативним способом (*Senecio carpaticus*, *Cerastium cerastoides*);

- сланкі та шпалерні чагарнички неявно- і явнополіцентричного типу біоморф, які розмножуються насіннєвим і вегетативним способом (*Rhododendron myrtifolium*, *Loiseleuria procumbens*).

Стационарні дослідження *in situ* проводили з використанням багаторічних моніторингових трансект і дослідних ділянок, закладених 5–30 років тому. Трансекти розташовані в альпійському, субальпійському і верхньому лісовому поясах Українських Карпат у діапазоні висот 1400–2000 м н. р. м. Більшість площ зосереджена у центральній частині Чорногірського хребта в околицях високогірного біологічного стаціонару «Пожижевська» ім. К. Малиновського Інституту екології Карпат НАН України.

Онтогенез вивчали на основі багаторічних спостережень за розвитком мічених або закартованих особин різних вікових станів. Вік особин визначали безпосередніми багаторічними спостереженнями та внаслідок сукупної тривалості окремих вікових станів.

Життєвість особин визначали за морфометричними ознаками: висотою особин, діаметром їхніх горизонтальних проекцій, кількістю квіток або суцвіть на особині; а також у окремих видів за площею листової поверхні, насінневою продуктивністю і масою насіння, вегетативною рухливістю, розміром річних приростів тощо.

Польові роботи проведено з мінімальним втручанням і порушенням популяцій та ценозів [11]. Для статистичної достовірності часто обліковували параметри усіх або більшої частини особин популяцій з огляду на їхню малу чисельність і, окрім того, застосовували більшу повторність або (і) тривалість досліджень, порівняно з великими популяціями. Було мінімізовано використання активних експериментів, котрі спричиняють зміни й порушення у популяціях і у середовищі їхнього існування. Головним джерелом інформації був моніторинг на основі картування й методу мічених особин і пасивний експеримент – констатація змін під впливом природних і антропогенних чинників.

Внутрішньо- та міжпопуляційну мінливість морфометричних параметрів особин вивчали шляхом промірів у кожній популяції 25–30 генеративних особин. Опрацювання даних популяційної різноманітності проводили на основі діапазону мінливості індивідуальних значень морфометричних показників і на основі значень коефіцієнтів варіації генеральної сукупності вибірових даних [17]. Проведено порівняльний аналіз експериментальних вибірок, щоби встановити достовірність різниці між ними за абсолютними значеннями досліджуваних показників. Використано двовибірний t-тест із різними дисперсіями у пакеті аналізу в операційній системі Excel.

Під час багаторічних досліджень застосовано також інші методи популяційної екології, спрямовані на вивчення диференційних та інтегральних ознак популяцій на індивідуальному і груповому рівні [8].

Назви рослин подано за «Словником українських наукових і народних назв судинних рослин» Ю. Й. Кобіва [15].

Отримані дані опрацьовані методами варіаційної статистики і є достовірними [17].

### Розвиток особин у популяціях різної стратегії

Залежність між темпами розвитку і життєвістю особин у популяціях видів рослин необхідно розглядати передусім з позицій їхніх життєвих форм, стратегій і способів розмноження. Параметри росту, розвитку та репродукції особин залежать від життєвої форми видів і еколого-ценотичних умов існування, але значною мірою вони є видоспецифічними [19]. Темпи росту і розвитку, швидкість досягнення репродуктивної фази в онтогенезі, інтенсивність генеративного й вегетативного розмноження, – це ознаки, які кардинально відрізняються у видів різної стратегії: конкурентів, стрес-толерантів і рудералів [21, 24].

Стратегії у межах виду в різних популяціях, які існують за відмінних умов, наприклад, на різних висотних рослинних поясах, можуть змінюватися [24]. Так, у субальпійському поясі, а також у нижній частині альпійського поясу видові *Rhododendron myrtifolium* притаманна конкурентна стратегія. Тут рододендронники поширені на значних площах з великим проєктивним покриттям і роллю *R. myrtifolium* як домінанта й едифікатора. Зі збільшенням висоти над рівнем моря в альпійському поясі стратегія *R. myrtifolium* змінюється з конкурентної на стрес-толерантну. Зменшуються проєктивне покриття, інтенсивність генеративного і вегетативного розмноження й усі показники життєвості. Фітоценотична позиція знижується до асектаторної.

У іншому випадку, наприклад, у популяції аркто-альпійського виду *Carex curvula* (г. Драбини, 1850 м н. р. м.), за песимізації абіотичних умов існування внаслідок кліматичних змін, на нижній висотній межі поширення відзначається набування характерних ознак стрес-толерантної стратегії – повільні темпи росту й розвитку, мала репродуктивна здатність, зниження ценозоутворюючої позиції від субедифікатора до асектатора.

Протягом двадцятилітнього періоду (1999–2019 рр.) спостерігали поступове зменшення чисельності популяції – з 896 до 269 особин. Найбільш негативні зміни відбулися за останні 10 років. Значні зміни притаманні у молодій і генеративній частинах вікового спектру. Відсоток віргінільних рослин у структурі популяції зменшився з 64 до 25 %. Частка генеративних особин у ценопопуляції зменшилася з 16 до 3 %. Усі показники життєвості (висота пагонів, горизонтальна проєкція, кількість генеративних пагонів, урожайність насіння) генеративних рослин зменшились у всіх локусах. Якщо на початку спостережень висота генеративних особин сягала в середньому 36 см, то в останні роки вона становила лише 15–20 см. Кількість генеративних пагонів на генеративній особині середнього віку у період до 2015 р. зменшилася з 8 до 2–3. З 2016 р. генеративних рослин середнього віку в популяції немає. Молоді та старі генеративні особини за останні роки сформували не більше одного генеративного пагона.

Водночас для популяцій цього виду в центральній частині Чорногори на більших висотах, за еколого-ценотичного оптимуму, де вид займає позиції домінанта й едифікатора, йому притаманні ознаки конкурентної стратегії та вища життєвість [13].

Загалом у різних видів у межах одної ценопопуляції в різних внутрішньопопуляційних складових стратегія та життєвість особин може змінюватися, однак не кардинально. Притаманним є набування вторинних стратегій, перехідних властивостей або поєднання ознак суміжних типів стратегій, зокрема, K-S і S-R.

### Життєвість особин на різних етапах життєвого циклу

Темпи онтогенезу й життєвість особин мають свої взаємопов'язані особливості на різних етапах життєвого циклу. Часом їх можна деталізувати для кожного вікового стану. Це найкраще простежується у особин насінневого походження.

У особин з високою, середньою і низькою життєвістю потреби до екологічних умов неоднакові та змінюються в їхньому онтогенезі. Потенції життєвості особини закладаються значною мірою вже у насінні [3, 28]. Перевагою великого насіння є його краще виживання за несприятливих умов [30]. Водночас встановлено здатність насіння низької життєвості до тривалого збереження його схожості [3]. Однак особливості реалізації регенераційних ніш видами різної репродуктивної стратегії, зокрема, у високогірних фітоценозах, потребують різнофакторного аналізу та подальших досліджень [33].

Репродуктивний потенціал залежить від біомаси особин [5, 28]. Чим більша їхня фітомаса, тим більше енергії може бути спрямовано на формування репродуктивних органів. Однак така залежність є чіткою у період від початку генеративної фази в онтогенезі до досягнення особинами піку їхньої життєвості за ознаками інтенсивності росту і розвитку. Найвище репродуктивне зусилля притаманне генеративним середньовіковим особинам. З віком у стані старої репродуктивної особини навіть за великої фітомаси репродуктивне зусилля зменшується. Таким чином, воно відрізняється залежно не лише від фітомаси, але й від віку особин, що характерне передусім для видів моноцентричних і неявинопіцентричних біоморф, у яких превалює генеративне розмноження (*Ranunculus thora*, *Primula halleri*, *Leontopodium alpinum*, *Oreochloa disticha*, *Festuca carpatica*, *Heracleum carpaticum*, *Pedicularis hacquetii*, *Poa deyllii*).

Для вегетативно активних видів високогір'я Карпат різних типів біоморф вегетативне розмноження унаслідок дезінтеграції цілісної особини на окремі партикули найбільш характерне у середньовіковому або старому генеративному стані. Така особливість розмноження властива довго-, короткокореневищним і повзучим травам (*Leontopodium alpinum*, *Doronicum clusii*, *Ptarmica tenuifolia*, *Saussurea alpina*, *Senecio carpaticus*, *Cerastium cerastoides*), а також сланким чагарничкам (*Rhododendron myrtifolium*, *Loiseleuria procumbens*, види роду *Salix*). Найбільш життєздатне вегетативне потомство формується під час партикуляції середньовікових генеративних особин. У цьому випадку спостерігаємо найвищий ступінь омолодження потомства й, окрім цього, найвищу варіабельність шляхів онтогенезу партикул.

Під час партикуляції генеративних середньовікових особин, що призводить до вегетативного розмноження, життєвість материнських особин є визначальною щодо подальшого вікового стану партикул [19]. Партикули особин високої життєвості можуть омолоджуватися до прегенеративного стану – переважно до іматурного або віргінільного. Інші набувають ознак молодих генеративних або зберігають середньовіковий генеративний стан. Партикули особин низької життєвості мають меншу здатність до омолодження. Формується менший відсоток іматурних і віргінільних партикул, а більшість партикул розвиваються як старі генеративні або субсенільні й сенільні.

#### **Темпи онтогенезу і життєвість особин за сприятливих і несприятливих умов**

Загалом за сприятливих умов темпи онтогенезу особин високі, що зумовлює швидке проходження, зокрема, пререпродуктивних фаз [13]. Однак прискорений перехід до репродукції може зумовлювати два типових варіанти подальшого життєвого циклу таких особин. Вони істотно відрізняються й зумовлені передусім життєвістю особин.

В одному випадку – що притаманне особинам високої життєвості – репродуктивна фаза є тривалою і становить максимальну частину їхнього життєвого циклу [14]. В іншому випадку, якщо в особин порівняно низької життєвості настає фаза репродукції, то вона призводить до їхнього виснаження й подальшого скорочення тривалості життєвого циклу в генеративній і постгенеративній фазах. Такий шлях розвитку притаманний особинам із



малою кількістю нагромаджених поживних речовин у запасуючих органах. У цьому випадку може змінюватися тип життєвого циклу. Наприклад, монокарпічний життєвий цикл з відмиранням особин після першого цвітіння і плодоношення відзначається в *Heracleum carpathicum* (у популяції на г. Шпиці). Водночас в інших популяціях цього виду властивий життєвий цикл полікарпічного багаторічника.

Прискорений перехід до генеративної фази з подальшим формуванням і збереженням високої життєвості протягом тривалого періоду більш притаманний евритопним видам рудеральної або конкурентної стратегії, ніж рідкісним стрес-толерантам. За умов оголення ґрунту, наприклад, після локальних зсувів, у високірих угрупованнях різко активується репродукція та збільшується життєвість особин, зокрема, насіннева продуктивність *Calamagrostis villosa* (Chaix) J. F. Gmelin, *Hypochoeris uniflora* Vill., *Gnaphalium norvegicum* Gunn., *Cirsium waldsteinii* Rouy, *Phyteuma vagneri* та ін. [13]. Аномально прискорений перехід до генерування, простимульований оголенням ґрунту і появою вільної ніші для розвитку насінневого потомства, може призводити до формування неповноцінних суцвіть і нежиттєздатного насіння (*Leontopodium alpinum*, г. Драгобрат). У інших рідкісних видів (*Ranunculus thora*, *Saussurea alpina*) характерною ознакою прискореного розвитку і переходу до репродуктивного стану є їхня тимчасовість [7, 13]. Переважно вже наступного року відбувається реверсія, припинення репродукції та повернення до попереднього або й нижчого рівня життєвості.

Помірно сприятливі умови забезпечують високу тривалість як окремих вікових етапів, так і повного онтогенезу загалом. Однак для кожного етапу онтогенезу чинники, які зумовлюють життєвість особини, – різні. Тобто умови, необхідні для існування та певного рівня росту й розвитку особини (потенційні екологічні ніші) постійно змінюються під час її онтогенетичного розвитку. Найбільш відмінні вони між фазою підросту і середньовіковими генеративними особинами [13].

#### Розвиток особин за вегетативного і генеративного розмноження

Особини насінневого та вегетативного походження істотно відрізняються за різноманітними параметрами росту і розвитку. Відомо, що генети мають вищі показники за такими ознаками життєвості, як: розмір особин, кількість вегетативних і генеративних пагонів, інтенсивність розвитку підземних органів [18]. Істотно відрізняються життєвість і тривалість як повного онтогенезу, так і окремих вікових фаз у видів, що розмножуються насінням від вегетативно активних видів [13]. Окрім того, для видів із вегетативним розмноженням життєвість і тривалість життя відрізняються у морфологічно цілісних особин та партикул. У вегетативно рухливих видів на першій стадії життєвого циклу їхня цілісність зберігається переважно до досягнення ними середньовікового або старого генеративного стану. Їхній абсолютний і відносний вік збігаються. Вік таких особин значний і переважно набагато більший, ніж відносний вік партикул, які розвиваються після вегетативного розмноження. У *Rhododendron myrtifolium*, наприклад, вік особин насінневого походження у стані  $g_2$ - $g_3$  сягає більше 100 (120–150) років. Водночас у партикул  $g_2$ - $g_3$  відносний вік налічує до 40 (50) років (табл. 1).

У *R. myrtifolium* відзначено високу життєвість вегетативного потомства. Відмінностей життєвості особин за ознаками росту, розвитку і репродукції, залежно від їхнього біологічного віку, не виявлено. Високий ступінь омолодження вегетативного потомства забезпечує для особин повноцінне функціонування протягом багатьох десятків років.

Істотно змінюються темпи розвитку та життєвість особин і популяцій унаслідок дії різних антропогенних чинників. *R. myrtifolium* особливо вразливий до витоптування, за

впливу якого всі показники життєвості особин істотно менші, а процес відновлення тривалий (табл. 1).

Таблиця 1

Ознаки життєвості особин у субпопуляціях *Rhododendron myrtifolium* за різних умов існування (г. Брескул-Пожижевська, 1600–1700 м н. р. м., пн.)

Умови оселища субпопуляції	Віковий спектр субпопуляції, %	Ознаки життєвості особин g3					Життєвість особин
		Щільність, ос./м <sup>2</sup>	Чисельність пагонів на особину, паг./ос.	Висота (довжина) особин, см	Приріст особин на рік, см	Вік особин, роки	
Ріст генет без вегетативного розмноження, без антропогенного впливу							
На скельних відслоненнях	5j, 5im, 20v, 10g <sub>1</sub> , 10g <sub>2</sub> , 15g <sub>3</sub> , 30ss, 5s	0,2	146,0	173,0	0,8	120	Висока
Ріст рамет без вегетативного розмноження, без антропогенного впливу							
Над скельними відслоненнями	20v, 30g <sub>1</sub> , 5g <sub>2</sub> , 35g <sub>3</sub> , 10ss	16,5	11,4	29,5	1,2	65	Висока
Ріст рамет з вегетативним розмноженням, без антропогенного впливу							
На мало-кам'янистому ґрунті	15im, 45v, 15g <sub>1</sub> , 10g <sub>2</sub> , 10g <sub>3</sub> , 5ss	7,6	5,6	28,0	2,3	40	Висока
Ріст рамет з вегетативним розмноженням, за демутації після витоптування							
На мало-кам'янистому ґрунті	10im, 30v, 20g <sub>1</sub> , 5g <sub>2</sub> , 15g <sub>3</sub> , 15ss, 5ss	1,2	7,4	23,5	1,6	45	Середня
Ріст рамет з вегетативним розмноженням, за впливу витоптування							
На мало-кам'янистому ґрунті	10v, 5g <sub>1</sub> , 5g <sub>2</sub> , 70ss, 10s	0,1	3,3	7,5	0,7	30	Низька

У сосни гірської за росту серед скель, коли полягання і вкорінення особин неможливе, тривалість їхнього життя може сягати також більше 100 років. У окремих випадках (г. Великий Козел, 1850 м н. р. м.) за висоти 3,8 м діаметр стовбура сягає 30 см, тобто втричі більше, ніж у вегетативно активних особин. Темпи росту й розвитку таких особин у стані g<sub>2</sub>-g<sub>3</sub> сповільнені, однак життєвість зберігається на високому рівні завдяки великій фітомасі, яка може у кілька разів перевищувати масу вегетативно рухливих особин.

Аналогічну залежність життєвості й темпів розвитку від віку відзначено у *Vaccinium myrtillus*. Унаслідок росту серед каменів і браку можливостей для вегетативної активності особини *V. myrtillus* досягають віку близько 30 років, тоді як вік вегетативно рухливих особин становить 9–10 років. Метричні параметри (товщина надземних і підземних пагонів, фітомаса) у 1,5–2 рази більші порівняно з вегетативно рухливими особинами.

Таким чином, у вегетативно активних видів за розвитку без вегетативного розмноження життєвість особин і їхній відносний вік істотно збільшуються.

#### Ефект автономного розвитку пагонів

Вегетативно активним видам притаманний ефект автономного розвитку пагонів і парціалей (парціальних кущів), у результаті якого значною мірою змінюється або навіть нівелюється вихідна життєвість материнських особин насінневого походження. Відтак, істотно змінюється життєвість партикул. Автономний розвиток парціалей характерний для видів поліцентричних типів біоморф. Це найтипівіше для сланких і шпалерних чагарників, а також для повзучих і довгочореневищних трав. Окремі парціалі завдяки досить авто-

номній кореневій системі, а також просторовій відмежованості, можуть відрізнятися за структурними віковими та віталітетними ознаками від інших парціалей у межах морфологічної особини. У *Rhododendron myrtifolium* виявлено високий ступінь автономності не лише вкорінених парціалей, але й невикорінених надземних пагонів. Ефект автономності пагонів у *R. myrtifolium* полягає у формуванні в межах одної особини надземних невикорінених багаторічних пагонів, котрі за різних мікроумов відрізняються ознаками морфогенезу під час онтогенезу особини настільки вагомо, що структурно і функціонально є достатньо автономними, а їхній розвиток стає подібним до розвитку парціалей. Найкраще простежується їхня автономність у середньовікових і старих генеративних особин. Сезонний і багаторічний розвиток пагонів у межах особини у *R. myrtifolium* більшою мірою залежить від мікроумов її оселища, ніж від вікового стану [13].

#### Ефект інерції життєвості особин і популяцій

Існує пролонгований вплив вихідної або попередньої життєвості особини на її короткотермінову перспективу. Це, так би мовити, інерція життєвості. Однак залежність між зміною умов середовища і життєвістю є складною, а не пропорційною. Особини порівняно швидше можуть зазнавати зменшення життєвості за умови настання несприятливих умов, однак збільшення життєвості у разі покращання умов існування відбувається порівняно повільно. Це зумовлене необхідністю акумуляції поживних речовин у надземних і підземних органах [5].

Ефект інерції життєвості особин і популяцій зумовлює поступову зміну життєвості за зміни умов їхнього існування. Для багаторічних видів за умов природної динаміки угруповань і оселищ зміна життєвості особин відбувається у переважній більшості між сусідніми її рівнями. Наприклад, за песимізації умов існування особини високої життєвості набувають спочатку середньої, а згодом можуть перейти в ранг низької життєвості. Лише різкі екзогенні впливи, які призводять, наприклад, до ушкодження особин, можуть спричинити раптове зниження їхньої життєвості або відмирання [12, 14].

Найповільніше відбуваються процеси переходу особини низької життєвості в ранг високої. У разі постійних сприятливих змін середовища існування особини низької життєвості набувають спочатку середнього рівня й лише після цього можуть досягти високого рівня життєвості. Такий процес є багаторічним. Для істотного збільшення життєвості має відбутися поступове її нагромадження. Короткотривалий стрибкоподібний перехід із низького на високий рівень життєвості відзначено лише в популяціях окремих видів унаслідок раптової появи поряд з особинами вільної від конкуренції ніші, сприятливої для розмноження. Прикладами можуть бути стрімкі активації онтогенетичного розвитку і репродукції в популяціях під час порушень ґрунту і появи умов для розширення репродуктивної ніші [13].

Стабільність життєвості характерна за умов стабільності фітоценотичної ситуації в угрупованні загалом. У разі істотної зміни позицій едифікаторів і субедифікаторів життєвість особин і популяцій асектаторів змінюється пришвидшено. Найбільший вплив спричиняють зміни ценозоутворюючих позицій між видами відмінних життєвих форм і стратегій [9]. Наприклад, підвищення позицій чагарників дуже прискорює пониження життєвості чагарничків і особливо трав. Аналогічно, підвищення ценозоутворюючих позицій більш високорослих конкурентних видів чагарничків і трав спричиняє зниження життєвості низькорослих малоконкурентних геліофітів, до яких належить більшість рідкісних видів.

Життєвість особин і популяцій зумовлює певний вплив на темпи й ритміку їхнього сезонного розвитку [6]. За вищої життєвості особин їхній розвиток швидший, що проявля-

ється у порівняно ранішому початку фенофаз. Показовою є різниця у термінах і тривалості фази цвітіння та плодоношення. У тих ценозах, де едифікаторне значення популяції більше, спостерігається прискорене проходження фаз до цвітіння і триваліший період цвітіння. Це чітко простежується під час порівняння спряженого сезонного розвитку пар видів. Наприклад, порівнюючи феноритми *Vaccinium myrtillus* і *Vaccinium uliginosum*, спостерігаємо випереджуючий розвиток *V. myrtillus* (у середньому на 7–8 днів). Однак у лохиннику, де ценопопуляція *V. myrtillus* також високої щільності й життєвості, випередження в темпах розвитку спостерігається у *V. uliginosum*. Тривалість цвітіння позитивно пов'язана не стільки з чисельністю генеративних особин і пагонів, скільки з загальною чисельністю і щільністю, що зумовлене, очевидно, середовищевірним впливом виду.

Отже, відповідно до життєвих форм і способу розмноження, популяціям досліджених видів притаманна низка особливостей онтогенезу особин, зокрема, його загальної тривалості, варіабельності шляхів повного життєвого циклу та короткого онтогенезу парціалей і партикул. Окрім цього, як у межах подібних життєвих форм, так і видоспецифічно, є певні закономірності щодо взаємозалежності темпів розвитку й життєвості особин. На внутрішньо- і міжпопуляційному рівні ці властивості визначаються умовами середовища їхнього існування та варіюють у широкому діапазоні.

#### Загальні особливості онтогенезу й життєвості особин залежно від умов оселищ

На прикладі кількох десятків ізольованих популяцій і ценопопуляцій узагальнено особливості онтогенезу й життєвості особин у модельних рідкісних видів трав'яних багаторічників високогір'я Українських Карпат залежно від умов оселищ (табл. 2). За сприятливих (оптимальних) умов існування [10] спостерігаємо послідовний онтогенез із проходженням особинами усіх вікових станів. Прикметно, що темп розвитку під час фаз підросту – швидкий, а репродуктивний стан максимально тривалий. У репродуктивному періоді найтривалішим є середньовіковий або старий репродуктивний етап. За сприятливих умов особини середньовікового генеративного стану досягають найвищої життєвості. Відтак, такі «елітні» особини є індикаторами оптимальних умов не лише у внутрішньо-, але й у міжпопуляційному спектрі умов існування виду. Для них характерні найвищі параметри фітомаси й репродуктивних показників (насінна продуктивність, маса та схожість насіння тощо). Особини генерують щорічно, а перерви у цвітінні – непритаманні.

Таблиця 2

Узагальнені особливості онтогенезу й життєвості особин у популяціях модельних рідкісних видів трав'яних багаторічників високогір'я Українських Карпат залежно від умов оселищ

Популяція	Умови оселища	Темпи / тривалість онтогенезу, роки	Особливості онтогенезу	Життєвість особин
<i>Ranunculus thora</i> <i>Primula halleri</i>	Оптимальні	Швидкі / середня, 15–25 р.	Онтогенез послідовний, стан g тривалий	Висока
<i>Leontopodium alpinum</i> <i>Gentiana acaulis</i> <i>Doronicum clusii</i>	Проміжні	Середні / велика, 25–40 р.	Аберації онтогенезу, усі вікові стани тривалі	Середня
<i>Saussurea alpina</i> <i>Oreochloa disticha</i> <i>Pulsatilla alba</i>	Песимальні	Повільні / середня, 15–30 р.	Пропуск g <sub>2</sub> , тривалий стан j-v	Низька
<i>Veronica alpina</i>	Критичні	Повільні / мала, 10–20 р.	Пропуск g <sub>1</sub> -g <sub>3</sub> , тривалий стан j-im	Низька

Найтриваліший онтогенез характерний для проміжних, тобто помірно сприятливих умов існування. У таких особин усі вікові етапи достатньо тривалі. Трапляються пропуски окремих фаз онтогенезу, аберації, реверсії та перерви у цвітінні генеративних особин. Оскільки генеративним особинам властиві перерви у цвітінні, то в окремі роки малі популяції представлені поодинокими квітучими особинами. Явище вторинного спокою відзначене у небагатьох рідкісних видів [13].

За песимальних умов особини особливо довго перебувають у підростових фазах розвитку – ювенільній та імагурній. За досягнення репродуктивного стану характерними є їхні невисокі репродуктивні показники, перехід зі стану молодих до старих, оминаючи середньовікову фазу. За таких умов не формуються особини високої життєвості. Репродуктивний період короткочасний. Однак життєвий цикл за тривалістю є рівновеликим з онтогенезом особин у сприятливих умовах, що забезпечується довготривалими періодами підросту.

У критичних умовах особини не набувають здатності до репродукції. Більшу частину життєвого циклу перебувають у ювенільному й імагурному стані. Життєвість особин найнижча.

Під час погіршення умов росту спостерігається виражений перерозподіл у бік зменшення частки генеративних особин у структурі популяцій або збільшення ролі вегетативного розмноження як способу самопідтримання.

Підсумовуючи, варто відзначити, що найбільший вплив на життєвість особин та популяцій мають зміни ценозоутворюючих позицій між видами відмінних життєвих форм і стратегій.

Істотно відрізняється життєвість особин і тривалість як повного онтогенезу, так і окремих вікових фаз у видів, що розмножуються насінням від вегетативно активних видів. У вегетативно активних видів за умов розвитку без вегетативного розмноження життєвість особин і їхній відносний вік істотно збільшуються. Внаслідок ефекту автономного розвитку пагонів і парціалей значною мірою змінюється життєвість вегетативних діаспор порівняно з вихідною життєвістю материнських особин.

Існує пролонгований вплив вихідної життєвості особини на її короткотермінову перспективу. Ефект інерції життєвості особин і популяцій зумовлює поступову зміну життєвості за мінливих умов їхнього існування. Для багаторічних видів за умов природної динаміки угруповань і оселищ зміна життєвості особин відбувається у переважній більшості між сусідніми її рівнями. Лише різкі несприятливі екзогенні впливи можуть спричинити раптове зниження їхньої життєвості. Найповільніше відбуваються процеси переходу особин низької життєвості у ранг високої.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білонога В. М. Онтогенез та популяційна структура *Adenostyles allariae* (Gouan) A. Kerner (Asteraceae) в Українських Карпатах // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 29. С. 69–76.
2. Жиляев Г. Г. Жизнеспособность популяций растений. Львов: ЛПМ НАНУ, 2005. 304 с.
3. Жиляев Г. Г. Роль віталітетної диференціації в насіннєвому поновленні популяції *Нотогуне альпін* (*L.*) Cass. (Asteraceae) на субальпійському лузі Чорногори (Карпати) // Чорномор. ботан. журнал. 2015. Т. 11. № 2. С. 165–177.
4. Жукова Л. А., Зубкова Е. В. Демографический поход, принципы выделения онтогенетических состояний и жизненности, поливариантность развития растений // Вестн. Тверского гос. ун-та. Сер. биология и экология. 2016. Вып. 4. С. 169–183.

5. Злобин Ю. А., Скляр В. Г., Клименко А. А. Популяции редких видов растений: теоретические основы и методика изучения. Сумы: Университетская книга, 2013. 439 с.
6. Кияк В. Г. Структура ценопопуляций растений в альпийских сообществах Карпат: автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.16 «Экология». Днепропетровск, 1989. 16 с.
7. Кияк В. Г. Структура і динаміка популяцій *Leontopodium alpinum* Cass. в Українських Карпатах. Загроза зникнення // Наук. вісн. Нац. лісотех. ун-ту України: зб. наук.-техн. праць. Львів, 1999. Вип. 9.9. С. 194–201.
8. Кияк В. Г. Методи досліджень // Внутрішньопопуляційна різноманітність рідкісних, ендемічних і реліктових видів рослин Українських Карпат / [Царик Й. В., Жиляєв Г. Г., Кияк В. Г. та ін.]; за ред. М. Голубця і К. Малиновського. Львів: Поллі, 2004. С. 31–38.
9. Кияк В. Г. Ценозоутворювальне значення аркто-альпійських видів у сукцесійних фітоценозах високогір'я Українських Карпат / В. Г. Кияк, В. М. Білонога, А. К. Малиновський // Наук. вісн. Нац. лісотех. ун-ту України: зб. наук.-техн. праць. Львів, 2007. Вип. 17.3. С. 42–47.
10. Кияк В. Г. Алгоритм життєвого циклу і динаміка екологічної ніші популяції рослин // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 109–118.
11. Кияк В. Г. Методичні аспекти дослідження малих популяцій рідкісних видів рослин високогір'я Карпат // Наук. вісн. Волин. нац. ун-ту імені Лесі Українки. Біол. науки. 2008. № 3. С. 298–303.
12. Кияк В. Г. Варіабельність онтогенезу особин у популяціях рідкісних видів рослин високогір'я Українських Карпат // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. Львів: Ін-т екології Карпат НАНУ, 2012. Т. 3(10). № 1. С. 77–92.
13. Кияк В. Г. Малі популяції рідкісних видів рослин високогір'я Українських Карпат. Львів: Ліга-Прес, 2013. 248 с.
14. Кияк В. Г. Життєвість (*vitalitet*) як інтегральний показник стану популяції у рослин // Біол. студії. 2014. Т. 8. № 3–4. С. 273–284.
15. Кобів Ю. Й. Словник українських наукових і народних назв судинних рослин. К.: Наук. думка, 2004. 800 с.
16. Коваленко І. М. Віталітетна структура популяцій вегетативно-рухомих рослин в лісових екосистемах // Вісн. Черкас. ун-ту. Сер. Біол. науки. 2016. № 1. С. 51–58.
17. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. К.: Морион, 2001. 408 с.
18. Леонова Т. В. Механизмы адаптации *Coluria geoides* (Pall.) Ledeb. к различным экологическим факторам // Modern Phytomorphology. 2013. Vol. 4. С. 143–146.
19. Малиновський А. К., Білонога В. М. Кореляції морфометричних параметрів рослин на популяційному рівні // Наук. зап. держ. природозн. музею. Львів, 2003. Т. 18. С. 157–168.
20. Малиновський К. А., Царик Й. В., Жиляєв Г. Г. та ін. Структура популяцій рідкісних видів флори Карпат. К.: Наук. думка, 1998. 176 с.
21. Мінарченко В. М. Життєва стратегія сировинно значущих видів лікарських рослин України та її реалізація в умовах трансформованого навколишнього середовища // Укр. ботан. журнал. 2007. Т. 64. № 5. С. 667–675.
22. Олейникова Е. М. Онторморфогенез и структура популяций стержнекорневых травянистых растений Воронежской области. Воронеж: ВГАУ, 2014. 366 с.
23. Царик Й. В., Жиляєв Г. Г., Кияк В. Г. та ін. Внутрішньопопуляційна різноманітність рідкісних, ендемічних і реліктових видів рослин Українських Карпат. Львів: Поллі, 2004. 198 с.

24. Царик Й. В., Малиновський К. А., Жилияєв Г. Г. та ін. Стратегія популяцій рослин у природних і антропогеннозмінених екосистемах Карпат. Львів: Євросвіт, 2001. 160 с.
25. Ценопопуляції рослин (основные понятия и структура). М.: Наука, 1976. 216 с.
26. Ценопопуляції рослин (очерки популяційної біології). М.: Наука, 1988. 184 с.
27. Червона книга України. Рослинний світ. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.
28. *Falicska K.* Przewodnik do badan biologii populacji roslin. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002. 587 s.
29. *Klymenko H. O., Kovalenko I. M.* Basic approaches to determining stability of populations of rare plant species // Біол. студії. 2016. Т. 10. № 2. С. 123–132.
30. *Manning P., Houston K., Evans T.* Shifts in seed size across experimental nitrogen enrichment and plant density gradients // Basic Appl. Ecol. 2009. Vol. 10. Issue 4. P. 300–308.
31. *Matthies B.* The genetic and demographic consequences of habitat fragmentation for plants: examples from declining grassland species // Bundesamt fuer Naturschutz, Bonn. Schriftenr. Vegetationskunde. 2000. H. 32. S. 129–140.
32. *Ramula S., Dinnütz P., Lehtilä K.* Spatial data replacing temporal data in population viability analyses: An empirical investigation for plants // Basic Appl. Ecol. 2009. Vol. 10. Issue 5. P. 401–410.
33. *Viard-Crütat F., de Bello F., Eriksson O.* et al. Filtering of seed traits revealed by convergence and divergence patterns in subalpine grasslands // Basic Appl. Ecol. 2011. Vol. 12. Issue 5. P. 423–431.

*Стаття надійшла до редакції 22.01.21*

*доопрацьована 16.02.21*

*прийнята до друку 23.02.21*

---

**RELATIONSHIP BETWEEN THE DEVELOPMENTAL RATE AND INDIVIDUAL VITALITY IN POPULATIONS OF RARE PLANT SPECIES IN THE HIGH-MOUNTAINS OF THE UKRAINIAN CARPATHIANS****V. Kyyak<sup>1</sup>, V. Shtupun<sup>2</sup>***<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine**<sup>2</sup>Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine  
e-mail: vlodkokyjak@ukr.net*

The article presents an overview of long-term research and numerous publications on the relationship between developmental rate and individual vitality in populations of rare and endemic plant species in the high-mountain zone of the Ukrainian Carpathians: a case study on *Ranunculus thora*, *Primula halleri*, *Leontopodium alpinum*, *Gentiana acaulis*, *Doronicum clusii*, *Saussurea alpina*, *Oreochloa disticha*, *Pulsatilla alba*, *Rhododendron myrtifolium*, *Senecio carpathicus*, *Festuca carpatica*, *Heracleum carpaticum*, *Phyteuma vagneri* etc. Stationary in-situ research was conducted at the study sites founded 5–30 years ago. The greatest impact on the individual and population vitality is caused by the position changes in coenosis of the species of different life forms and strategies. Increasing of the shrub positions accelerates the decreasing of vitality of low shrubs and grasses especially, and vice versa, increasing of the coenotic position of high-growing shrubs and grasses causes the vitality decrease of short-growing heliophytes, including most of the rare species.

The individual vitality and population viability determines some influence on the dynamics of their seasonal development. The individual development is faster at higher vitality level. It results in the relatively earlier beginning of phenophases. In the coenoses where the value of population as ecosystem engineer is higher, the accelerated dynamics of pre-flowering phases and longer flowering period is observed.

The individual vitality and relative age of vegetatively active species increase significantly under the developmental conditions without vegetative reproduction. The vitality of vegetative diaspores significantly change due to the effect of autonomous development of shoots and ramets in comparison to the original vitality of maternal individuals. The effect of inertia of individual and population vitality consists in the gradual change of their vitality under the changeable conditions of their existence. Only drastic adverse exogenous effects can cause a sudden decrease of their vitality. Processes of the transition of low vitality individuals to the high rank are the slowest ones.

*Keywords:* plant population, ontogenesis, vitality, high-mountains, Ukrainian Carpathians



## НОМЕН «ЩУР» ЯК УКРАЇНСЬКА НАЗВА ССАВЦІВ РОДУ *ARVICOLA*: ІСТОРИЧНІ Й ЕТИМОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

### І. Загороднюк

Національний науково-природничий музей НАН України  
вул. Богдана Хмельницького, 15, Київ 01030, Україна  
e-mail: [zoozag@ukr.net](mailto:zoozag@ukr.net); orcid: 0000-0002-0523-133X

Розглянуто давній український зоонім «щур», який здавна вживали на позначення різних істот, проте найбільш часто – на позначення великорозмірних норових гризунів, що представлені в аборигенній фауні України родом *Arvicola*. Одночасно цю назву також застосовують як синонім до слова «криса». У такому розумінні часто ототожнюють з родом *Rattus* (пацюк) для позначення різноманітних великорозмірних гризунів із дальніх країв за принципом «малі = миші, великі = криси». Через це назву «щур» нерідко вважають неоднозначною, а тому вартою або забуття, або використання лише на позначення чужорідних видів тварин. Розглянуто етимологічні гіпотези, з яких найвідповіднішою до зоологічних особливостей є та, що пояснює зв'язок із норами, землею, ніччю. Такий комплекс ознак формує загальний екоморфологічний тип – підземні довгохвості великорозмірні мишоподібні гризуни з вираженою нічною активністю і помітним рівнем шкодочинності й небажаністю їхньої появи в людських господарствах. Проаналізовано історію вжитку назви «щур» у спеціальній літературі, насамперед у зоологічних оглядах та інших зоологічних публікаціях, що охоплюють період від 1874 до 2020 років. Показано широке вживання номена для позначення різних груп тварин, а надто гризунів екоморфологічного типу «великих мишей», до яких належать представники родів *Arvicola* та *Rattus*. Аналіз давніх джерел показав, що назва «щур» первинно вживалась як спільна «родова» назва для всіх видів і окремих внутрішньовидових форм цих двох родів, а відмінності різних «щурів» відбивалися у видових означеннях – щури водяні, земляні, мандрівні, підвальні, чорні, корабельні, млинарські тощо. Однозначна фіксація українських родових номенів як відповідників родових наукових назв потребувала типіфікації назв. Така типіфікація відбулася в українській науковій номенклатурі наприкінці XIX - на початку XX ст. Як результат, назву «щур» запропоновано закріпити за родом *Arvicola*, а для роду *Rattus* фіксувати як український відповідник номен «пацюк». Наведено аргументи на визнання давності зооніма «щур» і тому на визнання його важливості для позначення саме аборигенних видів гризунів, а надто «водяних щурів» (*Arvicola amphibius*) і загалом щурів як роду *Arvicola*. Практика традиційного позначення «щурами» лабораторних пацюків, як і використання назви «щур» з відповідними характеристиками для позначення інших родів – ондатр (мускусний щур, або мускусний пацюк), нутрій (болотяний щур, або болотяна криси) та різноманітних представників віддалених фаун (бамбукові, або голчасті щури тощо) в українській зооніміці має відійти в минуле.

*Ключові слова:* зоологічна термінологія, українська зооніміка, назви гризунів, таксономія ссавців, фауна України

Ця розвідка присвячена проблемі унормування терміна «щур» на позначення одного з родів ссавців, поширених у фауні України, одному з найдавніших зоонімів, з яким пов'язано чимало інших слів як загальної, так і спеціальної лексики. На сьогодні здався усталеним погляд, що «щур» – це гризун роду *Arvicola* з родини Cricetidae (у вузькому розумінні – Arvicolidae). Цей номен, судячи з його поширення в різних значеннях, дуже

давній: під такою назвою в українській зооніміці відомі принаймні два роди гризунів (водяні й хатні шури) і три роди птахів (щурки, шурики і шурі), а також численні приклади вживання, напевно, спільнокореневого «пращур» на позначення давно померлих предків.

Тому за виникнення омонімії, зокрема, очевидної омонімії щодо гризунів, та за вибору вернакулярного відповідника до наукової назви треба зважати на кілька особливостей, серед яких головні такі: 1) аналіз практики й частоти вживання назви, 2) давність вживання назви для позначення різних об'єктів різноманіття, 3) відповідність назви природній історії видів (зокрема, недоцільність перенесення назв аборигенних видів на чужорідні).

Авторська позиція полягає у відповідності назви «щур» роду *Arvicola* (напр.: [12, 13, 18, 19] та ін.), проте регулярні дискусії щодо цієї теми спонукали автора до викладу аргументів на користь такої відповідності. Окрім того, оскільки це одне з найдавніших позначень видів дикої фавни, нарівні з номенами «миша», «куна», «вовк», «кінь» тощо, історія його вживання становить значний інтерес.

Завданнями цього дослідження стали: розгляд етимологічних гіпотез щодо номена «щур» із викладом авторської гіпотези, яка додатково аргументується біологічними особливостями тварин, аналіз проявів зміщення в застосуванні назви з аборигенних на чужорідних тварин, розгляд історії вжитку назви в зоологічних працях різного часу, починаючи з найдавніших джерел. Матеріалом послуговували численні довідкові та словникові видання, публікації зоологів і багаторічний досвід вживання вернакулярної назви «щур» як зооніма на позначення середньорозмірних гризунів зі складу аборигенної теріофавни України.

#### **«Щур» як давня назва і топоніми від «щур»**

Назва «щур» за всіма етимологічними словниками подається як давня, праслов'янська (šćurъ), тому пов'язувати її з чужорідним для нашої фавни видом, експансія якого відбулася нещодавно (починаючи зі середини XIX ст.) і триває дотепер, абсолютно недоцільно. Тому всі розглянуті тут факти свідчать на користь застосування назви «щур» до аборигенних ссавців, власне, до гризунів роду *Arvicola*, а надалі також до прийшлих *Rattus* (пацюків).

Важливі аргументи на користь давності номена «щур» (принаймні більшої давності порівняно з часом появи на теренах України пацюків) – численні топоніми, відомі для різних регіонів України, як західних, так і східних. Серед них – с. Щуровичі Львівської обл. з 1538 р., с. Щурівці Вінницької обл. з 1545 р., с. Щурин Волинської обл. з 1604 р., с. Щурівка Чернігівської обл. з 1649 р., с. Щурове Донецької обл. з 1791 р., а також Щурі, Щурівчики тощо; є також і р. Щурова на Донеччині (права притока Вовчої).

#### **Аналіз енциклопедичних етимологій слова «щур»**

Найпоширеніше тлумачення слова «щур» – позначення ним великорозмірних гризунів, насамперед тих, що становлять у зоологічній систематиці роди *Arvicola* та *Rattus*, тобто «водяні шури» і «хатні шури», або «пацюки» [41]. Зоологічна компонента з аналізом використання номена «щур» як назви гризунів розглянута в другій (зоологічній) частині цієї публікації. Тут важливо зазначити, що вона широко вживана для цих двох родів ссавців, а також для трьох родів птахів (шура, щурки, шурика). Нерідко назву «щур» використовують як позначення будь-яких великорозмірних гризунів (докладніше далі).

Серед інших тварин, яких подають у тлумаченні слова «щур», окрім гризунів і птахів, є цвіркун, дощові черв'яки, ящірки, коники, таргани тощо [41: 516, 53: 1615]. Важливими є також пояснення споріднених слів у інших мовах: так, окрім уже згаданих щурів-птахів, є й комашині назви: *болг.* шурец – «цвіркун; коник», *сербохорв.* штурак – «цвіркун; коник», *словен.* ščurek – «тарган; цвіркун», *псл.* шоуръ — «цвіркун; цикада».

У чеському етимологічному словнику є й згадка скорпіона, назву якого «štír» наводять як споріднену з польським «szczur», хоча й зазначають, що тут бракує наукової аргументації певного походження.

А. Преображенський до переліку комах із назвами «щур» додає капустянку [47: 121] – типового норového мешканця і шкідника городини, й асоціює слово з «пращур» і «чур».

Ще один важливий номен, який має очевидний зв'язок зі «щуром», – «чур». Серед тлумачень останнього вказують «край», «межа», «чорт», а також *укр.* «щуратися», *болг.* «щур», *польське* «сиг», а слідом і «пращур», засвідчене на поч. XVII ст. у формі «чур» [63: 397].

### Норова гіпотеза

Спільна риса більшості зоологічних позначень, наведених вище, – та, що назва «щур» часто позначає норových мешканців – як гризунів, так і птахів, а також комах (насамперед цвіркунів). Нерідко цей номен застосовують і до ящірок та саламандр, котрі використовують нори як сховища [4]. Вивчення «Енциклопедичного словника української мови» (ЕСУМ, т. 6: [41]) засвідчило наявність низки слів, що мають споріднені значення та близьку фонетику. Усі вони пов'язані з колом таких понять, як земля, ніч,нора. Серед них: чур (джерело), шурпа (мара), шурпатися (ритися), щая (час перед світанком), шезнути (зникнути), щеня (маля хижака [напевно, в норі]), щіль (шпара), щувак (соловей [нічний птах]), щупати (мацати), щуплий (худий).

Увесь цей набір слів і об'єктів пов'язаний із норовим життям, нічною активністю або і потойбіччям, властивим для вірувань давніх людей. «Норову» гіпотезу підтримує й В. Куйбіда [29: 220], зазначаючи, що «бджолоїдки, ластівки берегові, серпокрильці та ін. тварини (пацюки, вужі, дощові черв'яки тощо), які живуть унорах, мають назву щур»; те саме зазначають і дослідники орнітонімії: «Щуром раніше іменовали всіх, хто живе внорах або щілинах» [28: 98]. Назву «щурик» і «щурок» наводить Шарлемань [65] для виду, що тепер має назву «міська ластівка», *Delichon urbica* [58]. Особливість міської ластівки полягає в тому, що вона ліпить із глини не відкрите чашоподібне гніздо, а замкнену камеру з входом-ніркою. І важливо те, що ця назва доволі поширена. Крім зазначеної згадки в М. Шарлеманя (loc. cit., найімовірніше, з Кременчука), автор знає два віддалених місця з таким самим позначенням: «щурами» (щурі, з м'яким «і») *Delichon urbica* називають у Попільнянському районі Житомирщини (с. Мохначка, так називав їх дід автора) та в Бориспільському районі Київщини (с. Любарці, повідомив Г. Фесенко, від матері).

Подібне зауваження й щодо назви гризуна «щур» наведено в ЕСУМ стосовно Фасмерового припущення про ймовірний зв'язок із назвою птаха «щур»: щодо «щура» *Pinnicola enucleator* (назва російська, українською це «смеречник») дослідники вважають назву видозміною «щира, щирця» [28]<sup>1</sup>, проте стосовно обох типових для фавни України щурів-птахів – щурки (бджолоїдки) європейської *Merops apiaster* і ластівки берегової (щурика) *Riparia riparia* – висновок однозначний: це норові птахи, які ще й «зникають» на зиму. І їх, як і щура-гризуна, не могли не знати давні українці, тим паче, що й давні городища завжди були при високих берегах, де такі птахи гніздують. Можливо, історії з вирієм і різдвяним щедриком були пов'язані саме з цими «щурками/щуриками». Принаймні на сьогодні зрозуміло, що щедрівки були весняними піснями, пов'язаними з поверненням птахів із вирію.

<sup>1</sup> Цей вид не норовий, а тлумачення назви як видозміну ботанічної назви «щир, щирець» (тобто щирця, або амарант) приймають і українські дослідники [29: 220].

У цій історії є місце і для шурів-гризунів (*Arvicola*): вони, навпаки, взимку йшли до людських осель, комор, кагатів і садочків, виступаючи антиподами шуток/шуриків-пташок. Вони шкодили у господарстві, ховалися в норах, були активні вночі, позбутися їх непросто. Вони були ніби представниками потойбіччя, проте навесні зникали, йшли у природу.

Із важливих аналогій також варто сказати про гіпотезу стосовно «ур» (ur) у слові «шур» і споріднених номенах. Ур – це хвіст, а обидва «шурі» – як пацюки, так і водяні щури – виразно хвостаті, на відміну від куцохвостих хом'яків і ховрахів (сусликів). Важливо зазначити, що в Україні та суміжних країнах (зокрема, й в Угорщині) у народній таксономії був поділ середньорозмірних гризунів на куцохвостих (хом'як + ховрах) і довгохвостих (водяні та хатні щури). І раніше куцохвосту пару (хом'як + ховрах) нерідко називали й тепер часом називають спільним іменем «ховрах» (напр., [42]; більше тут: [19]). Тому цілком можливо (і навіть дуже правдоподібно), що назва «шур» була позначенням не так конкретного родовиду, як образу: шкодочинний хвостатий гризун, що приходить уночі зі своєї нори. Імовірно, слово *mures* = миші (множина від *Mus*) має подібні конотації щодо «шур» (мур/шур). Так само «-ur-» є в науковій назві вивірки (*Sciurus*), виразно хвостатого гризуна. Можливий зв'язок номена «шур» зі *Sciurus* (грецьким σκίουρος) згадує й О. Преображенський із покликанням на К. Штрекеля [47: 121].

#### **Про співвідношення «шур» і «пацюк»**

Вартує перевірити вжиток назви «шур» у найдавнішій літературі, надто щодо заходу України, звідки йшла експансія пацюка (*Rattus norvegicus*) і якого в Польщі та частково в Україні почали так само називати «щуром», як і щура водяного. У С. Петруського в «Природній історії ссавців галицьких» [70: 69] щура згадано як «Polnik (*Arvicola*)», зокрема «Polnik ziemnowodny (*Arvicola amphibius*)», проте були також і «Mysz szczur zwyczajny (*Mus rattus*)» та «Mysz szczur wędrowny (*Mus decumanus*)» (дослівно «щуряча миша звичайна» і «щуряча миша бродяча»). У О. Завадського [74: 27–28] в огляді «Ссавці Галичини й Буковини» були три тих самих види – «водяний», «звичайний» і «мишовий» щури: «*Hypudaeus amphibius* Illig. Szczur wodny», «*Mus decumanus* Linn. Szczur», «*Mus rattus* Linn. Mysz szczur» (перший – шур у поточному розумінні, два інших – з роду пацюк).

З цього ясно, що слово «шур» у польській мові первинно стосувалося і хатніх, і водяних шурів, а надалі в польській зооніміці для позначення роду *Arvicola* сформовано назву «корчовник» (Karczownik), натомість «Szczur» – позначення роду *Rattus* [69, 71]. В Україні цей процес розвинувся в бік фіксації назви «шур» за родом *Arvicola*. Це один із багатьох прикладів зміщення назв в українсько-польських термінологічних парах. Подібне сталося з «нетопиром» як родом кажанів в Україні, але назвою всіх кажанів у Польщі (а в російській, навпаки, «кожан» – це тільки один рід (*Eptesicus*), та з вживанням у польській «Płazu» (по суті «плазуни») для амфібій тощо.

Важливо згадати назву роду *Arvicola* в німецькій мові, фонетично дуже подібну до українського «щура». За німецькими словниками маємо таке тлумачення: «Schermäuse, *Arvicola*, Gattung der Wühlmäuse. Die tag- und nachtaktiven Schermäuse bauen Gangsysteme zum Teil dicht unter der Bodenoberfläche, erkennbar an der aufgewölbten Erde, und benutzen zusätzlich Maulwurfgänge. Schermäuse sind gute Schwimmer (im Volksmund „Wasserratte“») [72], тобто «Щури, *Arvicola* – рід полівок. Активні вдень і вночі, водяні щури будують системи підземних ходів під поверхнею ґрунту, пізнавані по спушеній землі, а також використовують кротові ходи. Водяні щури — хороші плавці, у народі їх називають водяними пацюками». Як відомо, давні українські номени часто виявлялися спорідненими

з лужицькими (наприклад, «миша», «горностай»), і не дивно, що назва «Schermäuse»<sup>2</sup> виявляється близькою до слова «щур». У цьому випадку маємо не тільки збіг у позначенні зоологічних об'єктів, а й виразну фонетичну подібність обох вернакулярних назв – німецької «Scher» і української «щур».

У продовження ідеї подібності «Scher» і «щур» важливо також відмітити, що й у географічно проміжній чеській мові «ščur = německá myš», що подібно до Schermäuse. Проте в сучасній номенклатурі ці назви вважаються давніми синонімами до словацького «Potkan» і угорського «Patkán» (фонетично подібно до «пацюк»), які тепер синонімізують із *Rattus norvegicus* та пов'язують із видозміною латинського *ponticana* («понтійська»); у той самий час сучасне угорське «roskok» = *Microtus*, а *Arvicola* = «kószarokok» (що можна перекласти як «бродячі звірі», хоча ясно, що «бродячими», «мандрівними» є саме *Rattus norvegicus*).

Усе це свідчить про надзвичайне перемішування понять «щур», «Scher», «пацюк», «криса», «roskok», «potkan» у багатьох суміжних умовах, що можна пояснити поступовим зміщенням понять через вселення у Європу *Rattus*, спочатку *Rattus rattus*, а слідом і *Rattus norvegicus*. У народній таксономії їх, очевидно, змішували, оскільки для господарів це, по суті, було однаковою бідою. Оскільки для невтаємничених у зоологію людей ці гризуни були «на одне обличчя», то це і призвело до змішування та подальшого зміщення назв.

#### **Назва «полівка» у позначеннях гризунів**

Назву «полівка» часто вживають для позначення всіх родів Arvicolidae (частину груп називають також «лемінгами»), проте в таксономічній літературі вживання обмежують родом «*Microtus*» із типовим видом *Mus arvalis* = *Arvicola arvalis* = *Microtus arvalis*, відповідниками чого були вернакулярні назви «миша польова» (*Mus arvalis*) → «полівка» (*Microtus*) [15].

Ця традиція вживання слова «полівка» породила безліч похідних назв для родів, які первинно були видами групи «*Mus arvalis*» – полівка звичайна (*Mus arvalis*), полівка лісова (*Mus glareolus*), полівка степова (*Mus lagurus*), полівка водяна (*Mus amphibius*) тощо. Проте надалі упродовж XIX і на початку XX ст. номен *Arvicola* став основним для більшості сучасних представників родини Arvicolidae загалом, а надто триби (групи родів) Arvicolini в сучасному її розумінні [15]. Останнє позначилося на тому, що загальним відповідником родинної назви Arvicolidae та всіх родів цієї родини стало «полівка».

Надалі цей номен уточнювали додатковими прикметниками, які позначали родові групи – *Arvicola* як «водяні полівки», *Terricola* як «чагарникові полівки», *Microtus* як «звичайні полівки» тощо. Тобто слово «полівка» стало родовою назвою, проте так само роль родових назв (у систематичному розумінні) виконували й названі біномени, через що почала розвиватися практика складних назв із двома означеннями – родовим перед іменником і видовим після нього, хоч інколи, всупереч традиції українського називництва, обидва означення ставили попереду («татранська чагарникова полівка», «водяна мала полівка»<sup>3</sup>). Подібна практика склалася і щодо номена «нориця», проте згодом запропоновано вживати замість «полівка» номен «нориця» [16]. Врешті, назву «нориця» закріплено за родом «лісових полівок», *Myodes* (syn. *Clethrionomys*) [19], і в новому переліку теріофавни для всіх систематичних родів застосовано уніномінальні назви, зокрема, «щур» для *Arvi-*

2 За етимологічними словниками (<https://www.dwds.de/wb/Schermäuse>), номен «Schermäuse» стосується «полівок», які ведуть кротовий спосіб життя (це типове для центральноєвропейських форм *Arvicola*), тобто «кротова миша», або «кротомиша».

3 Серед назв, які засвідчують недоречність таких практик, – «миша степова» з роду «мишей польових і лісових», або «лісова миша степова». Такі приклади, на жаль, також є.

cola [21]. Цим, згідно з ідеєю авторів, покладено край вживанню назв інших родів (криса, полівка, нориця, пацюк) для *Arvicola*, тобто щурів у вузькому (прийнятому тут) значенні. Проте різноманіття позначень не зникло.



Рис. 1. Щур водяний (*Arvicola amphibius*): у воді (ліворуч, автор Сапар) і на березі (праворуч, автор Петер Тріммінг); матеріал із Вікімедії (ліцензія Creative Commons Attribution 2.0)

### «Щур» як гризун, проте не «пацюк»

Номен «щур» здавна й широко застосовують для позначення будь-яких норкових тварин. Найвідомішим є позначення гризунів роду *Arvicola*, а часом і роду *Rattus*. Одночасно цю назву застосовують і до норкових птахів (див. вище). Зі значенням «у землі» пов'язано й формування номена «пращур». Окрім того, в зооніміці, надто стосовно чужорідних видів, закріпилася практика називати «щурами» дуже різні групи гризунів, що помітно більші за мишей, але мають «мишоподібний» вигляд, тобто фактично у значенні «великі миші» (див. далі).

У обсязі теріофауни України «щурами», крім «щурів водяних» (*Arvicola*), інколи називають також і пацюків [55: 611] – подібних за розмірами гризунів із родини Muridae. Ця традиція називництва особливо виразна у працях фізіологів, де слово «щур» часто вживають як жаргонну скорочену форму для тисячі «ліній» похідні від одомашненої форми пацюка сірого, *Rattus norvegicus domestica* [6], яку в англійській літературі позначають як «lab rat» (лабораторні пацюки) з групи «fancy rat» (декоративні пацюки). Щодо власне щурів (*Arvicola*), в українськомовній літературі термін «пацюк» майже не використовують (приклади див. далі, у розділі «Залучення інших номенів для позначення *Arvicola*»).

Номен «щур» дуже давній, він сформувався в українців задовго (фактично за тисячі років) до появи пацюків на теренах України. Ця назва відома з найдавніших джерел, натомість перші пацюки (*Rattus norvegicus*) з'явилися в Україні (Крим, Буковина, Галичина) в середині XIX ст. [17], і розширення ареалу на півночі та сході триває дотепер (рис. 2).

Однією з причин часткового перенесення вживання слова «щур» на рід *Rattus* можна вважати істотне скорочення частки *Arvicola* у складі природних, а тим паче синантропних місцезнаходжень, і фактично повну втрату сфери вжитку номена для дикої фауни. Понад те, широка експансія *Rattus norvegicus* по території України протягом XX ст. (рис. 2) на фоні його тотальної синантропізації привела до повного домінування пацюків у синантропних угрупованнях гризунів. Це стало одним із факторів перенесення вернакулярної назви з одного шкодочинного гризуна на іншого<sup>4</sup> і подальшого поширення цієї практики через санітарно-медичну літературу. Власне, тільки так можна пояснити появу номена «щур» в описах лінійних (білих) пацюків, яких дедалі частіше називали «лабораторними

4 Автор пам'ятає це з власної практики, коли дід організовував малечу на ремонт глиною призьби, поточеної щурами. Щурів розрізняли «хатніх» і «диких», які приходили «від берега».

щурами». Така практика в сільській місцевості збереглася на заході, на землях, що зазнали значного впливу польської мови.

Натомість у селах Центрального Полісся (зокрема, в центральних і північних районах Житомирщини), де пацюк сірий з'явився нещодавно, а в частині місць (зокрема, й у Поліському заповіднику) дотепер мешкає лише пацюк чорний (див. рис. 2), пріоритет у вжитку вернакулярних назв такий: для *Arvicola* – «щур» або «криса», для *Rattus* – «криса» (до 90 % позначень), «щур» (до 10 %, без розрізнення *Arvicola* + *Rattus*), і вкрай рідко «пацюк», фактично тільки як книжна назва (дані М. Весельського, С. Жили й автора).

Тобто власне пацюків (рід *Rattus*) називають переважно «крисами», а «щур» – спільна назва для щурів і пацюків (*Arvicola* + *Rattus*).

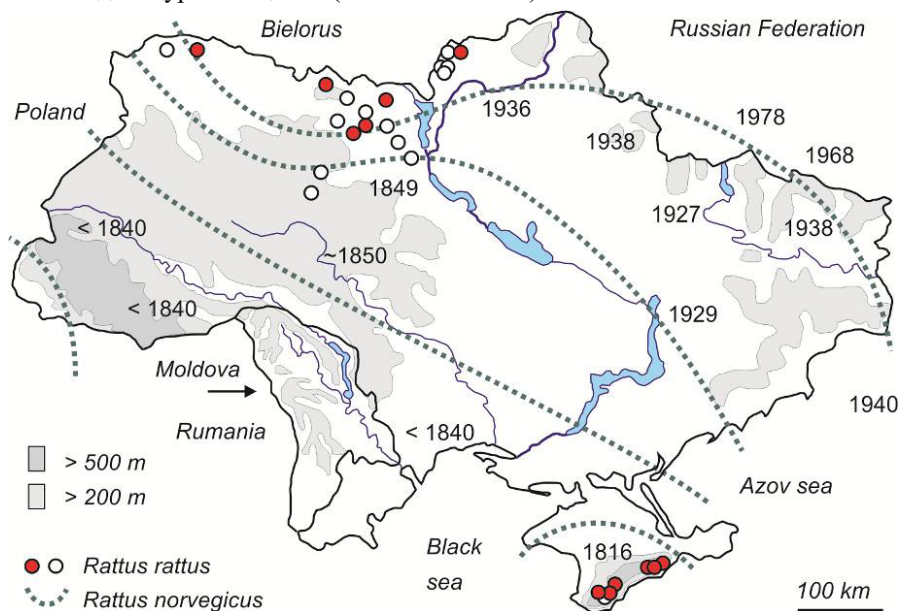


Рис. 2. Пацюки (рід *Rattus*) в Україні: сучасні знахідки *Rattus rattus* (кружки) та шляхи інвазії й подальшої експансії *R. norvegicus*. Щодо *Rattus rattus*, зафарбовані кружки позначають дані, які підтверджені зразками або прямими спостереженнями за останні кілька десятиліть (за: [11], із доповненнями). Стосовно *R. norvegicus*, числа вказують роки найдавніших згадок, а пунктирні лінії з'єднують райони експансії з подібними датами. Найдавніші знахідки *R. norvegicus* (1816 рік) походять зі Севастополя (за: [39])

### Щодо зооніма «криса»

Варто висловити й авторську позицію щодо згаданого зооніма «криса». Чимало колег вважають це слово росіянізмом, запозиченням. Із цим важко погодитися, оскільки маємо таких п'ять важливих фактів:

- 1) значне поширення зооніма «криса» на Поліссі й у частині районів лісостепу;
- 2) поширення номена «криса» в інших слов'янських мовах (напр., «krysa» у чеській мові для позначення *Rattus rattus* і більшості чужорідних великорозмірних гризунів);
- 3) наявність низки однокорінних або явно етимологічно пов'язаних слів на «кр\*», при цьому питома українських (крисаня = кресаня, кришити, кресати = гризти, крига, крижі, край);
- 4) наявність давніх і очевидно споріднених слів у інших мовах, зокрема, й наукових назв на позначення норових ссавців (кріт, *Cricetus*);



5) наявність номена «криса» у давніх словниках, зокрема, у Б. Грінченка (1909, т. 2, с. 307 [7]), а також прізвищ «Криса» у низки відомих українців<sup>5</sup>.

По суті, номен «криса» є гіперонімом для всіх «великих мишей», включно з *Arvicola* та *Rattus* (див. також далі найдавніші хроніки вживання назви «щур»), проте на відміну від «щура», що етимологічно тяжіє до поняття норového звіра, «криса» є позначенням шкідника, гризуна. На додачу до п'яти викладених аргументів нагадаю про поширену у філологічних довідниках (зокрема, у словацьких, де зоонім «криса» широко вживаний) етимологічну зв'язку між «krysa» і «gryzti». Це також свідчить про конотацію назви «криса» щодо шкодочинності.

#### Залучення інших номенів для позначення роду *Arvicola*

Використання назви «водяний пацюк» або «водяна криса», що прийнято в окремих джерелах, недоцільне, бо номен «пацюк» (напр., [45]) та «криса» (напр., [25]) стосуються іншого роду гризунів – *Rattus* із родини мишевих (Muridae). Так само недоцільно заміщати назву «щур» значно новішими назвами, що сформовані для позначення інших і навіть віддалених від *Arvicola* родів – полівки (рід *Microtus*) і нориці (рід *Myodes*). Використання назв інших родів для позначення *Arvicola* невиправдане, а деколи це калька з російської зооніміки, у якій домінують родові назви широкого обсягу, нерідко родинні, форматовані додатковими означеннями (напр., «водяная крыса малая», що українською означає «щур земляний»).

Приклади нестрогого використання зоонімів – поширене вживання неформатованих назв для позначення родин: «полівки» як усі арвіколіди, «миші» як усі муриди, «собаки» як усі каніди, що надто поширено у морфологів і палеонтологів. Приклад калькування з російського біномена «водяная крыса» – позначення «водяний пацюк» (напр. [26, 45]) та «водяна криса» (напр. [25]), а також ближчий за родинною адресацією біномен «водяна полівка» [46, 48].

Тому позначати щура водяного (*Arvicola amphibius*) асоціативно у стилі «криса, але водяна» чи «полівка, але водяна» за наявності власної уніноміальної назви цього гризуна нелогічно й не має сенсу. Слово «криса» як однозначне позначення пацюка засвідчене у «Словарі» Б. Грінченка (1907–1909): «**Криса, си**, ж. Крыса. *Вигляда, мов криса з крупів*. Ном. № 13791» [9: Т. 2: 307]. До того ж номен «пацюк» (= криса), на думку Верхратського, має бути синонімізований зі свинями: у своїх полемічних замітках він так і писав, проте вже у виданні 1922 року вказав так: «*Рудий щур (Mus decumanus, на Україні пацюк)*» [4: 27]. Зв'язок «паця» і «пацюк» очевидний: пацюки живуть біля паці та вгодовані як свині. Тобто слово «пацюк» також давнє і первинно позначало «поросся» (що явно впливає з текстів І. Верхратського), а лише згодом асоційоване з гризунами, що живуть біля поросят<sup>6</sup>.

5 Відомими прикладами з козацької доби є: Михайло Криса — наказний козацький полковник (XVII ст.); Герасим Криса — кошовий отаман Війська Запорозького (XVIII ст.), проте в ЕСУМ [2] прізвище вважається запозиченням. Попри це, важко вважати таке прізвище запозиченням за наявності місцевого зооніма, а так само виводити зоонім із прізвища, а не навпаки.

6 Версія в «Етимологічному словнику української мови» про те, що «жирний пацюк схожий на поросся» [2: 323] невдала. Як на автора, бо з наведених там само близьких слів більші відповідники – «пацькати» (= бруднити) та «пацкан» (= пацюк), в етимології й конотаційному навантаженні яких проглядається подібність до свині не так за вгодованістю, як за брудом («свиня» нерідко використовується як позначення неохайної або брудної особи); «паця» (= поросся) (там само, с. 323) найподібніша до пацюка, при цьому цей зв'язок позначає саме «біотоп» пацюка – живе біля паці. В ЕСУМ [2: 323] зазначено, що подібне до слова «пацюк» литовське *patsukas* запозичене з білоруської або польської мови.



Уникнення вживання і врешті переведення назви «щур» у синоніми іншого роду (насамперед як синонім до «пацюк» = *Rattus*) могло бути частиною програм зросійщення, бо в російськомовній літературі слова «щур» для позначення ссавців фактично нема. Понад те, у російській мові значна кількість назв ссавців – асоціативні біномени, при цьому з винесенням означення на перше місце на кшталт «водяная крыса». Практика вжитку біноменів у форматі «означення + номен», поширена в російській зоологічній номенклатурі, українській мові зовсім не властива [14, 22, 32], і назви «водяні щури» та «щур водяний» або «лісові миші» та «миша лісова» мають різне змістове навантаження.

#### **«Щури» та «пацюки» як великі «миші»**

Варто зазначити наявність широкого позначення «щурів» не як таксона, а як екоморфологічного типу гризунів, коли останніх поділяють на дрібних «мишей» і більших «щурів». Проте зовсім не в таксономічному розумінні як *Mus s. lato* та *Rattus s. lato*. Таке особливо поширене в описах віддалених фавн, для представників яких не сформовано української номенклатури. Тоді «щурами» можуть називати всіх великорозмірних гризунів, і то з найрізноманітніших родин, зокрема, у словниках і вікіпедійних проєктах. Серед таких назв – мускусний щур/пацюк = ондатра (*Ondatra*), шиншиловий щур/пацюк = аброкома (*Abracomia*), кролячий щур/пацюк = конілура (*Conilurus*), скельний щур = аконеміс (*Aconemys*), голчастий щур = щетинець (*Echimyus*) тощо.

Звісно, для таких випадків, коли слово «щур» з відповідним означенням (наприклад, «болотяний щур») використовується для формування асоціативної назви (в розумінні «[якась] щуроподібна істота»), схожі позначення будуть існувати тривалий час навіть після формування власних уніномінальних назв таких родів. Австралійські види ссавців дотепер часто називають асоціативними назвами, приміром, сумчасті ведмеді = коали, однак таких прикладів значно більше [60: 61]. Загальна тенденція засвідчує відхід від британських асоціативних назв і надання переваги місцевим вернакулярним назвам [68].

#### **Хроніка вживання назви «щур» для *Arvicola***

Створювати список літератури з усіма варіантами вживання і в усіх доступних джерелах немає жодного сенсу, бо їх багато. Ідеться про фавністичні зведення таких авторитетних дослідників, як М. Полянський, С. Желеховський, В. Храневич, М. Шарлемань, С. Паночіні, І. Підоплічко, О. Мигулін, І. Шнаревич, К. Татаринів, І. Сокур, А. Волох, І. Делеган, А. Булахов, О. Пахомов, І. Наконечний, В. Куйбіда та ін. Звісно, є і приклади заміни назви «щур» назвами інших родів (насамперед «водяна полівка», «водяна нориця», «водяна криса»), однак тут увагу зосереджено саме на номені «щур». Нижче наведено праці, що відображають приклади позначень роду *Arvicola* назвою «щур» у зоологічних виданнях різного часу і стосовно фавни різних регіонів:

1874. «Щуръ водный (*Hypudaeus amphibius*, eigentliche Watterratte, normik wielki)» [44: 35]. Коментар: Для видів роду *Rattus* автор подає назви «Щуръ домовый (*Mus rattus*, Hauseratte, szczur domowy albo sniady)» (с. 34) та «Щуръ прибудень (*Mus decumanus*, Wanderratte, szczur rudy czyli wędrowny)» (с. 35).

1886. «Щур ... а) *Mus decumanus*, б) *Mus rattus*, в) водний *Hypudaeus amphibius*» [10: 1108]; у статті після згаданих назв також наведено однокорінні назви інших тварин і рослин, зокрема, «щур, шура, шурець, шурик, шуриця, шурій, шурка»; широкий спектр назв засвідчує давність слова, тому асоціювати його з прийшлими *Rattus* не варто.

1920. «*Arvicola amphibius* – норик земноводний, водяний щур» [64: 37]. Коментар: назву «щур» дослідник вжив і для «*Epimys norvegicus* (Erxleb). Щур звичайний[,] або пацюк» та «*Epimys rattus* (L). Щур чорний» (с. 25).

1925. «*Arvicola amphibius* L. – Норик земноводний[,] або водяний щур» (також назву «щур» вжито для «*Epimys norvegicus* Erxl. – Щур звичайний[,] або пацюк» [62: 19].
1927. «*Arvicola amphibius* – норик земноводний[,] або водяний щур». [66: 13]. Подається і синонімією так: «*Arvicola amphibius* L. – див. *A. terrestris* L.; *Arvicola terrestris* L. – Норик земноводний[,] або водяний щур. Щур водний (Полян.), норик земноводний (Верх., Шар.)» [66: 13]<sup>7</sup>.
1931. «Крыса – щур; крыса водяная, *Arvicola amphibius* – щур водяний; *Epimys norvegicus* – щур звичайний, пацюк; *E. rattus* – щур чорний» [40: 33]. Коментар: С. Паночіні був упорядником картотеки назв, яку склали з повідомлень різних респондентів. З однотипності «родового» (у філологічному сенсі) номена випливає, що назва «щур» була спільна для всіх великорозмірних мишовидих гризунів.
1936. «*Arvicola amphibius* L. – звичайний водяний щур» [27: 46]. Коментар: назва «щур» також вжито для видів роду *Rattus* як «*Rattus norvegicus* Erxleb. – Звичайний щур» (с. 55) та «*Rattus rattus* L. – Щур чорний» (с. 56).
- 1937 «Водяний щур (*Arvicola amphibius* L.)» [43: 104]. Коментар: для видів роду *Rattus* вжито номен «пацюк», без синонімів.
1938. «Водяний щур звичайний – *Arvicola terrestris* L.» [36: 288–295].
1954. «Щур водяний звичайний (*Arvicola amphibius* L.)» [31: 77].
1954. «Водяний щур – *Arvicola terrestris* L.» [56: 52, 52–76].
1956. «Щур водяний (нориця водяна, водяна полівка) – *Arvicola terrestris meridionalis* Ognev» [57: 144].
1956. «Малий водяний щур *Arvicola scherman*» [37: 20], «донецький водяний щур *Arvicola amphibius tanaitica*» [37: 31], «водяний щур *Arvicola amphibius*» [37: 32] та ін.
1960. «Полівка водяна (*Arvicola terrestris*). Цю полівку часто називають *водяним щуром*» [52: 138]. Коментар: тогочасна відмова від наукової назви «*amphibius*» суперечила вернакулярній назві «водяний», чим і можна пояснити відмову автора від останньої, попри визнання її поширеною.
1997. «*Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758) – щур водяний, норича водяна», «*Arvicola scherman* (Shaw, 1801) – щур гірський, повх, водяний щур малий» [12: 22].
1999. «*Arvicola amphibius* – щур [нориця] водяний», «*Arvicola scherman* – щур гірський [повх]» [13: 207].
2000. «Щур водяний (*Arvicola terrestris* L.)» [5: 29].
2006. «*Arvicola terrestris* – щур (нориця) водяний» [3: 23], «Щур (нориця, криса) водяний. *Arvicola terrestris* Linnaeus (1758) [*Arvicola amphibius* Blasius, 1858]» [3: 23; 164–167].
2007. «Водяна полівка мала, щур гірський (*Arvicola scherman* Shaw, 1801)» [9: 40].
2008. «Щур водяний *Arvicola terrestris*» [38: 133].
2010. «Щур водяний (*Arvicola amphibius* L.)» [61: 32].
2011. «*Arvicolinae* – Щурові, *Arvicola* – Щур» [19: 129].
2011. «Щур гірський (*Arvicola scherman* Shaw)» [54: 126].
2012. «Щур (*Arvicola*)», «Щур водяний (*Arvicola amphibius*)» «Щур гірський (*Arvicola scherman*)» [20: 15–18].
2012. «Щур – *Arvicola*» (21: 16). Коментар у цитованій праці: «Назву «Щур» як один з най-

7 Для *Rattus* цей дослідник подає «*Epimys norvegicus* Erxl. – Щур звичайний[,] або пацюк. Пацюк (Верх. 1878), щур рудий (Верх. Зоол.), щур прибудень або прибудний (Полян.), щур (Раков.), мадзур (Поділля, Нік.), щур прибудла (Гуглер), щур звичайний[,] або пацюк (Шар)» [66: 18].

давніших зоонімів завжди асоціювали з *Arvicola* (напр., [8, 12, 13, 57], хоча деякий час цей рід позначали не відмінними від інших Arvicolidae назвами Полівка та Нориця» (с. 15).

2012. «Щур (*Arvicola*), якого часто наводять під чужими родовими назвами: водяна полівка, водяна нориця» [22: 27].

2013. «Родина Щурові (Arvicolidae): ... щур водяний (*Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758)); щур гірський (*A. scherman* (Shaw, 1801))» [49: 145].

2013. «*Arvicola amphibius* – щур водяний» [23: 194].

2013. «Полівка водяна (щур водяний) – *Arvicola terrestris* (Linnaeus, 1758)» [30: 38]. Коментар: автор паралельно вживає в ключі як другу (в дужках) назву «щур» для *Arvicola* та *Rattus*, проте в тексті подає опис *Rattus* як «Пацюк» (зокрема, «Пацюк сірий – *Rattus norvegicus* Barkenhout, 1769»).

2014. «Щур водяний (*Arvicola amphibius* L., 1758)» [1: 19].

2014. «Щур водяний – *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758)» [34: 32].

2015. «Щур водяний (*Arvicola amphibius*)» [59: 68].

2015. «Щурові (Норицеві), Arvicolidae. ... щур водяний, (нориця водяна) *Arvicola amphibius* Linnaeus, 1758)» [67: 116].

2016. «Щур водяний (*Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758))» [50: 206, 209].

2016. «Щур гірський (*Arvicola scherman* (Shaw, 1801))» [51: 135].

2017. «Щур (*Arvicola*)» [29: 132].

2019. «Родина щурові (Arvicolidae Gray, 1821) ...; щур водяний (*Arvicola amphibius*)» [33: 37–38].

Спостерігається певна еволюція позначень роду. У давніх виданнях назву «щур» застосовували фактично у «британському» сенсі – для всіх більших за мишей «мишоподібних» гризунів, в обсязі фавни України – для обох родів *Arvicola* та *Rattus*, позначаючи окремі види відмінними означеннями: щур водяний, земляний, рудий, чорний і навіть «звичайний». Ця традиція зберігалася тривалий час, насамперед через те, що всі огляди зазвичай містили описи видів і майже ніколи – родів, а використання родової (у філологічному сенсі) назви для різних зоологічних родів у поєднанні з різними означеннями (щур водяний, щур сірий) давало змогу уникати фактичної омонімії. Праць з українською номенклатурою родів, де застосування омонімів було би найпомітнішим, є небагато, і фактично вони почали з'являтися лише останнім часом. Врешті, саме тоді для уникнення омонімії і була зафіксована однозначність «Щур = *Arvicola*» [19, 21].

Ключем до такої фіксації став перехід до уніноміальних родових назв. Тому родова назва «водяна полівка» за значної кількості інших родів «полівок»<sup>8</sup> виявилася малоприматною для *Arvicola*, який, на відміну від інших родів, точно мав ще одне поширене позначення – «щур». І на додаток, обмежене вживання назви «щур» (в обсязі теріофавни України) двома родами, з яких один аборигенний (*Rattus* – однозначно вселенець), стало додатковим аргументом на користь позначення цим номеном саме роду *Arvicola*. Звісно, така фіксація потребувала й інших змін, не тільки видових біноменів, як «щур гірський, або повх – *Arvicola scherman*» (нерідко розглядають як підвид наступного виду) та «щур водяний – *Arvicola amphibius*».

#### **Вплив назви на позначення надродових таксонів**

Закономірні зміни сталися і в назвах надродових груп, зокрема, в назві родини, що охоплює рід *Arvicola*. Тривалий час її назва почергово мінялася між Muridae, Cricetidae,

<sup>8</sup> Зокрема, й тому, що «поле» і «вода» у назві «водяна полівка» так само складно поєднуються, як і «ліс» та «поле» у назві «лісова полівка» (що нічим не краще за «лісову мишу степову»).

Arvicolidae, Microtidae. Останні дві – суб'єктивні синоніми, з яких Arvicolidae старший (у зоології відповідно до принципів МКЗН [35]<sup>9</sup> пріоритет має давніша назва). Перші дві назви щодо *Arvicola* – по суті позначення надродин, а у разі визнання їх родинами ранг групи Arvicolidae (= Microtidae) знижується до підродинного. В огляді «Ссавців світу» [73] визнається родина Cricetidae з підродиною Arvicolinae, в огляді ссавців України прийнято вищі на один ранги, і Arvicolidae визнано як родину [21]. В обох випадках визнання пріоритету назви родини з позначенням типового роду як *Arvicola* потребує узгодження й назви родини [60].

Щодо типіфікації вернакулярних назв родин: подібні до українських позначень «*Arvicola* = Щур → Arvicolidae = Щурові» маємо так само в географічно близьких мовних спільнотах: польською «*Arvicola* = karczownik → Arvicolidae = Karczowniki», угорською «*Arvicola* = kószapocok → Arvicolidae = Pocokformák», проте словацькою «*Arvicola* = hryzec → Arvicolidae = hrabošovité» (тобто «полівкові»; фактично як і в російській).

### Обговорення

Аналіз вживання слова «щур» у працях різної давнини засвідчує, що цей номен широко застосовували для позначення одного з родів аборигенних ссавців фауни України в усі періоди розвитку національної номенклатури, крім незначного періоду «застою» другої половини ХХ ст., коли тотальне зросійщення припинило видання наукової літератури українською мовою. Як видно з хронології, назву «щур» стійко вживають для позначення роду *Arvicola*, і ця традиція не має ознак загасання. Понад те, розвиток інформаційних технологій і дедалі ширша практика ведення баз даних для опису біорізноманіття сприяють вживанню саме уніномінальних назв, зокрема, й «щур», а не «водяна полівка» чи «водяний пацюк».

З таких уніномінальних назв «щур» є найвідповіднішою до роду *Arvicola*, на відміну від скалькованої з інших мов традиції давати асоціативні назви, зміст яких може бути переданий як «полівка, але водяна» (англ. «water vole», рос. «водяная полевка») і формує не притаманні українській зооніміці біномени з означеннями, винесеними наперед, – «водяна полівка» замість «полівка водяна». Навіть з'явилася тенденція відрізняти означення спереду як частину родової назви від означення позаду в позначеннях виду. Проте «водяна полівка» – це і є «щур», тому потреба в асоціативних назвах зайва.

Викладені відомості про етимологію, таксономічну прив'язку та історію вживання назви «щур» засвідчують її давність, прив'язку до аборигенних видів гризунів, що живуть у норах, які самі й риють. Остання особливість вирізняє *Arvicola* поміж інших видів мишоподібних гризунів (Muroidei). У ряду різноманітних позначень різних таксонів гризунів застосування назви «щур» за межами роду *Arvicola* недоцільне. Визначається це тим, що інші роди або мають власні уніномінальні назви (пацюк, ондатра), або для них варто формувати нові назви, послуговуючись продуктивними формантами, або залучати тубільні назви чи вживати українізовану латину (щетинець, нутрія, аброкома).

Використання давніх зоонімів, як «щур», для позначення чужорідних тварин, що з'явилися в регіональній фауні відносно недавно (насамперед мова про пацюків), не є виправданим. Понад те, коли такі роди мають сформовані власні уніномінальні назви (зокрема, «пацюк»), то перенесення до їхньої синонімії назв аборигенних родів не тільки не виправдане, а й вкрай неправильне, бо такі роди залишаються без власних назв. Тому важливим термінологічним завданням стає розведення різних назв за різними

9 МКЗН – Міжнародний кодекс зоологічної номенклатури (International Code of Zoological Nomenclature), четверте видання якого перекладено українською 2003 року.

родами, з використанням наявної словникової бази. Це завдання нагальне не лише в темі відновлення питомо українських зоонімів і уточнення обшину їхнього вживання, а й у зв'язку із виразним процесом уніфікації української зоологічної термінології та подальшим розвитком ієрархічних списків біоти, у яких центральне місце посідають реєстрові родові назви, сформовані на засадах унікальності й унімінальності.

#### Подяки

Дякую М. Весельському, С. Жилі, Г. Фесенку за допомогу в аналізі поширення назв. Дякую В. Пархоменку та В. Константиновій за електронні версії низки давніх видань і С. Харчуку за докладну вичитку первинної версії рукопису та важливі зауваження до етимологічних розвідок. Моя щира подяка В. Калько, Г. Межжериній, О. Телемку та А. Хлівному за коментарі щодо послідовності викладу матеріалу, зауваження щодо етимології, цінні покликання на спеціальну літературу та за корекцію тексту рукопису.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонієць Н. Таксономічне багатство ссавців Дніпровсько-Орільського природного заповідника // Праці Теріологічної школи. 2014. Т. 12. С. 17–21.
2. Болдирев Р. В. та ін. (укл.). Етимологічний словник української мови : у 7 т.: т. 4 (Н-П) / ред. В. Т. Коломієць, В. Г. Складенко К.: Наукова думка, 2003. С. 1–656. ISBN 966-00-0590-3.
3. Булахов В. Л., Пахомов О. Є. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Ссавці (Mammalia). Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2006. С. 1–356.
4. Верхратський І. Зоологія на низші класи середніх шкіл. Після четвертого видання переробив Микола Мельник. Львів: Українська книгарня і антикварня, 1922. С. 1–189.
5. Волох А. М. Ссавці Придунав'я і особливості менеджменту їх ресурсів // Заповідна справа в Україні. 2000. Т. 6 (1–2). С. 28–34.
6. Гайдай Е. А., Гайдай Д. С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля // Лабораторные животные для научных исследований. 2019. Т. 4. Online: <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09>
7. Грінченко Б. Словарь української мови: в 4-х т. К., 1909 (1907–1909). Т. 2 (3–Н). С. I–VI + 1–574 + I–VIII.
8. Делеган І. В., Делеган І. І., Делеган І. І. Біологія лісових птахів і звірів. Львів: Поллі, 2005. С. 1–600. ISBN 5-7763-1487-9.
9. Делеган І. В. Практичні заходи з активної охорони рідкісних і зникаючих видів хребетних у лісах Закарпаття // Науковий вісник НЛТУ України. 2007. Т. 17 (1). С. 34–41.
10. Желеховский С., Недільский С. Малорусско-німецкий словарь. Т. 2. Львів, 1886. С. 591–1118. <https://bit.ly/3kursTI>
11. Загороднюк І. Природна історія пацюка чорного (*Rattus rattus*) в Україні // Урбанізоване навколишнє середовище: охорона природи та здоров'я людини / під ред. В. Костюшина (Матеріали Укр. респ. наради, Київ, грудень 1995). К., 1996. С. 228–231.
12. Загороднюк І., Покин'єчереда В. Таксономія ссавців східнокарпатського регіону // Теріофауна Карпатського біосферного заповідника / за ред. І. Г. Ємельянова. К.: Ін-т зоол. НАНУ, 1997. С. 16–23. (Додаток 5 до журналу «Вестник зоології»).
13. Загороднюк І. Контрольний список теріофауни України // Ссавці України під охороною Бернської конвенції. К., 1999. С. 202–210. (Праці Теріологічної школи; Вип. 2).

14. Загороднюк І. Роди звірів східноєвропейської фауни та їх українські назви. Частина 1. Загальні положення. Комахоїдні, кажани та хижі // Вісн. Нац. наук.-природнич. музею. 2001а. [Т. 1]. С. 113–131.
15. Загороднюк І. В. Номенклатура и система рода *Arvicola* // Водяная полевка. Образ вида / под ред. П. А. Пантелеева. М.: Наука, 2001б. С. 174–192. (Серия «Виды фауны России и сопредельных стран»).
16. Загороднюк І. Польовий визначник дрібних ссавців України. К.: Нац. наук.- природнич. музей НАН України, 2002. С. 1–60. (Праці Теріологічної школи; Вип. 5).
17. Загороднюк І. Адвентивна теріофауна України і значення інвазій в історичних змінах фауни та угруповань // Фауна в антропогенному середовищі. Луганськ, 2006. С. 18–47. (Праці Теріологічної школи; Вип. 8).
18. Загороднюк І. Українські назви ссавців, поширених на території України (ухвалено ІХ Теріошколою як основа списку теріофауни) // *Novitates Theriologicae*. 2007. Pars 7. С. 28–36.
19. Загороднюк І., Харчук С. Називничі засади опису таксономічного різноманіття ссавців Європи // Вісн. НУБіП України. Сер. лісівництво та декоративне садівництво. 2011. Т. 164 (3). С. 124–135.
20. Загороднюк І., Затушевський А. Поширення видів-двійників щура (*Arvicola*) в зоні контакту їхніх ареалів на заході України // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: Матеріали наук. конф. (Шацьк, 6–9 вересня 2012 р.). Львів: СПОЛОМ, 2012. С. 15–19. ISBN 978-966-665-736-0.
21. Загороднюк І. В., Ємельянов І. Г. Таксономія і номенклатура ссавців України // Вісн. Нац. наук.-природнич. музею. 2012. Т. 10. С. 5–30.
22. Загороднюк І., Дикий І. Мисливська теріофауна України: видовий склад і вернакулярні назви // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 21–44.
23. Загороднюк І., Пірхал А. Ссавці Поділля: таксономія та зміни складу фауни за останнє століття // Наук. зап. Держ. природозн. музею (Львів). 2013. Т. 29. С. 189–202.
24. Загороднюк І., Харчук С. Історична, етимологічна та біогеографічна розвідки щодо українських назв ссавців роду *Spermophilus* (Mammalia) // *Theriologia Ukrainica*. 2020. Т. 19. С. 71–94.
25. Зубаровський М. Водяна крися і промисел її в УСРР // Зб. праць зоол. музею. 1935. Т. 14. С. 91–119.
26. Козир М. С. Екомережа заплави річки Сейм (Сумська та Чернігівська області, Україна) // Чорномор. ботан. журнал. 2015. Т. 11 (2). С. 239–252. doi:10.14255/2308-9628/15.112/10
27. Крижов П. А. Географічне поширення шкідливих гризунів УСРР // Зб. праць зоол. музею. 1936. Т. 16 (1935). С. 33–91.
28. Константинов В. М., Лебедев І. Г., Масовичко Л. В. Птиці в фольклорі, в міфах, легендах, народних названнях. Ставрополь: Изд-во Ставропольск. гос. ун-та, 2000. С. 1–124.
29. Куйбіда В. В. Народні природничі назви: монографія. Корсунь-Шевченківський: ФОП Гавришенко В. М., 2017. С. 1–906.
30. Леженіна І. П., Васильєва Ю. В., Шаруда Г. І. Практикум з родентології. Харків: Харків. нац. аграр. ун-т, 2013. С. 1–101.
31. Макушенко М. О., Шнарович І. Д. До поширення та екології деяких видів промислових звірів Чернівецької області // Наук. зап. Львів. наук. природозн. музею. 1954. Т. 3. С. 77–90.
32. Маркевич О. П., Татарко К. І. Номенклатура. Російсько-українсько-латинський зоологічний словник. К.: Наукова думка, 1983. С. 144–274.
33. Марковська О. Мікротеріофауна основних типів екосистем в районі Донецької біостанції (Україна) // *Theriologia Ukrainica*. 2019. Т. 17. С. 36–42.

34. Мерзлікін І. Еколого-фауністичні дослідження ссавців природного заповідника «Михайлівська цілина» (Сумська область) // Праці Теріологічної Школи. 2014. Т. 12. С. 26–37.
35. МКЗН. Міжнародний кодекс зоологічної номенклатури. Вид. 4-те / переклад Ю. П. Некрутенка. К.: Бібліотека офіційних видань, 2003. С. I–XLIII + 1–175.
36. Мигулін О. О. Звірі УРСР (матеріали до фауни). К.: Вид-во АН УРСР, 1938. С. 1–426.
37. Мигулін О. О. Зоогеографічне районування УРСР на підставі поширення ссавців // Зб. праць зоол. музею. 1956. Т. 27. С. 14–37.
38. Наконечний І. В. Спонтанні кола циркуляції сальмонел, як багатокомпонентний комплекс моногостальних осередків // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2008. Т. 22. С. 130–135.
39. Никольский А. М. Позвоночные животные Крыма. Записки Императорской Академии Наук. 1891. Приложение к т. 68. С. 3–45.
40. Паночіні С. Практичний словник біологічної термінології. ВУАН, НДІМ, Відділ термінології та номенклатури. Харків: Рад. школа, 1931. С. 1–90. (Серія практичних словників «Матеріяли до української термінології та номенклатури»; Т. 4).
41. Півторак Г. П., Пономарів О. Д., Стоянов І. А., Ткаченко О. Б., Шамова А. М. (уклад.). Етимологічний словник української мови. К.: Наукова думка, 2012. Т. 6. С. 1–568.
42. Підоплічка І. До біології хом'яка (*Cricetus cricetus* L.) // Вісн. природознавства. 1928. № 1. С. 23–36.
43. Підоплічка І. Г. Підсумки дослідження погадок за 1924–1935 рр. // Зб. праць зоол. музею. (Київ). 1937. Т. 19. С. 101–170.
44. Полянській М. [Перевъвъ на рускій языкъ:] *Покорный А.* Зоология съ образками для низшихъ клясъ середнихъ шкълъ. Прага: Книгопечатня Богеміи, 1874. С. 1–163. <https://bit.ly/38EoRoc>
45. Пономаренко О. Л. Порівняльний аналіз живлення яструба великого (*Accipiter gentilis* (L.)) та канюка звичайного (*Buteo buteo* (L.)) в умовах Присамар'я (Дніпропетровська область) // Новітні дослідження соколоподібних та сов: Матеріали III Міжнар. наук. конф. Кривий Ріг, 2008. С. 319–325.
46. Попова Л., Крохмаль О., Циж С. Середньоплейстоценова мікротеріофауна печерного місцезнаходження Віняви (Львівська область) // Вісн. Київ. ун-ту. Геологія. 2019. (2). С. 23–27.
47. Преображенский А. Этимологический словарь русского языка. Т. 2. (П–С). М.: Изд-во Академии наук СССР, 1949. С. 1–716. [перевидання з 1914 р.]
48. Роженко М. Живлення деяких хижих ссавців у антропогенному ландшафті Причорномор'я // Фауна в антропогенному середовищі / за ред. І. Загороднюка. Луганськ, 2006. С. 191–200. (Праці Теріологічної школи; Вип. 8).
49. Скільський І. В., Смірнов Н. А., Мелещук Л. І. Іван Данилович Шнаревич як теріолог (до 95-річчя від дня народження) // Біол. системи. 2013. Т. 5 (1). С. 143–146.
50. Скільський І. В., Л Мелещук І. Теріофауна Хотинської височини (Чернівецька область) // Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень. Чернівці: Друк Арт, 2016. С. 203–217.
51. Скільський І. В., Зеленчук Я. І., Киселюк О. І. Раритетна фауна Національного природного парку «Верховинський» // Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень. Чернівці: Друк Арт, 2016. С. 128–146.
52. Сокур І. Т. Ссавці фауни України та їх господарське значення. К.: Держучпедвидав, 1960. С. 1–211.
53. Срезневский И. И. Материалы для словаря древнерусского языка. Т. 3. (Т–Я). СПб., 1893. С. 909–1684. <https://bit.ly/3pTeLFZ>

54. *Стецула Н. О., Обух А. П.* Таксономічна структура теріофауни Національного природного парку «Сколівські Бескиди» // Наук. вісн. Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України. Сер. лісівництво та декоративне садівництво. 2011. Т. 164 (3). С. 123–131.
55. *СУМ 1980.* Щур. Словник української мови: в 11 т. / за ред. І.К. Білодіда; АН УРСР. К.: Інститут мовознавства, 1980. Т. 11. С. 611.
56. *Татаринов К. А., Опалатенко Л. К.* Екологія та господарське значення водяного щура у верхів'ях басейну Дністра // Наук. зап. Львів. наук. природозн. музею АН УРСР. Т. 3. С. 52–76. <https://bit.ly/2K009UV>
57. *Татаринов К. А.* Звірі західних областей України (матеріали до вивчення фауни Української РСР). К.: Вид-во АН УРСР, 1956. С. 1–188.
58. *Фесенко Г. В.* Назви родів у вітчизняному іменуванні птахів світу. Ряд Горобцеподібні (Passeriformes). Частина 1 // Proceedings of the National Museum of Natural History. 2015. Т. 13. С. 35–68.
59. *Харчук Л., Харчук С.* Дикі ссавці Чернігівського району Запорізької області: до складу фауни та значення видів у культурному житті // Дослідження ссавців степових регіонів. К.: Нац. наук.-природнич. музей НАН України, 2015. С. 64–73. (Серія: Novitates Theriologicae, Pars 9).
60. *Харчук С., Загороднюк І.* Родини ссавців світу: огляд таксонів та їхні українські назви // Geo & Bio. 2019. Т. 17. С. 85–115.
61. *Хосцький П. Б.* До аналізу списку мисливських звірів України // Наук. вісн. НЛТУ України. 2010. Т. 20.9. С. 30–39.
62. *Храневич В.* Ссавці Поділля. Огляд систематичний. Вінниця: Віндерждрук ім. Леніна, 1925. С. 1–31.
63. *Черных П. Я.* Историко-этимологический словарь современного русского языка: в 2 т. 9-е изд., стереотипное. М.: Русский язык Медиа, Дрофа, 2009. С. 1–559.
64. *Шарлемань М.* Звірі України. Короткий порадник до визначання, збирання і спостереження ссавців (Mammalia) України. К.: Всеукр. кооп. видавн. союз, 1920. С. 1–83.
65. *Шарлемань М.* Назви птахів (проект). К.: Держ. вид-во України, 1927а. С. 1–63. (Словник зоологічної номенклатури; Част. 1).
66. *Шарлемань М.* Ссавці. Плазуни. Земноводдя // Шарлемань М., Татарко К. Назви хребетних тварин. К.: Держ. вид-во України, 1927б. С. 9–67. (Словник зоологічної номенклатури; Част. 2).
67. *Шевченко С. М., Тищенко В. М., Давиденко І. В.* Фондова колекція Музею лісових звірів і птахів ім. професора О.О. Салганського (Київ). Вісн. Нац. наук.-природнич. музею. 2015. Т. 13. С. 111–118.
68. *Blair D., Collins P. (ed.).* English in Australia. John Benjamins Publishing, 2001. P. 1–366.
69. *Cichocki W., Ważna A., Cichocki J. et al.* Polskie nazewnictwo ssaków świata. Warszawa: Muzeum i Instytut Zoologii PAN, 2015. P. 279–280. ISBN 978-83-88147-15-9.
70. *Pietruski S. K.* Historia naturalna zwierząt ssących dzikich galicyjskich [etc.]. Lwów: Drukarnia Zakładu Narodowego imienia Ossolińskich, 1853. P. 1–100. <https://goo.gl/5PCY5i>
71. *Pucek Z. (red.).* Klucz do oznaczania ssaków Polski. Państw. Warszawa: Wyd-wo Nauk., 1984. P. 1–388.
72. *Schermäuse...* Schermäuse. Lexikon der Biologie. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 1999. Online: <https://bit.ly/2UTB2oP>
73. *Wilson D. E., Reeder D.-A. M. (eds).* Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference (3rd ed). Johns Hopkins University Press, 2005. P. 1–2142.
74. *Zawadzki A.* Säugetiere. Mammalia. Sssace // Zawadzki, A. Fauna der Galizisch Bukowinischen Wirbethiere. Stuttgart: Schmeizerbarts Verlag, 1840. S. 13–35.



## NOMEN “SHCHUR” AS THE UKRAINIAN NAME OF MAMMALS FROM THE GENUS *ARVICOLA*: HISTORICAL AND ETYMOLOGICAL SURVEY

I. Zagorodniuk

National Museum of Natural History, NAS of Ukraine

15, Bohdan Khmelnytsky St., Kyiv 01030, Ukraine

e-mail: zoozag@ukr.net; orcid: 0000-0002-0523-133X

The ancient Ukrainian zoonym “shchur”, which has long been used for various animals, but most often for large burrowing rodents represented in the aboriginal fauna of Ukraine by the genus *Arvicola*, is considered. At the same time, this name is also used as a synonym for the word “krysa” (= rat), and in this sense is often identified with the genus *Rattus* (“patsiuk” = rat) to denote various large rodents from distant lands following a principle “the small = mice, the large = rats”. Therefore, the name “shchur” is often considered ambiguous and thus worth either forgetting or using only for the alien species. Etymological hypotheses are considered, of which the most relevant to zoological specifics is the one that explains the connection with burrows, ground, and night. This set of features determines the general ecomorphological type: large long-tailed underground mouse-like rodents with expressed nocturnal activity, which appearance in human economies is undesirable. The history of use of the name “shchur” in the special literature, mainly in zoological reviews and other zoological studies, in the period from 1874 to 2020 is analysed. The widespread use of the nomen to denote different groups of animals, and especially rodents of the ecomorphological type “large mice”, which are representatives of the genera *Arvicola* and *Rattus*, is shown. Analysis of old sources showed that the name “shchur” was originally used as a common “generic” name for all species as well as some intraspecific forms of both genera, with the definition of semantic differences in the species modifier: water, common, ground, nomadic, basement, black, ship, mill, and so on “shchur”. Unambiguous fixation of Ukrainian generic names as equivalents to scientific generic names required the typification of all names, which took place in the Ukrainian scientific nomenclature in the late XIX and early XX centuries. As a result, the name “rat” is proposed to be assigned to the genus *Arvicola*, and for the genus *Rattus* to be recorded as the Ukrainian equivalent of the nomen “patsiuk” (“rat”). Arguments are presented to recognise the antiquity of the zoonym “shchur” and therefore to recognise its importance for the designation of aboriginal rodent species, and especially of “water shchur” (water vole, *Arvicola amphibius*) voles of the genus *Arvicola* in general. The practice of traditional naming of laboratory rats as “shchur”, as well as the use of the name “shchur” with appropriate definitions to refer to other genera, including muskrats (“musk shchur” or “musk rat”), nutria (“marsh shchur” or “marsh rat”) and various representatives of distant faunas (bamboo or spiny tree-rats, etc.) in the Ukrainian zoonymics should be abolished.

**Keywords:** zoological terminology, Ukrainian zoonymy, names of rodents, taxonomy of mammals, fauna of Ukraine

**THE *MIA* MUTANTS OF *STREPTOMYCES ALBUS* J1074 ARE PRONE TO TRANSLATIONAL ERRORS AND SUSCEPTIBLE TO CERTAIN STRESSORS**

**O. Rydkin, O. Koshla, B. Ostash\***

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
\*e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua*

*Streptomyces albus* J1074 has been established by us as a convenient model to study different aspects of tRNA<sup>Leu<sub>UAA</sub></sup>-dependent regulatory mechanisms, that take place in genus *Streptomyces*. These mechanisms are important for proper morphological and physiological transitions of streptomycete colonies, such as the onset of antibiotic production in stationary phase of growth. The genes for post-transcriptional modification of adenosine residue in 37<sup>th</sup> position of tRNA<sub>XXXA</sub> family (so called *mia* genes) were shown to be important for the aforementioned processes, most likely because they impact tRNA<sup>Leu<sub>UAA</sub></sup> among other tRNAs. Our results were largely consistent with what is known about *mia* mutations in the other model systems, such as yeast and enterobacteria. Nevertheless, we also revealed several differences from the model systems, such as decreased susceptibility to hydrogen peroxide. This prompted us to look deeper into the behavior of the *mia* mutants, particularly their response to different stress factors. Here we report that *S. albus mia* mutants exhibit increased mistranslation rate as compared to their parental strain. These mutants are more susceptible than the parental strain to disulfide stress inducer diamide and DNA repair stressor caffeine. In summary, although the deficiency in certain tRNA modification appears to cause identical or very similar response (such as elevated mistranslation) across all so far studied bacterial systems, it also induces species- or genus-specific effects (such as disparate effects on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> susceptibility). These differences could be attributed to the peculiarities of organization/function of regulatory pathway governing the response to a given stress. The observed results are further discussed in the wider context of the role of tRNA modification pathway in bacterial biology.

*Keywords: Streptomyces albus, tRNA, nonsense suppression assay, diamide, caffeine*

Post-transcriptional tRNA modifications (PTTMs) have recently emerged as a novel and underappreciated layer of regulation of gene expression in pro- and eukaryotes [6]. One of the most general mechanisms by which PTTMs exert their biological effects hinges on unequal usage of synonymous codons and modification of their cognate tRNAs, leading to so called adaptive (codon-specific) translation. A good example of this phenomenon has recently been reported for *Escherichia coli* [13]. In this species proline codons (CCN) are decoded by three isoacceptor tRNA<sup>Pro</sup>, (tRNA<sub>UGG</sub>, tRNA<sub>GGG</sub>, tRNA<sub>CGG</sub>) all of which carry methylated guanine residue in 37<sup>th</sup> position of the tRNA (m<sup>1</sup>G37; adjacent to anticodon loop which occupies positions 34–36). This PTTM is introduced into tRNA by SAM-dependent methyltransferase TrmD. The *trmD* null mutant cannot be generated, pointing to the essentiality of this PTTM. The fully modified tRNA<sub>UGG</sub> is capable of reading all proline codons, but loss of m<sup>1</sup>G37 specifically impairs reading of CC(C/U), leading to frameshifts. Importantly, mRNAs for many membrane proteins responsible for active export of toxic substances are enriched with CC(C/U) codon near start codons

[7]. Thus, knockdown of TrmD function renders *E. coli* highly sensitive to different antibiotics because of failure to produce respective efflux proteins. Hence, loss of certain PTTM may affect the translation of a subset of mRNAs, enriched with the codons that require modified tRNA (so called modification-tunable transcripts [1]).

The abundance and importance of adaptive translation in antibiotic-producing streptomycetes remains unknown. In related genus *Mycobacterium*, PTTM-related mechanisms play important role in response to oxidative stress [5]. Involvement of PTTM in some kind of regulation of stress responses appears to be a general theme across kingdoms, as studies of several eukaryotic models suggest [3, 4, 8, 15]. We showed recently that knockouts of genes for hypermodification of adenosine residue in 37 position of tRNA<sub>XXXA</sub> family (controlled by *mia* genes [16]) caused distinct changes in morphological and metabolic differentiation of *Streptomyces* [11, 17]. Nevertheless, the understanding of cause-to-consequence links between the *mia* mutations and the phenotypes in *Streptomyces* remain obscure. A body of circumstantial evidence supports our initial suggestion that effects of *mia* mutations are caused by impaired PTTM of tRNA<sup>Leu</sup><sub>UAA</sub> (BldA). Yet there are also data portraying a wider impact of these mutation on *Streptomyces* tRNome [11], as well as data that run counter the established paradigm, such as decreased hydrogen peroxide susceptibility [12]. This makes harder to compare our data and interpret them in the wider context of what is known about biological roles of PTTMs in bacteria. We decided to address this uncertainty by asking as to whether *mia* mutants of *S. albus* exhibit some of the properties that are a hallmark of PTTM deficiency in the other bacterial systems. These include elevated mistranslation level and susceptibility to other types of chemical stresses. Our results reveal clear parallels between *Streptomyces* and other bacteria with the regard to the phenotypes being studied.

### Materials and Methods

Strains and plasmids, used in this work, are listed in Table. Tryptic soy broth (Merck), oatmeal and soy-mannitol agars [9, 10] were used to grow *Streptomyces* (at 30 °C) and plate matings. *Escherichia coli* strains were grown in liquid or agar LB medium, supplemented with appropriate antibiotic (if needed) at 37 °C. Genomic DNA from *Streptomyces* and plasmid DNA from *E. coli* were isolated using standard protocols [3]. Molecular biology enzymes were used according to recommendation of suppliers (Thermo).

Stop codon suppression tests were carried out with the help of plasmids pSETGUSTAG and pSETGUSTAG286. They are derivatives from plasmid pSETGUS, where the 2<sup>nd</sup> and 286<sup>th</sup> codons of *gusA* gene ORF, respectively, are replaced with TAG stop codon. Spectrophotometric analysis of  $\beta$ -glucuronidase activity of *gusA*<sup>+</sup>-strains was measured as described in [14]. Activity of GusA enzyme was calculated in Units/g. The rates of stop codon suppression are given in percentages, while the  $\beta$ -glucuronidase activities of respective pSETGUS<sup>+</sup>-strains were taken as 100 %.

Disc diffusion assay of *S. albus* susceptibility to diamide was carried out as follows. Approximately 10<sup>7</sup> spores of  $\Delta$ miAB or SAM2 were added to 15 mL of soft GYM [10] agar (1 %). The resulting mixture was overlaid onto Petri plates, containing 10 ml of GYM medium (2 % agar). After solidification, disks with 10  $\mu$ L of 0.1M diamide were put on the surface of the test plates. The diameter of sterile zone was measured after 48 h of incubation at 30 °C. For the test of caffeine susceptibility, serial dilutions of liquid *S. albus* cultures (grown for 48 h in TSB) were plated on GYM medium with caffeine concentrations of 0 mM, 5 mM, and 10 mM. The lawns of *S. albus* strains were plated under the same conditions.

Plasmids and bacterial strains, used in this work

Strain	Relevant characteristics	Source
<i>S. albus</i> SAM2	Derivative of J1074, deletion of pseudo <i>attB</i> <sup>φC31</sup> site	[2]
<i>S. albus</i> Δ <i>miaA</i>	Deletion of <i>miaA</i> ( <i>XNR_1074</i> ) in SAM2	[11]
<i>S. albus</i> Δ <i>miaB</i>	Deletion of <i>miaB</i> ( <i>XNR_1078</i> ) in SAM2	[11]
<i>S. albus</i> Δ <i>miaAB</i>	Deletion of <i>miaA</i> and <i>miaB</i> in SAM2	[12]
<i>E. coli</i> ET12567 pUZ8002	Strain for conjugative transfer of coresident plasmids; <i>dam-13::Tn9 dcm-6 hsdM</i> ; harbors conjugative plasmid pUZ8002; Cm <sup>R</sup> , Km <sup>R</sup>	[9]
pSETGUS	φC31-based vector carrying <i>gusA</i> fusion to thiostrepton-inducible promoter <i>tipAp</i> ; Am <sup>R</sup>	[14]
pSETGUSTAG	pSETGUS with TAG codon in second position of the gene <i>gusA</i> ; Am <sup>R</sup>	[14]
pSETGUSTAG286	pSETGUS with TAG codon in 286 <sup>th</sup> position of <i>gusA</i> gene; Am <sup>R</sup>	[14]

Cm<sup>R</sup> – resistance to chloramphenicol, Km<sup>R</sup> – to kanamycin, Am<sup>R</sup> – to apramycin

Results and Discussion

**Mistranslation of stop codons is elevated in *mia* mutants of *S. albus*, as compared to the parental strain.** We used two reporter constructs to elucidate the influence of *mia* mutations on mistranslation. Plasmids pSETGUSTAG and pSETGUSTAG286, both containing stop codon TAG in *gusA* gene ORF, as well as control plasmid pSETGUS, with unchanged *gusA*, were used. Schemes of the above mentioned *gusA* fusion constructs are shown on Fig. 1.

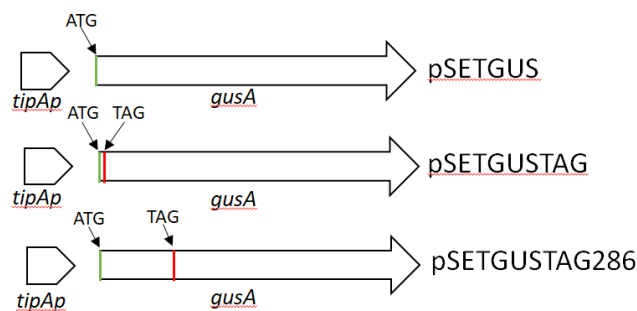


Fig. 1. Schemes of *gusA* constructs in plasmids pSETGUS, pSETGUSTAG and pSETGUSTAG286. *tipAp* – thiostrepton-inducible promoter; *gusA* – β-glucuronidase gene; ATG – start codon in *gusA* ORF; TAG – stop codon, introduced in 2<sup>nd</sup> and 286<sup>th</sup> position of *gusA* ORF, respectively

*S. albus* parental strain (SAM2) and its *mia* mutants, individually carrying each of the aforementioned plasmids, were generated. GusA activity was measured at 48 h of growth in TSB, as described in Methods. We noticed elevated levels of β-glucuronidase activity for some of the *mia* mutants, containing TAG-versions of *gusA* gene, compared to the respective SAM2 strains. We calculated the rates of TAG-codon suppression in pSETGUSTAG- and pSETGUSTAG286-containing *mia* mutants and SAM2. Results are summarized in Fig. 2 and given in percentages, for every case the GusA-activity of respective pSETGUS<sup>+</sup>-strains is taken as 100 %. Mutant Δ*miaAB*, carrying the plasmid pSETGUSTAG, as well as Δ*miaA* with plasmid pSETGUSTAG286, demonstrated higher rates of stop codon misreading, as compared to controls. An increased stop codon readthrough could be explained by elevated translational infidelity, described previously for some *mia* mutants. We have also noticed that the position of TAG codon in ORF of *gusA* gene affected the level of suppression. Thus, for Δ*miaAB* strain TAG suppression is more prominent if the stop codon is in 2<sup>nd</sup> position rather than 286<sup>th</sup>, while for Δ*miaA* mutant the opposite effect was observed. It was already shown by us that Δ*miaAB* and Δ*miaA* mutants differ in the degree of the mutant phenotypes [12].

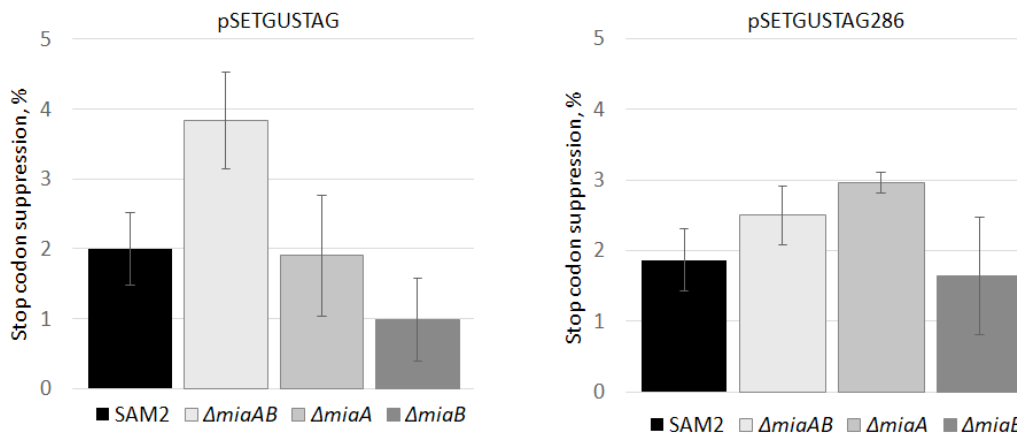


Fig. 2. Rates of stop codon suppression for *S. albus* SAM2,  $\Delta miaAB$ ,  $\Delta miaA$  and  $\Delta miaB$  strains. pSETGUSTAG carries stop codon in 2<sup>nd</sup> and pSETGUSTAG286 – in 286<sup>th</sup> position of the gene *gusA*. Percentages are calculated against respective pSETGUS<sup>+</sup> strains. Represented results are given as mean values of three repeats with standard errors

**The *mia* mutants exhibited sensitivity towards caffeine and diamide.** Diamide is known as a powerful oxidant of thiols in proteins. Caffeine is a purine alkaloid used worldwide. It is quite toxic compound and can cause DNA damage in microorganisms. We used two tests to observe *mia* mutants' response to this kind of chemical stresses. Susceptibility to diamide was tested using paper disks with 10 $\mu$ L of 0.1M solution, as described in Methods. The result of this assay is summarized in Fig. 3. Our data demonstrates that  $\Delta miaAB$  strain is more susceptible to diamide than the control strain SAM2.

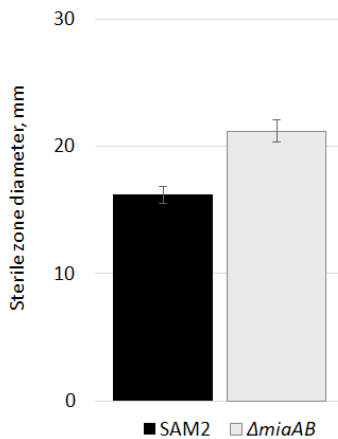


Fig. 3. Diameters of *S. albus* growth inhibition zones (in mm), caused by 10  $\mu$ L of 0,1 M diamide. SAM2 – *S. albus* SAM2,  $\Delta miaAB$  – *S. albus*  $\Delta miaAB$ . Results represent the mean values of 11 repeats, error bars are standard error

The next assay was performed to test susceptibility to caffeine. We plated *S. albus* strains on GYM medium, supplemented with 5 mM and 10 mM of caffeine. For the spot test, strains were grown in liquid TSB for 48 h and 10  $\mu$ L of cultures, together with the same amounts of 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> and 10<sup>-6</sup> dilutions, were plated and incubated for 48 h, as it is shown on Fig. 4, A. As we can see, increased concentration of caffeine has negative effects on the growth of all *S. albus*

strains. With approximately equal concentration of CFUs in 1 mL of culture for SAM2,  $\Delta miaA$  and  $\Delta miaAB$ , only SAM2 showed visible growth on  $10^{-4}$  dilution on 10 mM caffeine. For the lawns cultivation, results were similar (Fig. 4, B). Caffeine had negative effect on all strains, but  $\Delta miaA$  and  $\Delta miaAB$  showed a considerable delay in vegetative and aerial mycelium formation in presence of 5 mM and 10 mM caffeine, in comparison to control strain SAM2.

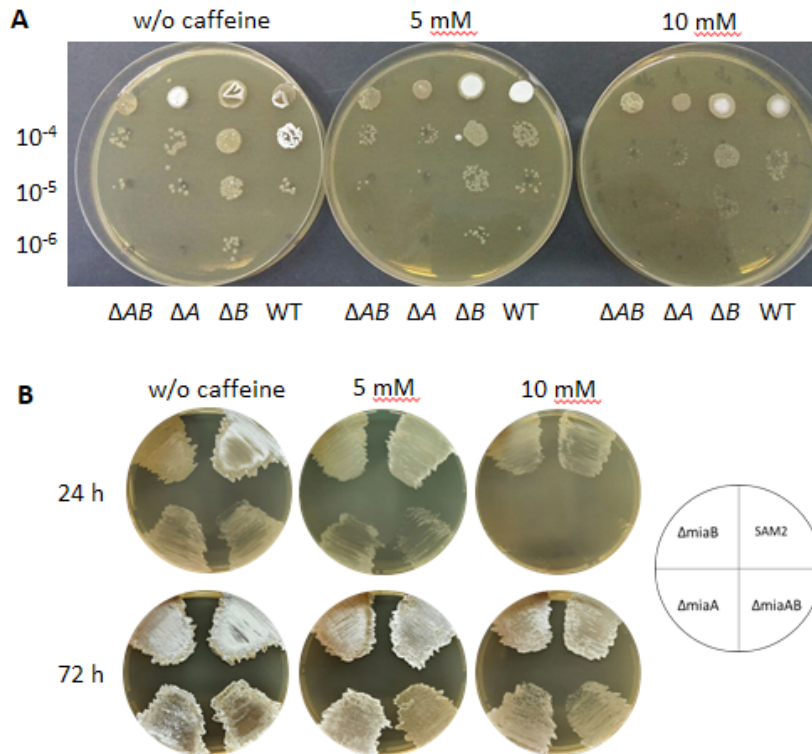


Fig. 4. Susceptibility of *S. albus* strains to caffeine. **A.** Liquid TSB cultures of *S. albus* SAM2,  $\Delta miaAB$ ,  $\Delta miaA$  and  $\Delta miaB$  were spotted on GYM medium, supplemented with 5 mM and 10 mM of caffeine. Plates were incubated for 72 h before taking pictures. Numbers to the left label serial dilutions. **B.** *S. albus* strains were plated on GYM medium, supplemented with 5 mM and 10 mM of caffeine, as it is shown on scheme to the right. Photos were taken on 24 h and 72 h of growth

The delay was especially pronounced at 24 h. On the first day of growth on 10 mM caffeine  $\Delta miaA$  and  $\Delta miaAB$  strains were unable to form vegetative mycelium, but  $\Delta miaB$  and SAM2 exhibited more abundant growth. Strain  $\Delta miaA$  formed aerial mycelium on 72 h day of growth only on medium without caffeine. The strain with deletion of both *miaA* and *miaB* genes showed the highest susceptibility to caffeine. Mutant with *miaB* deletion showed the level of susceptibility to caffeine similar to that of the parental SAM2. We assume, therefore, that deletion of *miaA* gene in *S. albus* results in higher sensitivity to caffeine, and additional deletion of *miaB* pronounces this effect.

We report that *mia* mutations in *Streptomyces* impact translation fidelity and susceptibility to different stressors. Considering our data and the fact that Mia proteins modify a large set of tRNAs, we assume that codon mistranslation in *S. albus* depends not only on the position and nature of the codon, but also on the other unique features of the dynamic translational machinery. Results of bioassays show that deletion of *miaA* is the main reason of mistranslation and higher susceptibility to caffeine and diamide. As one can see,  $\Delta miaB$  strain did not display elevated mis-

translation rate under our experimental conditions, and also this strain showed similar phenotype to the parental strains while growing on caffeine-supplemented GYM agar. Probably, *miaB* plays less important role in the response to studied stressors, as opposed to *miaA*. Indeed, posttranscriptional modifications of tRNA affect bacterial homeostasis and, since for *Streptomyces* there is a little information about *mia*-dependent pathways, it is our goal to elucidate this issue deeper.

**Acknowledgements.** We thank Prof. A. Luzhetskyy (Saarbrücken University, Germany) for providing us with the plasmids *pSETGUSTAG* and *pSETGUSTAG286*. B.O. was supported by the grant BG-80F from Ministry of Education and Science of Ukraine.

#### REFERENCES

1. Aubee J. I., Olu M., Thompson K. M. TrmL and TusA are necessary for *rpoS* and MiaA is required for *hfq* expression in *Escherichia coli* // *Biomolecules*. 2017. Vol. 7. P. 39. doi: 10.3390/biom7020039.
2. Bilyk B., Luzhetskyy A. Unusual site-specific DNA integration into the highly active pseudo-*attB* of the *Streptomyces albus* J1074 genome // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014. Vol. 98. P. 5095–104. doi: 10.1007/s00253-014-5605-y.
3. Candiracci J., Migeot V., Chionh Y. H. et al. Reciprocal regulation of TORC signaling and tRNA modifications by Elongator enforces nutrient-dependent cell fate // *Sci. Adv.* 2019. Vol. 5. P. eaav0184. doi: 10.1126/sciadv.aav0184.
4. Chan C., Pham P., Dedon P. C., Begley T. J. Lifestyle modifications: coordinating the tRNA epitranscriptome with codon bias to adapt translation during stress responses // *Genome Biol.* 2018. Vol. 19. P. 228. doi: 10.1186/s13059-018-1611-1.
5. Chionh Y. H., McBee M., Babu I. R. et al. tRNA-mediated codon-biased translation in mycobacterial hypoxic persistence // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7. P. 13302. doi: 10.1038/ncomms13302.
6. Edwards A. M., Addo M. A., Dos Santos P. C. Extracurricular functions of tRNA modifications in microorganisms // *Genes*. 2020. Vol. 11. P. 907. doi: 10.3390/genes11080907.
7. Hou Y. M., Masuda I., Foster L. J. tRNA methylation: An unexpected link to bacterial resistance and persistence to antibiotics and beyond // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2020. Vol. 11. P. e1609. doi: 10.1002/wrna.1609.
8. Huber S. M., Leonardi A., Dedon P. C., Begley T. J. The versatile roles of the tRNA epitranscriptome during cellular responses to toxic exposures and environmental stress // *Toxics*. 2019. Vol. 7. P. 17. doi: 10.3390/toxics7010017.
9. Kieser T., Bibb M., Buttner M. et al. *Practical Streptomyces genetics*. Norwich: John Innes Foundation. 2000. 634 p.
10. Koshla O., Lopatniuk M., Rokytskyy I. et al. Properties of *Streptomyces albus* J1074 mutant deficient in tRNA(Leu)(UAA) gene *bldA* // *Arch. Microbiol.* 2017. Vol. 199. P. 1175–83.
11. Koshla O., Yushchuk O., Ostash I. et al. Gene *miaA* for post-transcriptional modification of tRNA<sub>XXXA</sub> is important for morphological and metabolic differentiation in *Streptomyces* // *Mol. Microbiol.* 2019. Vol. 112. P. 249–265. doi: 10.1111/mmi.14266.
12. Koshla O., Kravets V., Dacyuk Y. et al. Genetic analysis of *Streptomyces albus* J1074 *mia* mutants suggests complex relationships between post-transcriptional tRNA<sub>XXXA</sub> modifications and physiological traits // *Folia Microbiol.* 2020. Vol. 65.
13. Masuda I., Matsubara R., Christian T. et al. tRNA methylation is a global determinant of bacterial multi-drug resistance // *Cell Syst.* 2019. Vol. 8. P. 302–314.e8. doi: 10.1016/j.cels.2019.03.008.

14. Myronovskyi M., Welle E., Fedorenko V., Luzhetskyy A. Beta-glucuronidase as a sensitive and versatile reporter in actinomycetes // Appl. Environ. Microbiol. 2011. Vol. 77. P. 5370–5383. doi:10.1128/AEM.00434-11.
15. Nagaraja S., Cai M. W., Sun J. et al. Queuine is a nutritional regulator of *Entamoeba histolytica* response to oxidative stress and a virulence attenuator // mBio. 2021. Vol. 12. P. e03549-20. doi: 10.1128/mBio.03549-20.
16. Schweizer U., Bohleber S., Fradejas-Villar N. The modified base isopentenyladenosine and its derivatives in tRNA // RNA Biol. 2017. Vol. 14. P. 1197–1208. doi: 10.1080/15476286.2017.1294309.
17. Sehin Y., Koshla O., Dacyuk Y. et al. Gene *ssfg\_01967 (miaB)* for tRNA modification influences morphogenesis and moenomycin biosynthesis in *Streptomyces ghanaensis* ATCC14672 // Microbiology. 2019. Vol. 165. P. 233–245.

Стаття надійшла до редакції 24.05.21

доопрацьована 26.05.21

прийнята до друку 01.06.21

### **MIA МУТАНТИ *STREPTOMES ALBUS* J1074 СХИЛЬНІ ДО ПОМИЛОК У ПРОЦЕСІ ТРАНСЛЯЦІЇ ТА ПІДВИЩЕНОЇ ЧУТЛИВОСТІ ДО СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ**

**О. Ридкін, О. Кошла, Б. Осташ\***

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua

*Streptomyces albus* J1074 використаний нами як зручна модель для вивчення різних аспектів tRNA<sup>Leu<sub>UAA</sub></sup>-залежних регуляторних механізмів, притаманних представникам роду *Streptomyces*. Ці механізми важливі для належного перебігу морфологічних і фізіологічних змін у колоніях стрептоміцетів, таких як початок продукції антибіотиків протягом стаціонарної фази росту. Показано, що гени посттранскрипційної модифікації залишку аденозину в 37-й позиції родини тРНК з антикодоном ХХА (т. зв. гени *mia*) є важливими для вищезазначених процесів, швидше за все, тому, що спричиняють найсильніший вплив на tRNA<sup>Leu<sub>UAA</sub></sup>. Наші результати значною мірою узгоджуються з тим, що відомо про *mia* мутації в інших модельних об'єктах, таких як дріжджі й ентеробактерії. Тим не менше, ми також виявили кілька відмінностей, зокрема, зниження сприйнятливості до перекису водню. Це спонукало нас глибше вивчити властивості *mia* мутантів, особливо їхню реакцію на різні стресові фактори. Виявлено, що *mia* мутанти *S. albus* демонструють підвищений рівень супресії стоп-кодону TAG, порівняно з батьківським штамом. Ці мутанти є чутливішими до індуктора дисульфідного стресу діаміду та до кофеїну, що пошкоджує механізми репарації ДНК. У підсумку, відсутність певної модифікації тРНК, найвірогідніше, спричиняє однакову чи дуже подібну відповідь у всіх досліджуваних бактерій (наприклад, підвищення рівнів помилок під час трансляції), проте і викликає специфічні для виду чи роду ефекти (наприклад, різний вплив на чутливість до H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ці відмінності можна пояснити особливостями організації/функції регуляторного шляху, що координує відповідь на певний стресовий фактор. Отримані результати обговорено в ширшому контексті ролі модифікацій тРНК у біології бактерій.

*Ключові слова:* *Streptomyces albus*, тРНК, тест на супресію нонсенс-мутацій, діамід, кофеїн



**АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ  
І ВМІСТ ГЛУТАТІОНУ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ КВЕРЦЕТИНУ  
ТА ГІСТАМІНУ В ДОСЛІДАХ *IN VITRO***

**Н. Гарасим<sup>1</sup>, Х. Баран<sup>2</sup>, Н. Боднарчук<sup>1</sup>, В. Отчич<sup>1</sup>,  
М. Галан<sup>1</sup>, А. Зинь<sup>3</sup>, Д. Санагурський<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>ПП Медіс

вул. Некрасова, 35/В, Львів 79000, Україна

<sup>3</sup>Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України  
вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна

e-mail: [garasymnatalya@gmail.com](mailto:garasymnatalya@gmail.com); [nataliya.harasym@lnu.edu.ua](mailto:nataliya.harasym@lnu.edu.ua)

Досліджено вплив гістаміну та кверцетину, а також їхню поєднану дію на активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) і вміст відновленого глутатіону (GSH) у плазмі крові щурів. Встановлено, що додавання до крові кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 5,0 мМ зумовлює зростання активності СОД. Виявлено, що гістамін (1,0 та 0,1 мкМ) призводить до зниження активності СОД на 31 і 17 % відповідно, тоді як цей біогенний амін у найнижчій і найвищій концентраціях не впливає на показники активності СОД у плазмі. За одночасного додавання до крові гістаміну в максимальній концентрації (10,0 мкМ) та кверцетину (0,1; 0,5; 3,0 мМ) не виявлено змін активності СОД. І лише поєднана дія гістаміну у вищезазначеній концентрації та кверцетину (5,0 мМ) зумовлює зниження активності ферменту на 21 %. Поєднаний вплив гістаміну (0,01 мкМ) та кверцетину (0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ) зумовлює зростання активності СОД, що свідчить про підвищення утворення активних форм Оксигену, зокрема, супероксид-аніон радикала. Встановлено, що додавання до цільної крові як кверцетину, так і гістаміну, в досліджуваних концентраціях зумовлює зниження активності каталази у плазмі крові щурів. Поєднана дія кверцетину і гістаміну зумовлює зниження активності КАТ.

Встановлено, що додавання до крові кверцетину (0,1; 0,3; 0,5; 1,0 мМ) зумовлює зниження вмісту відновленого глутатіону. Кверцетин у концентраціях 3,0 та 5,0 мМ зумовлює зростання вмісту відновленого глутатіону на 27 та 14 % відповідно, порівняно з контролем. Гістамін у концентраціях 10,0; 1,0 і 0,01 мкМ призводить до зростання вмісту відновленого глутатіону на 24, 26 і 19 % відповідно, а у концентрації 0,1 мкМ – зумовлює зниження вмісту відновленого глутатіону (GSH) на 39 %. За одночасного введення у кров гістаміну (10,0 мкМ) та кверцетину (0,1; 0,5; 3,0 мМ) зростає вміст GSH. І лише за концентрації 5,0 мМ кверцетину на тлі дії гістаміну (10,0 мкМ) вміст GSH незначно знижується. Проте за поєднаної дії гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину (0,1; 0,5; 3,0 і 5,0 мМ) встановлено зниження вмісту GSH.

Провівши дисперсійний аналіз, ми встановили значний вплив гістаміну на окремі показники ферментативної та неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту. Найменша частка впливу припадає на дію кверцетину у плазмі крові щурів. Виявлено помірний вплив одночасної дії гістаміну і кверцетину на показники антиоксидантної системи плазми щурів.

*Ключові слова:* плазма крові, супероксиддисмутаза, каталаза, відновлений глутатіон, кверцетин, гістамін

Відомо, що антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій [7, 11].

Кверцетин (3, 3', 4', 5, 7-пентагідроксифлавонол) належить до флавоноїдів, а саме флавонолів (до одного з шести підкласів флавоноїдних сполук) [13]. Унаслідок капіляростабілізуючих властивостей, пов'язаних із антиоксидантним, мембраностабілізуючим впливом, препарат знижує проникність капілярів. Кверцетин виявляє протизапальний ефект завдяки блокаді ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, зниженню синтезу лейкотрієнів, серотоніну й інших медіаторів запалення. Кардіопротекторні властивості кверцетину пов'язані з підвищенням енергетичного забезпечення кардіоміоцитів завдяки антиоксидантному впливу та поліпшенню кровообігу. Експериментально визначені також діуретичні, спазмолітичні, антисклеротичні властивості. Кверцетин здатний нормалізувати артеріальний тиск і стимулювати вивільнення інсуліну, прискорювати агрегацію тромбоцитів, пригнічувати синтез тромбоксану [1, 2, 15–17]. Він чинить протиалергійну дію, пригнічуючи вироблення гістаміну та прозапальних медіаторів [23]. На сьогодні трапляються повідомлення, що кверцетин має значну потенційну здатність перешкоджати реплікації SARS-CoV-2. На основі клінічних проявів COVID-19 враховують багатогранний аспект кверцетину і як протизапального, і як інгібуючого дію тромбіну [17]. Проте немає інформації про вплив кверцетину на систему антиоксидантного захисту організму на тлі впливу гістаміну.

Гістамін був синтезований у 1907 р. і описаний у 1910 р. як речовина ("beta-1"), що зумовлює специфічне скорочення клубової кишки морської свинки та має вазодепресорну дію. Проте знадобилося 17 років, аби продемонструвати його наявність у інших тканинах. Зв'язок між гістаміном і анафілактичною реакцією доведено у 1929 р., а у 1932 р. гістамін ідентифіковано як посередник анафілактичних реакцій. Виражена клінічна симптоматика, що виникає за дії на організм гістаміну, дає змогу розглядати його як один із найважливіших медіаторів алергії.

У зв'язку з цим для лікування алергічних проявів найчастіше застосовують протигістамінні засоби. З'ясовуючи вплив гістаміну на H1-рецептори ворітної системи печінки щурів *in vivo*, встановили, що за внутрішньопортального введення гістаміну (у дозах 2–8 мкг/кг), діючи через специфічні H1-рецептори, зменшує локальний кровотік у печінці собак і підвищує ворітний тиск на фоні зниження системного артеріального тиску. Дія гістаміну в дозі 8 мкг/кг на кисневий баланс печінки щурів зумовлює звуження ворітних судин печінки, завдяки чому постачання кисню до її функціональних елементів зменшується. Водночас гістамін пригнічує споживання кисню печінкою, тому рівень напруги кисню в ній майже не змінюється. Вплив гістаміну на тканинне дихання печінки реалізується через H1-рецептори. Надзвичайно великі концентрації блокатора H1-рецепторів пригнічували дію гістаміну [3, 4, 19, 20].

Оскільки у наших роботах [6, 18] досліджено вплив кверцетину і гістаміну на вільнорадикальні процеси в крові щурів, то наступним етапом роботи було дослідити дію цих сполук на антиоксидантну систему крові.

Мета: проаналізувати зміни окремих показників ферментативної і неферментативної ланки антиоксидантної системи плазми крові щурів за дії кверцетину й гістаміну за умов *in vitro*.

### Матеріали та методи

У досліджах використовували цільну кров безпородних білих щурів-самців масою тіла  $180 \pm 10$  г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. До цільної крові додавали кверцетин, щоб кінцеві концентрації становили 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0 мМ. Слід зазначити, що концентрації кверцетину 1,0 та 3,0 мМ є терапевтичними дозами цієї речовини у

фармацевтичних препаратах («Quercetin Кверцетин», «Квертин»). Кверцетин розчиняли у теплому фізіологічному розчині (37 °С). У другій серії дослідів до крові додавали розчин гістаміну (0,01; 0,1; 1,0; 10,0 мкМ). Ці концентрації ми обрали, опираючись на літературні дані про ефекти посилення вивільнення активних форм Оксигену нейтрофілами [8]. Розчини готували, використовуючи 0,9 % NaCl. У третьому випадку до цільної крові додавали і гістамін (у концентраціях 0,01 і 10,0 мкМ), і кверцетин (у концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ). Зокрема, поєднували мінімальну концентрацію гістаміну із зазначеними концентраціями кверцетину. Те саме стосується і максимальної концентрації гістаміну. Таким чином, було сформовано ще вісім експериментальних груп. Для комбінованої дії препаратів було обрано концентрації гістаміну – 0,01 і 10,0 мкМ та кверцетину – 0,1, 0,5, 3,0 і 5,0 мМ. Як контроль ми використовували кров, до якої додавали 0,01 мл фізіологічного розчину. Інкубували 5 хв, після чого центрифугували за 3000 об/хв (1000 g) упродовж 10 хв. Для аналізу відбирали плазму крові. У відібраних зразках визначали активність СОД, КАТ і вміст GSH [9, 10, 14]. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [22].

Дані досліджень статистично обробляли з обчисленням середніх арифметичних величин ( $M$ ), стандартної похибки ( $m$ ) і ступеня вірогідності різниці ( $p$ ) між показниками. Проводили дисперсійний аналіз (Anova: Two-Factor With Replication). Біометричну обробку всіх даних результатів досліджень проводили з використанням програми «Excel-2010» для Windows.

#### Результати і їхнє обговорення

Нами встановлено, що додавання до крові кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 5,0 мМ зумовлює зростання активності СОД на 33; 57; 18; 13; 52 % відповідно. Кверцетин у концентрації 3,0 мМ не спричиняє змін активності СОД у плазмі крові щурів (рис. 1). Відомо, що кверцетин у концентраціях 1,0 і 3,0 мМ виявляє терапевтичний вплив.

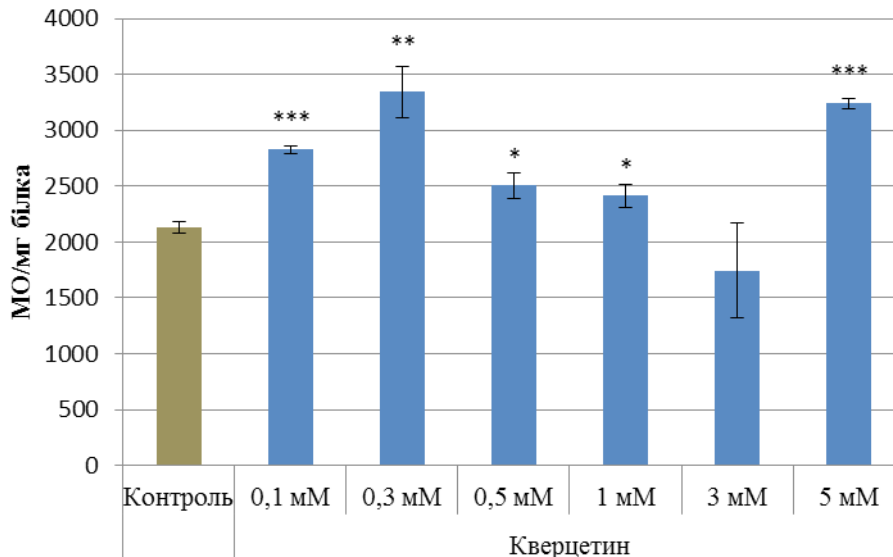


Рис. 1. Активність супероксиддисмутазу у плазмі крові щурів у контролі та за дії кверцетину в діапазоні концентрацій 0,1–5,0 мМ (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

Встановлено, що гістамін за концентрацій 1,0 і 0,1 мкМ зумовлює зниження активності СОД на 31 і 17 % відповідно (рис. 2). Тоді як біогенний амін у найнижчій і найвищій концентраціях не змінює показники активності СОД у плазмі.

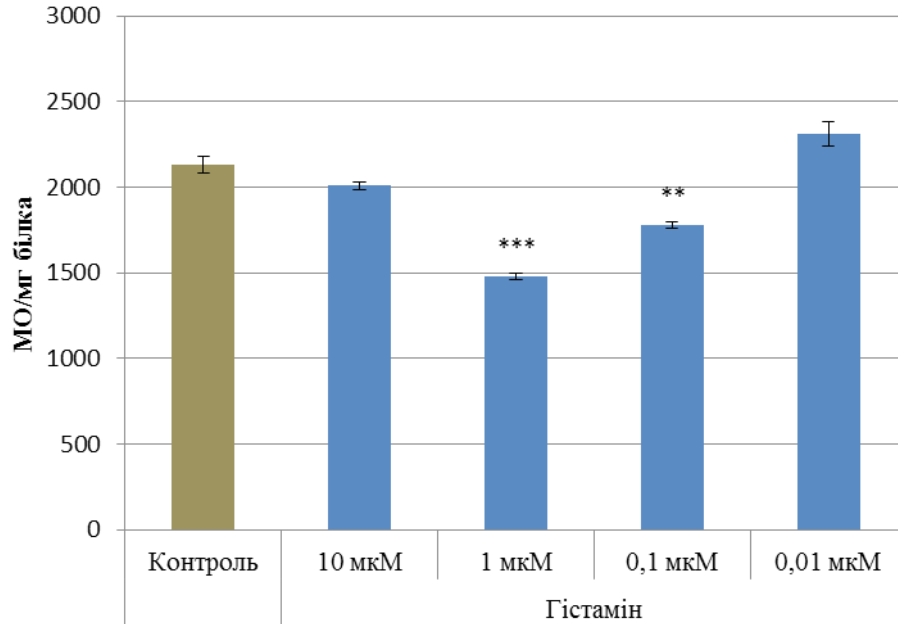


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази у плазмі крові щурів у контролі та за дії гістаміну в діапазоні концентрацій 0,01–10,0 мкМ (\*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

За одночасного додавання до крові гістаміну в максимальній концентрації (10,0 мкМ) та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0 мМ не виявлено змін активності СОД. І лише поєднана дія гістаміну цієї концентрації та кверцетину в концентрації 5,0 мМ знижує активність ферменту на 21 % (рис. 3).

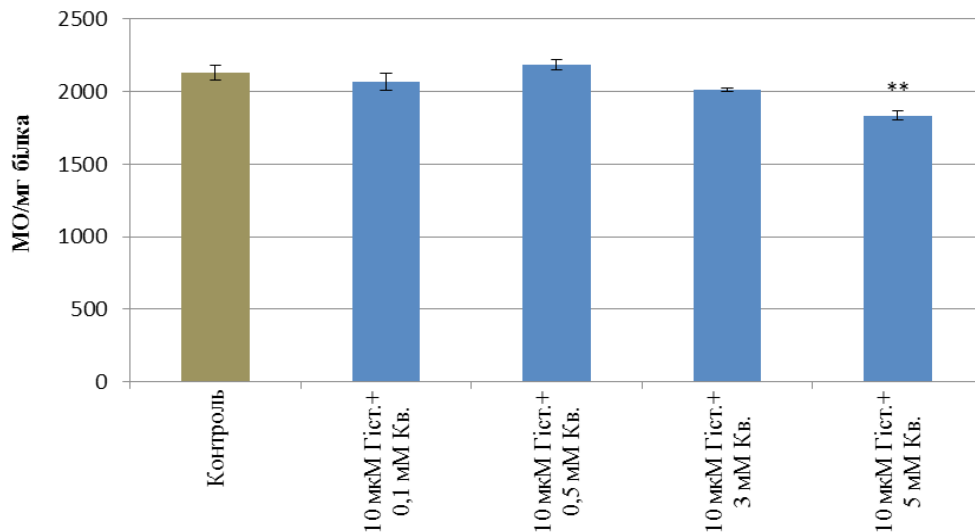


Рис. 3. Активність супероксиддисмутази у плазмі крові щурів у контролі та за одночасної дії гістаміну в концентрації 10,0 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ (\*\* –  $p \geq 0,99$ )

Гістамін (0,01 мкМ) і кверцетин (0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ) призводять до зростання активності СОД на 127, 36, 124, 77 % відповідно (рис. 4). Це свідчить про підвищення утворення активних форм кисню, зокрема, супероксид-аніон радикала [21].

Відомо, що у фізіологічних концентраціях вільні радикали беруть участь у процесах передачі сигналу в клітині та захисті від мікроорганізмів. Проте надмірне утворення вільних радикалів або їхня недостатня інактивація призводять до порушення структури клітин і до процесів метаболізму. Джерелами активних форм кисню є мітохондріальний, мікросомальний, електронно-транспортні ланцюги окиснення, моноамінооксидаза, ксантиноксидаза, взаємодія іонів металів змінної валентності з киснем і відновниками [12].

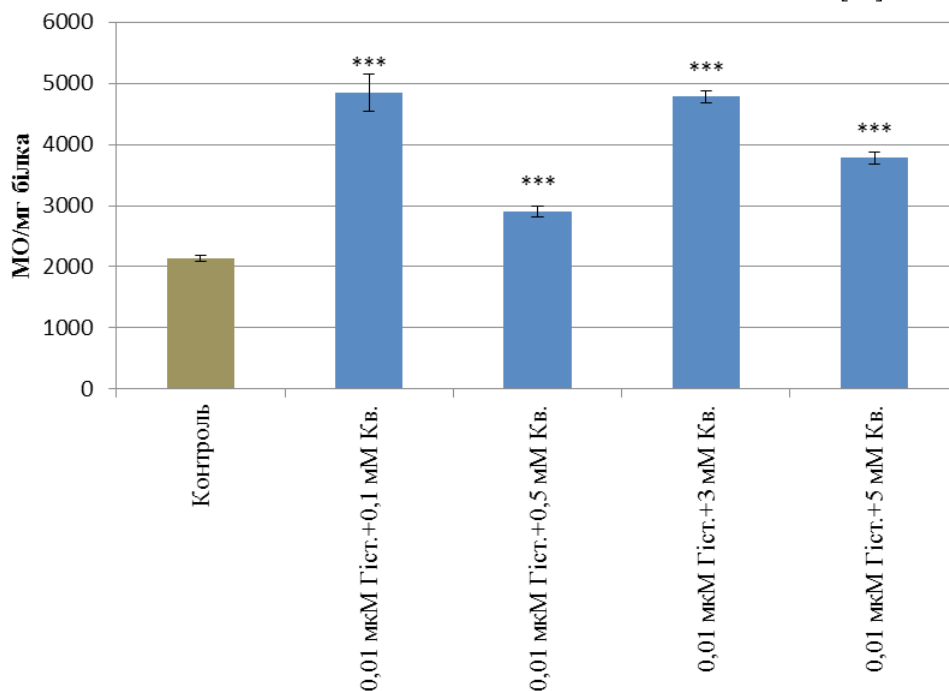


Рис. 4. Активність супероксиддисмутази у плазмі крові щурів у контролі та за одночасної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

Нами встановлено, що додавання до цільної крові кверцетину різних концентрацій зумовлює зниження активності КАТ у плазмі. Так, кверцетин у концентрації 0,3 мМ знижує активність у досліджах *in vitro* на 84 %, 0,5 мМ – на 89 %, а 3,0 мМ – на 85 % (рис. 5). Кверцетин у концентраціях 1,0 і 5,0 мМ знижує активність КАТ меншою мірою (на 13 і 39 % відповідно). Ці результати можуть свідчити про те, що у плазмі крові за дії кверцетину знижується вміст гідроген пероксиду.

Відомо, що кверцетин і його похідні, як і інші флавоноїди, є сполукою фенольної природи. Ці сполуки, власне, мають антирадикальну активність щодо супероксид-аніон радикала ( $O_2^-$ ), гідроксильного радикала (OH) і ліпідного пероксид-радикала (LOO), виступаючи в ролі донаторів електронів або атома водню. Гідроксильні групи кверцетину, які зумовлюють антирадикальну активність, дисоціюють у свою аніонну форму залежно від рН середовища. Таким чином, антирадикальна активність кверцетину зростає зі збільшенням рН середовища [13].

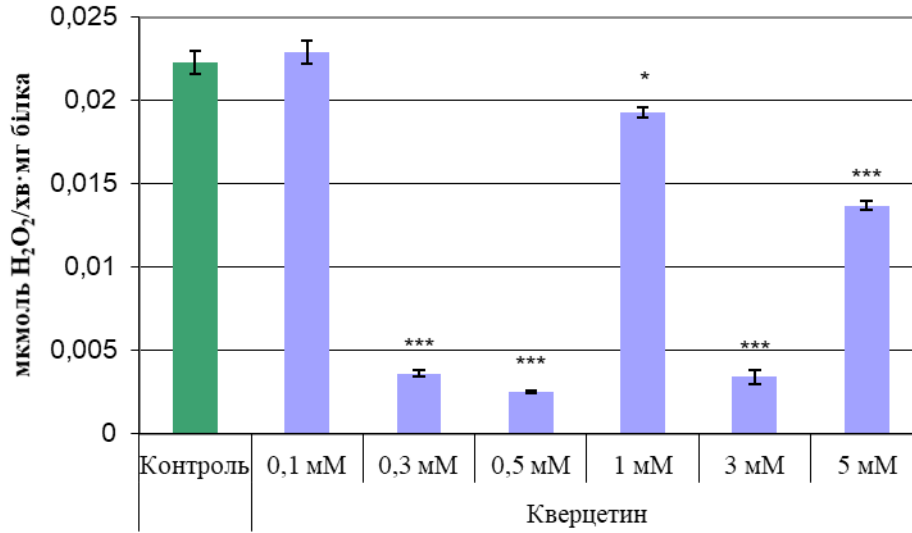


Рис. 5. Активність каталази у плазмі крові щурів у контролі та за дії кверцетину в діапазоні концентрацій 0,1–5,0 мМ (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

Встановлено, що гістамін у всіх досліджуваних концентраціях суттєво знижує активність КАТ у плазмі крові щурів - у середньому на 95 % (рис. 6).

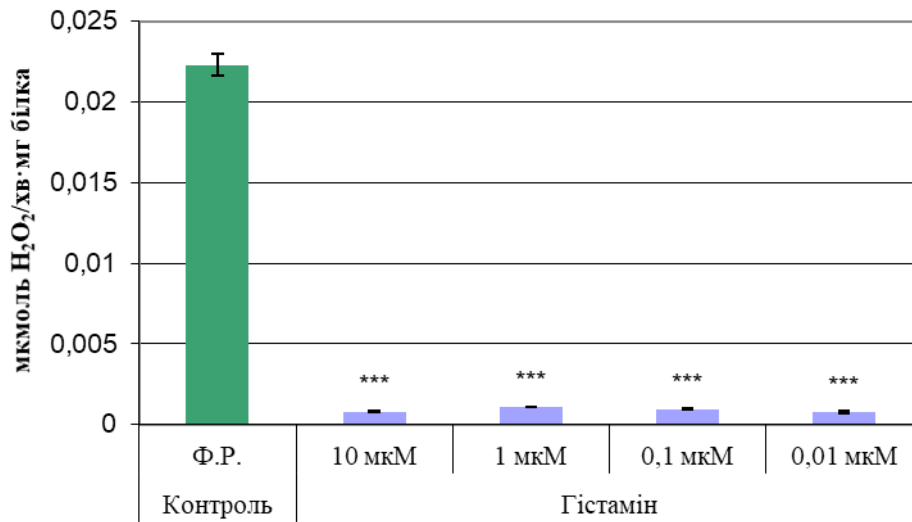


Рис. 6. Активність каталази у плазмі крові щурів у контролі та за дії гістаміну в діапазоні концентрацій 0,01–10,0 мкМ (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

Нами встановлено, що поєднана дія кверцетину й гістаміну зумовлює зниження активності КАТ у середньому на 99 % (рис. 7, 8).

Отже, кверцетин і гістамін знижують активність КАТ у плазмі крові щурів у дослідях *in vitro*. А поєднана їхня дія спричиняє більш виражене зниження активності цього ферменту.

Нами також вивчено вміст GSH, оскільки відомо, що відновлена форма глутатіону захищає SH-групи білків від окиснення. Механізм захисту полягає в окисненні SH-групи самого глутатіону з утворенням окисненої форми і збереженням SH-груп білків у відновленій формі.

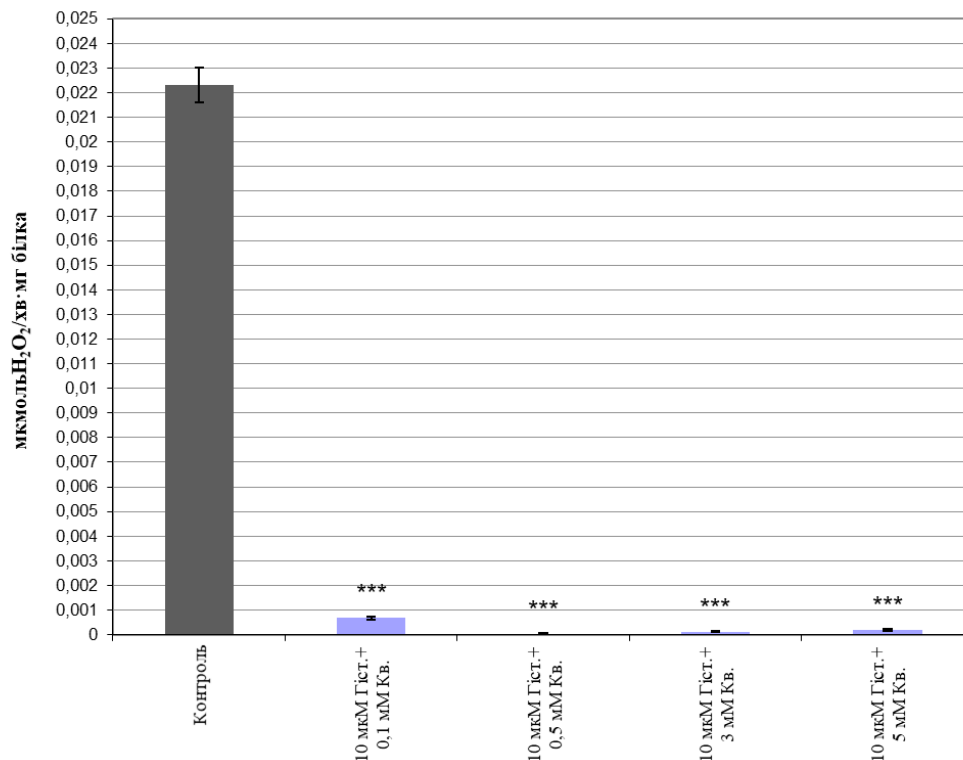


Рис. 7. Активність каталази у плазмі крові щурів у контролі та за одночасної дії гістаміну в концентрації 10,0 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

Додавання до крові кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1,0 мМ зумовлює зниження вмісту GSH на 33, 39, 37, 38 % відповідно. Кверцетин у концентраціях 3,0 і 5,0 мМ веде до зростання вмісту GSH на 27 та 14 % відповідно, порівняно з контролем (рис. 9).

Встановлено, що гістамін за концентрацій 0,01; 1,0 і 10,0 мкМ зумовлює зростання кількості GSH на 24, 26 і 19 % відповідно. А за концентрації 0,1 мкМ біогенний амін зумовлює зниження вмісту GSH на 39 % (рис. 10). Дія гістаміну опосередковується через вплив на гістамінорецептори: Н1, Н2, Н3, Н4 [3]. Відомо, що вони наявні на гладеньких м'язах, а також і на мембранах клітин крові, зокрема, нейтрофілів, еозинофілів, базофілів. Ймовірно, концентрація гістаміну 0,1 мкМ активує вільнорадикальні процеси у плазмі крові щурів. У дослідях *in vivo* було засвідчено, що гістамін (у дозі 8 мкг/кг) зумовлює підвищення вмісту малонового діальдегіду в плазмі крові щурів упродовж досліді (14 діб) [5].

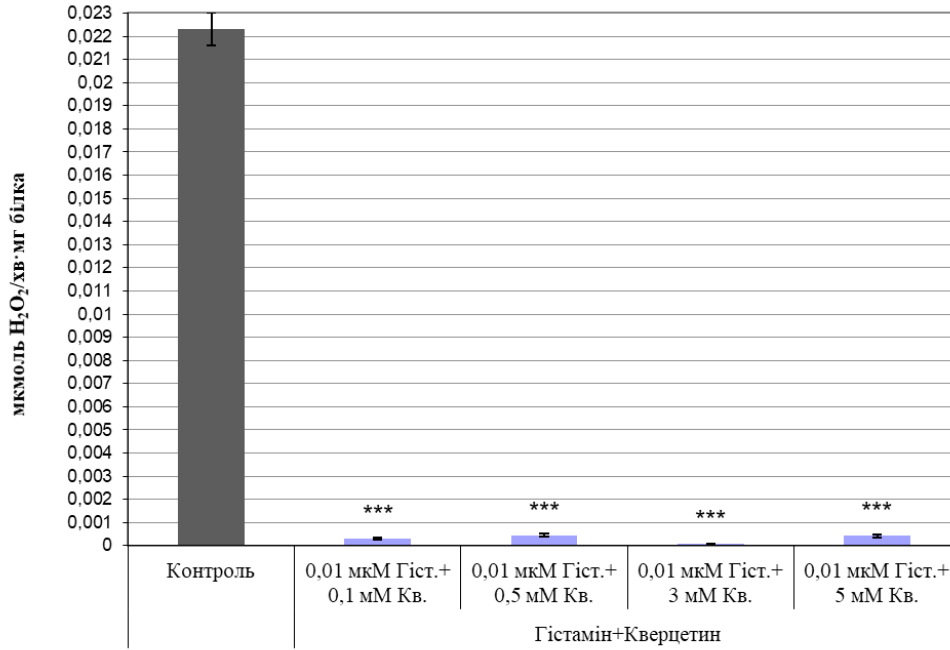


Рис. 8. Активність каталази у плазмі крові щурів у контролі та за одночасної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

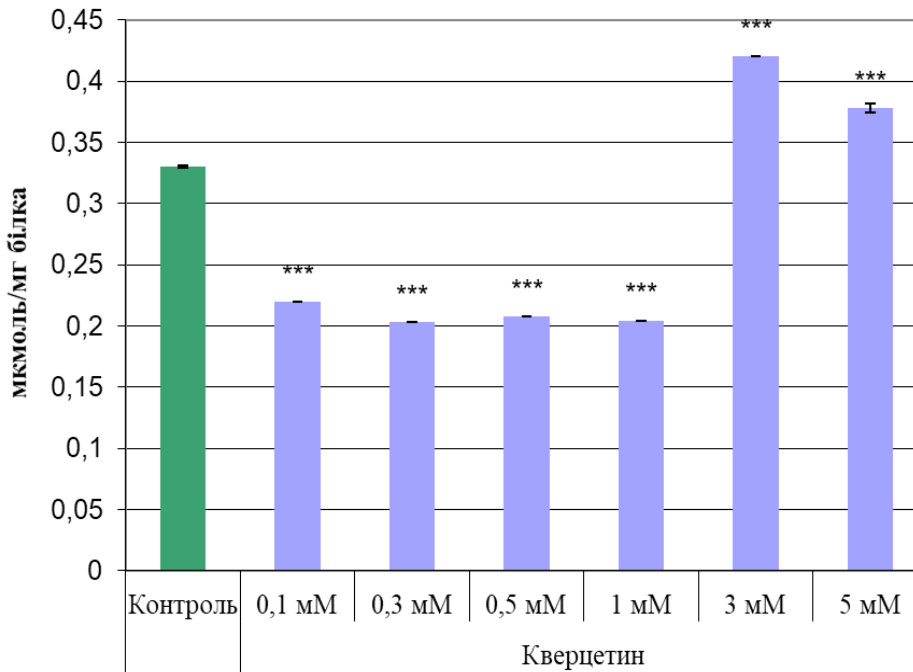


Рис. 9. Вміст відновленого глутатіону у плазмі крові щурів за впливу кверцетину (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )



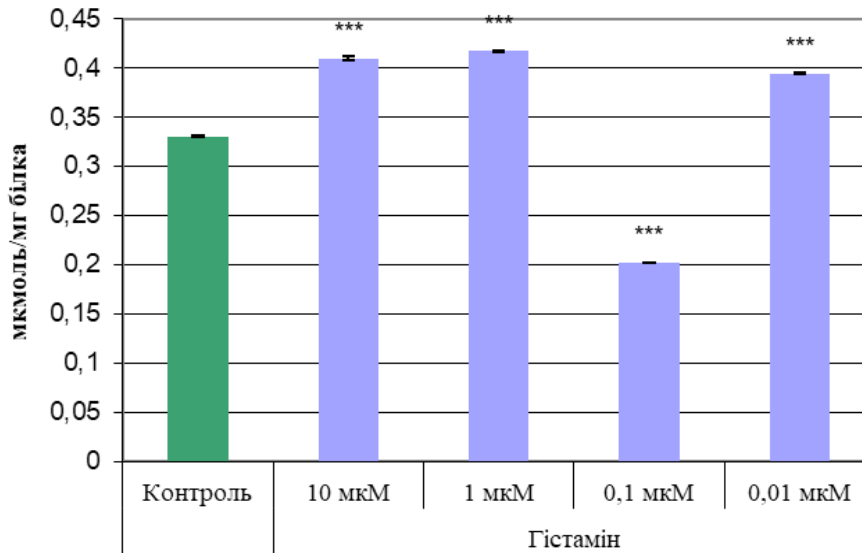


Рис. 10. Вміст відновленого глутатіону у плазмі крові щурів за впливу гістаміну (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

За одночасної дії гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0 мМ відбувається зростання вмісту GSH на 23, 36, 41 % відповідно. І лише за концентрації 5,0 мМ кверцетину на тлі дії гістаміну (10,0 мкМ) вміст GSH незначно знижується - на 2 % (рис. 11). Ці результати свідчать, що поєднана дія гістаміну у високій концентрації та кверцетину має позитивний ефект на окисно-відновні процеси у плазмі крові щурів. Відомо, що за фізіологічних умов підвищення внутрішньоклітинного вмісту GSH забезпечується регенерацією окисненого глутатіону під дією глутатіонредуктази. Але підвищення вмісту цього трипептиду також може відбуватися завдяки його синтезу за участю  $\gamma$ -глутамілу.

Проте за поєднаної дії гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину в концентраціях 0,1 ; 0,5; 3,0 і 5,0 мМ спостерігається зниження вмісту GSH на 34, 20, 21 та 32 % (рис. 12). Отже, за низьких концентрацій біогенного аміну кверцетин посилює вільнорадикальні процеси у плазмі крові.

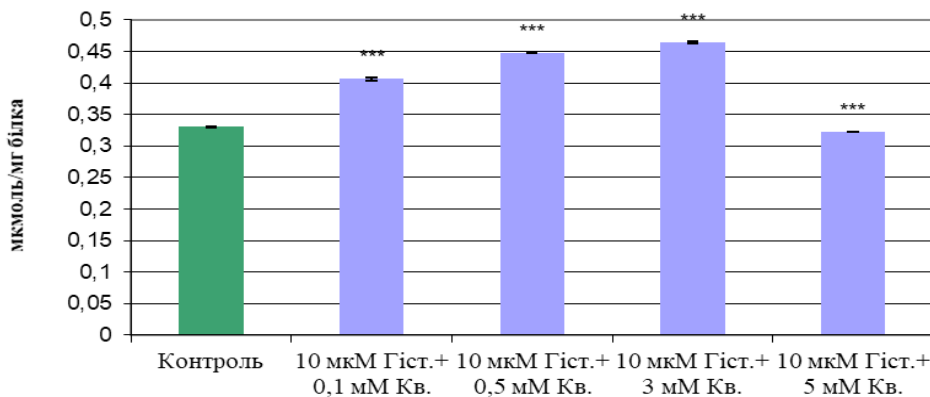


Рис. 11. Вміст відновленого глутатіону у плазмі крові щурів за поєднаного впливу кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ і гістаміну в концентрації 10,0 мкМ (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

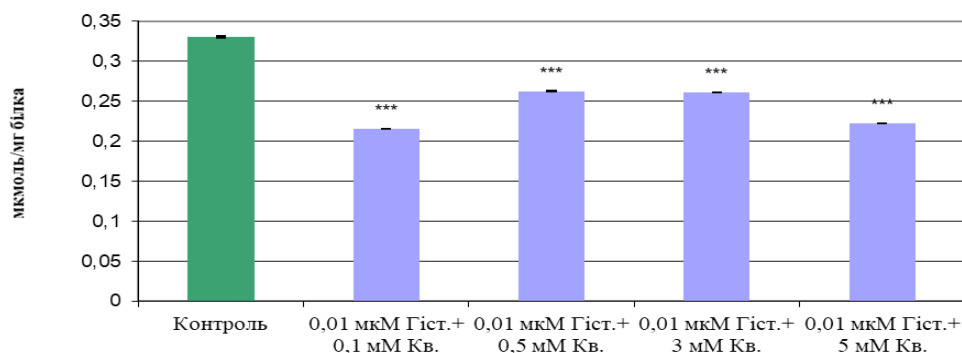


Рис. 12. Вміст відновленого глутатіону у плазмі крові щурів за поєднаного впливу кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ і гістаміну в концентрації 0,01 мкМ (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

Вивчаючи дію кверцетину, гістаміну та поєднаний вплив цих сполук на активність СОД і застосовуючи дисперсійний аналіз, встановлено, що на гістамін припадає максимальна частка впливу (50 %;  $p \geq 0,999$ ). Необхідно зазначити, що частка впливу одночасної дії гістаміну і кверцетину на активність цього ферменту є більш значною (28 %) порівняно з дією кверцетину (рис. 13). Частка впливу кверцетину, хоч і незначна (13,7 %;  $p \geq 0,999$ ), проте достовірна.

Нами встановлено, що на активність КАТ у плазмі крові щурів потужний вплив має гістамін, на нього припадає 57 % ( $p \geq 0,999$ ). Менш виражений вплив належить поєднаній дії досліджуваних сполук (27 %,  $p \geq 0,999$ ; рис. 13). На кверцетин припадає 15,4 % ( $p \geq 0,999$ ).

Виявлено, що на вміст GSH у плазмі крові щурів гістамін спричиняє значний вплив (43 %). Також поєднаній дії гістаміну і кверцетину належить посередній вплив – 36 % ( $p \geq 0,999$ ; рис. 13). Так, частка впливу цього біофлавоноїда становить 21,3 % (рис. 13). Отже, провівши дисперсійний аналіз, можна стверджувати, що на стан антиоксидантної системи, як ферментативної, так і неферментативної ланки, значний вплив має гістамін. Із поданих вище результатів відомо, що за дії гістаміну (в концентраціях 0,1 і 1,0 мкМ) активність СОД знижується. Знижується і активність КАТ за всіх досліджуваних концентрацій біогенного аміну.

Найменша, проте достовірна частка впливу припадає на дію кверцетину у плазмі крові щурів. Так, за дії біофлавоноїда в досліджах *in vitro* активність СОД зростає, а КАТ – знижується. Вміст GSH знижується за дії кверцетину в концентраціях 0,1–1,0 мМ і підвищується в концентраціях 3,0 і 5,0 мМ. Найменша частка впливу свідчить, що кверцетин прямо не впливає на синтез ензиму СОД і КАТ, а діє, ймовірно, на механізми утворення активних кисневих метаболітів (оскільки відомо, що частка впливу 50 % свідчить про посередній вплив чинника на досліджуваний показник; чим нижча частка впливу, тим вплив чинника на показник є більшою мірою опосередкованим).

У науковій праці І. В. Аксенова засвідчено відсутність вираженого впливу кверцетину на посилення антиоксидантного захисту організму [1]. У інтактних щурів, які отримували кверцетин у дозі 200 мг/кг маси тіла протягом 14 днів, не виявлено статистично значущої різниці в концентрації малонового діальдегіду і гідропероксидів ліпідів у плазмі крові, вмісту GSH і GSSG, активності гемоксигенази-1 і NAD(P)H-хіноноксидоредуктази в печінці порівняно з контрольною групою. Надходження кверцетину в складі раціону (2 г/кг) протягом 22 днів не виявляло достовірного ефекту на маркери пероксидного окиснення ліпідів, рівень GSH, активність КАТ, глутатіонпероксидази, СОД і NAD(P)

Н-хіноноксидоредуктази в печінці. Поряд із цим, у праці цього ж автора вказано, що в дослідженнях *in vitro* встановлено антиоксидантну дію поліфенолу, яка може бути пов'язана з безпосередньою інактивацією вільних радикалів завдяки наявності в хімічній структурі кверцетину катехольної групи (бензольного кільця з двома гідроксильними групами); 2,3-подвійного зв'язку, кон'югованого з 4-оксогрупою; гідроксильної групи в положенні 3 і 5, а також опосередкованою транскрипційними факторами Nrf2 і AP-1 активацією ферментів антиоксидантного захисту [1].

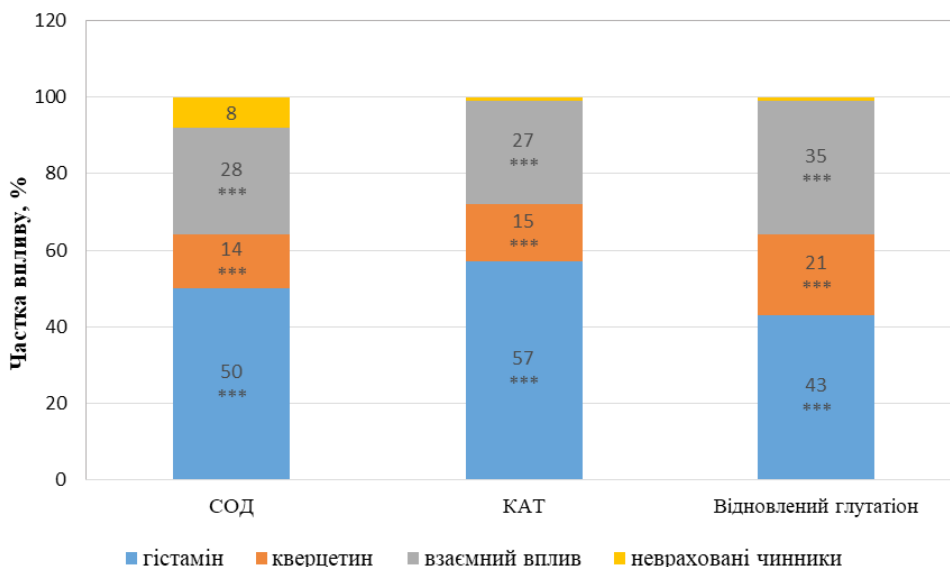


Рис. 13. Результати дисперсійного аналізу впливу гістаміну, кверцетину та їхньої поєднаної дії на активність супероксиддисмутази, каталази і вміст відновленого глутатіону у плазмі крові щурів (\*\*\*) –  $p \geq 0,999$ )

Нами виявлено помірний і достовірний вплив одночасної дії гістаміну і кверцетину на показники антиоксидантної системи плазми щурів. Також нами виявлено цікавий факт, який полягає в тому, що зміна активності СОД і вмісту GSH залежить від концентрації гістаміну у крові щурів за одночасного введення його з кверцетином. Так, за одночасного введення у кров гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину (0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ) відбувається зростання активності СОД і зниження вмісту GSH. За поєднаної дії гістаміну в концентрації 10,0 мкМ і кверцетину (0,1; 0,5; 3,0; 5,0 мМ) виявлено відсутність впливу на активність СОД і певне зростання вмісту GSH. Ймовірно, кверцетин і гістамін у низькій концентрації (0,01 мкМ) зумовлює синергічний негативний вплив на антиоксидантну систему плазми крові щурів.

Отже, нами встановлено, що кверцетин зумовлює зростання активності СОД на фоні зниження активності КАТ і вмісту глутатіону (за низьких концентрацій досліджуваної речовини). Кверцетин у високих концентраціях (3,0 і 5,0 мМ) спричиняє підвищення вмісту GSH.

Додавання до крові гістаміну приводить до зниження активності СОД і КАТ та до підвищення вмісту GSH.

Поєднана дія гістаміну в концентрації 10,0 мкМ та кверцетину зумовлює зниження активності СОД, КАТ і підвищення вмісту GSH. Гістамін у концентрації 0,01 мкМ на тлі дії

кверцетину підвищує активність ензиму СОД, знижуючи активність КАТ і вміст GSH, що свідчить про негативний поєднаний вплив цих сполук на прооксидантно-антиоксидантний стан плазми крові.

За результатами дисперсійного аналізу встановлено, що найбільш значна частка впливу на активність СОД, КАТ і вміст GSH припадає на гістамін. На поєднаний вплив гістаміну і кверцетину у плазмі крові припадає посередня частка впливу, тоді як кверцетину належить мінімальна частка впливу.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аксенов И. В., Авреньева Л. И., Гусева Г. В. и др. Влияние кверцетина на защитный потенциал крыс при повышенном содержании фруктозы в рационе // Вопросы питания. 2018. Т. 87. № 5. С. 6–12.
2. Анасевич Я. М. Вплив кверцетину, комплексу біоантиоксидантів «Тріовіт» та запалення на функціонування прооксидантно-антиоксидантної системи тонкої кишки шурів на тлі гіпермелатонінемії // Вісн. проблем біології і медицини. 2012. Вип. 2. Т. 2 (93). С. 39–42.
3. Бішко О. І. Гістамін: фізико-хімічні та функціональні особливості // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 60. С. 40–57.
4. Бішко О. І., Гарасим Н. П., Санагурський Д. І. Стан системи антиоксидантного захисту в плазмі крові та серцевому м'язі щура за дії гістаміну та гіпохлориту натрію // Ukr. Biochem. J. 2014. Vol. 86. № 6. С. 56–65.
5. Бішко О. І., Гарасим Н. П., Санагурський Д. І. Вміст первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації у тканинах щура за дії гістаміну та гіпохлориту натрію // Біологічні Студії / Studia Biologica. 2014. Т. 8 (2). С. 75–90. DOI: 10.30970/sbi.0802.348.
6. Гарасим Н., Вербецук М., Боднарчук Н. та ін. Інтенсивність вільнорадикальних процесів у плазмі крові шурів за впливу гістаміну і кверцетину // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2020. Вип. 82. С. 36–52. DOI: <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2020.82.03>.
7. Головачук Н. П., Коцюмбас Г. І., Галан М. Б., Санагурський Д. І. Зміна інтенсивності ліпопероксидації й активності ферментів системи антиоксидантного захисту у тканині нирок птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій // Studia Biologica / Біологічні студії. 2011. Т. 5. № 1. С. 77–84.
8. Искусных А. Ю., Башарина О. В., Артюхов В. Г., Алабовский А. А. Влияние гистамина на функциональные свойства нейтрофилов и интенсивность процесса пероксидного окисления липидов в крови доноров // Вестн. ВГУ. Сер.: химия, биология, фармация. 2008. № 1. С. 93–96.
9. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.
10. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. М. Простой и чувствительной метод определения СОД, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. 1990. Т. 36. № 2. С. 88–91.
11. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово», 2006. 556 с.
12. Нетухайло Л. Г., Харченко С. В. Активні форми кисню (огляд літератури) // Young Scientist. 2014. № 9 (12). С. 131–135.
13. Роговский В. С., Матюшин А. И., Шимановский Н. Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза // Междунар. мед. журнал. 2011. № 3. С. 114–118.

14. Сибірна Н. О., Маєвська О. М., Барська М. Л. Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка. 2006. 60 с.
15. Смірнов О., Косик О. Флавоноїди рутин і кверцетин. Біосинтез, будова, функції // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 56. С. 3–11.
16. Gaber El-Saber Batiha, Amany Magdy Beshbishy, Muhammad Ikram et al. The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin // Foods. 2020. Vol. 9 (374). doi:10.3390/foods9030374.
17. Giuseppe Derosa, Pamela Maffioli, Angela D'Angelo, Francesco Di Pierro. A role for quercetin in coronavirus disease 2019 (COVID-19) // Phytother Res. 2020. Oct 9; 10.1002/ptr.6887. P. 1–16. doi: 10.1002/ptr.6887.
18. Harasym N. P., Booklyv M. Y., Zyn A. R. et al. Quercetin and histamine effects on free radical reactions in rat erythrocytes // The Ukrainian Biochemical Journal. 2021. Vol. 93 (1). P. 96–103. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj93.01.096>.
19. Hua Xie, Shao-Heng He. Roles of histamine and its receptors in allergic and inflammatory bowel diseases // World J. Gastroenterol. 2005. Vol. 11 (19). P. 2851–2857.
20. Jadidi-Niaragh F., Mirshafey A. Histamine and histamine receptors in pathogenesis and treatment of multiple sclerosis // Neuropharmacology. 2010. Vol. 59 (3). P. 180–189.
21. Kuthan Hartmut, Ullrich Volker. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // The Biochem. Society. 1982. Vol. 203. P. 551–558.
22. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193 (1). P. 404–415.
23. Morteza Jafarinia, Mahnaz Sadat Hosseini, Neda Kasiri et al. Quercetin with the potential effect on allergic diseases // Allergy Asthma Clin Immunol. 2020. Vol. 16 (36). P. 1–11. doi: 10.1186/s13223-020-00434-0.

Стаття надійшла до редакції 24.03.21

доопрацьована 26.05.21

прийнята до друку 01.06.21

**STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT BLOOD PLASMA AT THE ACTION OF QUARTZETIN AND HISTAMINE IN *IN VITRO* EXPERIMENTS**

**N. Harasym<sup>1</sup>, H. Baran<sup>2</sup>, N. Bodnarchuk<sup>1</sup>, V. Otchych<sup>1</sup>, M. Galan<sup>1</sup>, A. Zyn<sup>3</sup>, D. Sanagursky<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

<sup>2</sup>*Medis Private Enterprise*

*35/V, Nekrasov St., Lviv 79000, Ukraine*

<sup>3</sup>*Lviv Research Forensic Center, MIA of Ukraine*

*24, Konyushynna St., Lviv 79040, Ukraine*

*e-mail: garasymnataly@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua*

The effect of histamine and quercetin, as well as their combined effect on the activity of superoxide dismutase, catalase and the content of reduced glutathione in the blood plasma of rats was studied. It was found that the addition to the blood of quercetin at a concentration of 0.1; 0.3; 0.5; 1.0; 5.0 mM causes an increase in superoxide dismutase activity. It was found that histamine at concentrations of .01 and 0.1  $\mu\text{M}$  leads to a decrease in superoxide dismutase activity by 31 and 17 %, respectively. Whereas the biogenic amine in the lowest and highest concentrations does not change the activity of superoxide dismutase in plasma. At simultaneous introduction into blood of histamine in the maximum concentration (10.0  $\mu\text{M}$ ) and quercetin in concentration of 0.1; 0.5; 3.0 mM normalizes the activity of superoxide dismutase. And only the combined action of histamine of this concentration and quercetin at a concentration of 5.0 mM reduces the activity of the enzyme by 21 %. Histamine at a concentration of 0.01  $\mu\text{M}$  and the simultaneous action of quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3.0; 5.0 mM increases the activity of superoxide dismutase, which indicates the generation of reactive oxygen species, in particular the superoxide anion radical. It was found that the addition of whole concentrations of quercetin to whole blood causes a decrease in plasma catalase activity. The combined action of quercetin and histamine causes a decrease in catalase activity.

It was found that the addition to the blood of quercetin at a concentration of 0.1; 0.3; 0.5; 1.0 mM causes a decrease in the content of reduced glutathione. Quercetin at a concentration of 3.0 and 5.0 mM causes an increase in reduced glutathione by 27 and 14 %, respectively, compared to the reference plasma. Histamine at concentrations of 10.0, 1.0 and 0.01  $\mu\text{M}$  leads to an increase in the amount of reduced glutathione by 24, 26 and 19 %, respectively. And at a concentration of 0.1  $\mu\text{M}$ , the biogenic amine reduces the GSH content by 39 %. With simultaneous introduction into the blood of histamine at a concentration of 10.0  $\mu\text{M}$  and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3.0 mM there is an increase in the content of reduced glutathione. And only at a concentration of 5.0 mM quercetin on the background of the action of histamine (10.0  $\mu\text{M}$ ), the content of reduced glutathione is slightly reduced. However, with the combined action of histamine at a minimum concentration (0.01  $\mu\text{M}$ ) and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3.0 and 5.0 mM there is a decrease in the content of reduced glutathione.

After performing a dispersion analysis, it was found that the state of the antioxidant system, both enzymatic and non-enzymatic, is significantly affected by histamine. The smallest, but significant share of the effect is on the action of quercetin in the blood plasma of rats. The indirect and significant effect of the simultaneous action of histamine and quercetin on the antioxidant system of rat plasma was revealed.

*Keywords:* blood plasma, superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione, quercetin, histamine

**ВМІСТ СІАЛОВИХ КИСЛОТ, АТФ І СУПЕРОКСИДНОГО АНІОН-РАДИКАЛА  
У ЗАРОДКАХ В'ЮНА ЗА ВПЛИВУ ФЛУРЕНІЗИДУ**

**Н. Боднарчук, Н. Гарасим, А. Тріль, Д. Санагурський**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: nataljabodnarchyk@ukr.net*

Відомо, що флуренізид є новосинтезованим препаратом із вираженими про-тимикробними, імуномодуючими функціями. Проте невідома його дія на функціо-нальні властивості клітин, зокрема, зародкових. Метою цього дослідження було вста-новити наявність сіалових кислот як кінцевих компонентів глікокон'югатів, основної макроергічної сполуки – АТФ, оцінити генерацію  $O_2^-$  у зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) за впливу антибіотика флуренізида.

Дослідження проводили на зародках в'юна. Після запліднення зиготи поміща-ли в чашки Петрі з розчинами флуренізида в концентраціях 0,01; 0,05; 0,15; 1,0; 5,0; 15,0 мМ, де залишали розвиватися. На етапах розвитку 2 бластомери, 16 бластомерів, 64 бластомери, 256 бластомерів і 1024 бластомери відбирали проби. Паралельно про-водили контрольні дослідження, де до зразків не додавали флуренізид. У відібраних зразках визначали вміст сіалових кислот, АТФ, супероксидного аніон-радикала.

Нами встановлено, що флуренізид у найнижчій концентрації (0,01 мМ) не зу-мовлює змін у вмісті супероксидного аніон-радикала впродовж раннього ембріогенезу. Антибіотик у максимальній концентрації спричиняє зміни вмісту вільного радикала з етапу розвитку 64 бластомери до 1024 бластомери, причому зі стадії 64 бластомери відбувається підвищення його кількості, а на етапі розвитку 16 бластомерів – зни-ження. Ймовірно, флуренізид у концентрації 15,0 мМ є найбільш реакційноздатним. Відомо, що флуренізид виявляє антиоксидантні властивості, проте у його структурі наявні групи, які мають токсичну дію, котра є найбільш вираженою за впливу висо-ких концентрацій. Загалом, на етапі розвитку 16 бластомерів відбувається зниження кількості  $O_2^-$  за впливу досліджуваного антибіотика. В цей час у контролі вміст цього вільного радикала зростає, порівняно з іншими етапами розвитку. Флуренізид веде до зростання вмісту супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку 2, 64 бластомери і особливо виражено - за концентрацій від 0,05 до 15,0 мМ на етапах розвитку 256 і 1024 бластомери. 1024 бластомери є десятим етапом поділу, де відбувається його десинхронізація і знижується мітотичний індекс, що відображається на інтенсивності утворення супероксидного аніон-радикала.

Антибіотик зумовлює підвищення вмісту сіалових кислот на першому етапі дроблення (2 бластомери). На етапі 16 бластомерів флуренізид у низьких концентраці-ях веде до зниження вмісту сіалових кислот. Проте вже на етапі поділу 64 і 256 бласто-мерів досліджувана речовина в усіх концентраціях зумовлює переважаюче зниження кількості сіалових кислот. На останньому етапі синхронних дроблень (1024 бласто-мери) флуренізид у максимальній досліджуваній концентрації (15,0 мМ) зумовлює значне зростання вмісту сіалових кислот.

Флуренізид у концентрації 0,15 мМ, 5,0 мМ і 15,0 мМ зумовлює зниження вмісту АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів на 28, 67 і 38 % від-повідно. Зростання вмісту АТФ на 33 % відбувається за впливу флуренізида в кон-центрації 1,0 мМ. Вміст АТФ також підвищується на етапі розвитку зародків 1024 бластомерів за впливу флуренізида всіх досліджуваних концентрацій.

За допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що значний вклад у зростання вмісту АТФ, сіалових кислот і супероксидного аніон-радикала під час раннього ембріогенезу зародків в'юна чинить фактор розвитку зародків, тоді як фактор флуренізиду має менш слабкий вклад [4].

Отже, у результаті досліджень засвідчено, що флуренізид зумовлює посилення генерації супероксидного аніон-радикала, зниження вмісту сіалових кислот, а також зміну вмісту АТФ у зародкових клітинах упродовж раннього ембріогенезу.

*Ключові слова:* зародки в'юна; флуренізид; сіалові кислоти, супероксидний аніон-радикал, АТФ

Флуренізид – препарат 4 класу токсичності, синтезований в Україні, один із похідних флуорену. Завдяки наявності гідразних груп має певну структурну схожість з ізоніазидом. За даними Національного інституту фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського (м. Київ, МОЗ України), мінімальна інгібуюча концентрація флуренізиду щодо лабораторних і виділених від хворих штамів мікобактерій туберкульозу, чутливих до ізоніазиду, становить 0,04–0,15 мкг/мл на середовищах Проскауера-Бека та 0,08–0,30 мкг/мл на середовищі Левенштейна-Йенсена [12, 13].

Загалом, активність флуренізиду *in vitro* значна, але поступається удвічі ізоніазиду. Штами, стійкі до інших протитуберкульозних препаратів, залишаються чутливими до флуренізиду [9, 23]. Проте залишається невідомий вплив флуренізиду на функціональні параметри клітин-еукаріот.

З'ясовано механізми впливу флуренізиду на іонтранспортувальні системи зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. Встановлено, що вплив флуренізиду на зародки холоднокровних протягом ембріогенезу реалізується на мембранному рівні, а саме через інгібування  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази. Ступінь інгібувального впливу препарату залежить не тільки від концентрації флуренізиду в середовищі інкубації, а й від стадії розвитку зародків і структури самого флуренізиду, що визначає його фізико-хімічні властивості [3]. Залишається невивченою дія флуренізиду на прооксидантні властивості, енергозабезпечення та стан сіалових кислот як кінцевих компонентів глікокон'югатів клітин.

Сіалові кислоти – речовини, наявні в усьому організмі, але переважно у зв'язаному вигляді. Найбільше їх у слині та слизових оболонках, певна кількість є у крові. Завдяки сіаловим кислотам секрет слизових стає більш в'язким, що дає їм змогу виступати як захист від фізичного і хімічного впливу. У сироватці крові сіалові кислоти зв'язуються з її білками і частиною гормонів, забезпечуючи їм можливість циркулювати більш тривалий час. Від сіалових кислот також залежить тривалість циркуляції у крові еритроцитів і лімфоцитів. Встановлено, що процес старіння еритроцитів пов'язаний із тим, що у їхньому глікокаліксі зменшується кількість сіалових кислот [10, 11]. Відомо, що на поверхні плазматичної мембрани клітин містяться рецептори, у структурі яких є сіалові кислоти. Сіалові кислоти створюють негативний поверхневий потенціал, причетний до адгезії клітин [18].

Отже, вивчення вмісту сіалових кислот є надзвичайно важливим для розуміння впливу флуренізиду на нормальний розвиток зародкових клітин [16].

Відомо, що за патологічних станів, зокрема, за дії токсичних речовин, ушкоджуються мітохондрії, а це відображається на синтезі АТФ [21, 24, 28, 29].

Мета роботи – встановити ушкодження глікокон'югатів (за вмістом сіалових кислот), стан основного енергетичного забезпечення (за вмістом АТФ), оцінити генерацію вільних радикалів (за вмістом  $\text{O}_2^-$ ) у зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. за впливу антибіотика флуренізиду.



### Матеріали та методи

Експерименти проводили на зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L., які отримували і запліднювали за методикою Нейфаха (Нейфах А.А., 1977). Стадії розвитку контролювали візуально під біокулярним мікроскопом МБС-9. Через 5–10 хв після запліднення відмиті зиготи інкубували у фізіологічному розчині Гольфрета (CaCl<sub>2</sub> – 1,8 ммоль/л, NaCl – 110 ммоль/л, KCl – 1,4 ммоль/л, трис-НСІ – 5 ммоль/л, t = 20–22 °С), який містив розчин флуренізиду (використовували новосинтезовану професором Л. І. Петрух у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького речовину) в концентраціях 0,01; 0,05; 0,15; 1,0; 5,0; 15,0 мМ. Флуренізид у концентрації 1 мМ є добовою терапевтичною дозою для організму (за хламідійного ендоцервіциту, уретриту, ендометриту). Зародки в'юна відбирали через 60, 150, 210 і 330 хв після запліднення яйцеклітин, що відповідали першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) і десятому (1024 бластомери) дробленню зиготи. Паралельно проводили контрольні дослідження, де до зразків не додавали флуренізид. Бластомери відбирали на зазначених етапах розвитку і здійснювали їхню гомогенізацію. У відібраних зразках визначали вміст сіалових кислот методом Гесса (використовували безбілковий фільтрат, додаючи до гомогенатів 10 % трихлороцтової кислоти) [10], АТФ (інкубацію проводили за температури 24 °С, оскільки в'юни є холоднокровними) [1], супероксидного аніон-радикала [6] та загального білка за методом Лоурі. Вміст супероксидного аніон-радикала визначали за його реакцією нітросинього тетразолію. Принцип методу визначення вмісту сіалових кислот полягає в тому, що у результаті гідролізу безбілкового фільтрату еритроцитів крові зі складу сіалоглікопротеїнів виділяються сіалові кислоти, які з розчином сульфатної кислоти в льодяній оцтовій кислоті у киплячій водяній бані дають кольорову реакцію. Вміст АТФ визначали за кількістю фосфору неорганічного. Принцип цього методу базується на гідролізі АТФ (який відбувається під час кип'ятіння зразків за наявності НСІ), за результатом чого звільняється залишок фосфорної кислоти (одиниці виміру ммоль Рі/мг білка). Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію Стьюдента. Статистичну обробку всіх результатів досліджень здійснювали з використанням програми „Excel-2010” для Windows [14].

### Результати і їхнє обговорення

Нами встановлено, що на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомери вміст супероксидного аніон-радикала підвищується за впливу флуренізиду в концентрації 1,0 і 5,0 мМ (у 3,1 та 1,7 разу відповідно). Причому за вищої концентрації підвищення вмісту радикала є менш інтенсивним (рис. 1). Флуренізид у концентраціях 0,01; 0,05; 0,15; 15,0 мМ не спричиняє змін вмісту супероксидного аніон-радикала на цьому етапі розвитку зародків.

На етапі 16 бластомерів вміст супероксидного аніон-радикала є в межах норми за дії флуренізиду в концентраціях 0,01; 0,15; 5,0 мМ (рис. 2). Найменший його вміст спостерігається за концентрації антибіотика 0,05; 1,0 і 15,0 мМ (зниження у 0,62; 0,59; 0,63 разу відповідно порівняно з контролем). Під час подальшого розвитку зародків (на етапі 64-х бластомерів) у середовищі з флуренізидом встановлено підвищення вмісту O<sub>2</sub><sup>-</sup> лише за концентрації 15,0 мМ (в 1,53 разу). В інших випадках він перебуває на рівні контролю (рис. 3). Проте на етапі розвитку зародків в'юна 256-х бластомерів відбувається підвищення вмісту O<sub>2</sub><sup>-</sup> приблизно на 45–71 % за усіх досліджуваних концентрацій флуренізиду, крім концентрації 0,01 мМ (рис. 4).

Зміна вмісту супероксидного аніон-радикала залишається такою ж і на етапі розвитку зародків 1024 бластомерів. Нами встановлено, що за впливу антибіотика в концентрації 0,05 мМ вміст зростає у 0,8 разу, за концентрації 0,15 мМ і 1,0 мМ – в 1,33 разу, за концентрації 5 мМ – в 1,5 разу, за концентрації 15,0 мМ – в 1,46 разу. Отже, найбільший вміст показника виявлено за концентрації флуренізиду 5,0 мМ (рис. 5).

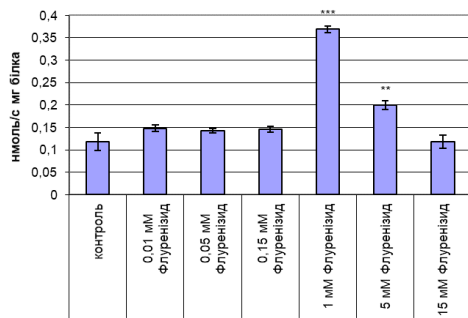


Рис. 1. Вміст супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомери за впливу флуренізиду різних концентрацій (\*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

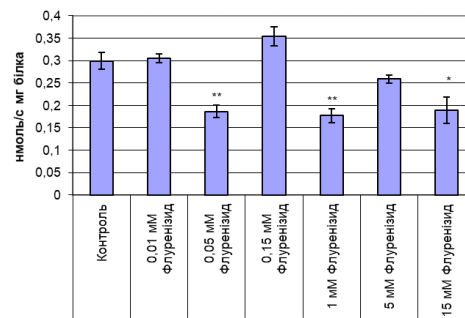


Рис. 2. Вміст супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку зародків в'юна 16 бластомерів за впливу флуренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ )

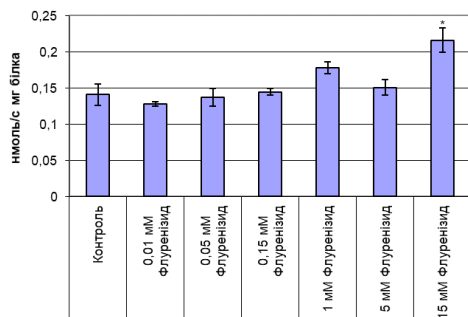


Рис. 3. Вміст супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку зародків в'юна 64 бластомери за впливу флуренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ )

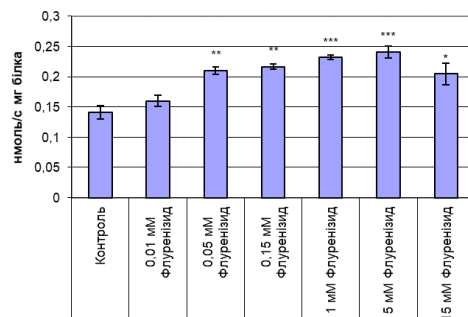


Рис. 4. Вміст супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку зародків в'юна 256 бластомерів за впливу флуренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

У контролі нами зафіксовано, що вміст супероксидного аніон-радикала підвищується на етапах 16 і 1024 бластомерів, тоді як на інших стадіях розвитку його кількість є приблизно однаковою (рис. 6).

Отже, флуренізид у найнижчій концентрації 0,01 мМ не зумовлює змін у вмісті супероксидного аніон-радикала упродовж раннього ембріогенезу. Антибіотик у максимальній концентрації зумовлює зміни у вмісті вільного радикала з етапу розвитку 16 бластомерів до 1024 бластомерів, причому зі стадії 64 бластомерів відбувається підвищення його кількості. Ймовірно, флуренізид у концентрації 15 мМ є найбільш реакційноздатним. Відомо, що флуренізид має антиоксидантні властивості (забезпечується флуореновим ядром, який бере участь у електрофільному заміщенні), проте у його структурі є групи, які

мають токсичну дію (залишок ізонікотинової кислоти виявляє токсичні властивості), яка найбільш виражена за впливу високих концентрацій [5].

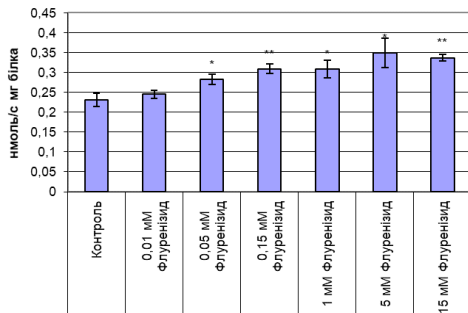


Рис. 5. Вміст супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку зародків в'юна 1024 бластомери за впливу флуоренізіду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ )

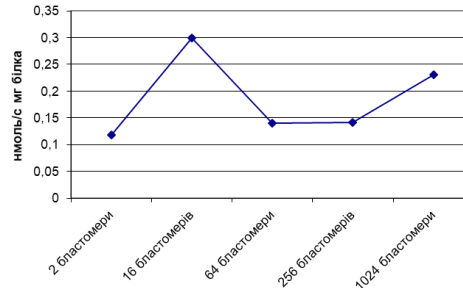


Рис. 6. Вміст супероксидного аніон-радикала на етапах розвитку зародків в'юна 2, 16, 64, 256 і 1024 бластомери в контролі

Тільки на етапі розвитку 16 бластомерів відбувається зниження кількості  $O_2^-$  за впливу досліджуваного антибіотика. У цей час у контролі вміст цього вільного радикала зростає, порівняно з іншими етапами розвитку. Порівнюючи ці дані з попередніми нашими результатами, встановили, що на етапі розвитку 16 бластомерів значно інтенсифікуються процеси ліпопероксидації, ймовірно, саме через вступання в реакцію  $O_2^-$  з ліпідами, тому його вміст знижується [5].

Флуоренізид веде до зростання вмісту супероксидного аніон-радикала на етапі розвитку 2, 64 бластомери і особливо виражено - за концентрацій від 0,05 до 15,0 мМ на етапах розвитку 256 і 1024 бластомери. 1024 бластомери є десятим етапом поділу. Супероксидний аніон-радикал утворюється як побічний продукт під час роботи дихального ланцюга мітохондрій [2, 17, 19]. Також може утворюватися під час роботи інших ферментів (НАДН-дегідрогенази, ксантинооксидази) [20, 25, 27].

Нами встановлено, що на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомери вміст сіалових кислот достовірно підвищується за впливу флуоренізіду всіх досліджуваних концентрацій (рис. 7). Нами виявлено найінтенсивніше зростання кількості сіалових кислот за дії досліджуваної речовини у концентрації 5,0 і 15,0 мМ (на 216 і 131 % відповідно).

На етапі 16 бластомерів флуоренізид у найнижчій досліджуваній концентрації (0,01 мМ) не зумовлює достовірних змін щодо вмісту сіалових кислот. Досліджувана речовина у концентрації 0,05; 0,15 мМ спричиняє зниження кількості сіалових кислот на 29 і 37 % відповідно (рис. 8). Високі концентрації флуоренізіду (1,0; 5,0 15,0 мМ) ведуть до інтенсифікації зростання вмісту досліджуваної речовини. Найбільша кількість сіалових кислот виявлена у зародках в'юна за найвищої концентрації антибіотика (15,0 мМ; зростання на 200 %).

Під час подальшого розвитку зародків на етапі 64 бластомерів у середовищі з флуоренізідом встановлено зниження вмісту сіалових кислот. Найменший їхній вміст спостерігається за концентрації антибіотика 1,0; 5,0 і 15,0 мМ (зниження на 53, 64, 57 % відповідно) (рис. 9).

Проте на етапі розвитку зародків в'юна 256 бластомерів за впливу флуоренізіду відбувається зниження вмісту сіалових кислот за усіх досліджуваних концентрацій флуоренізіду, окрім концентрацій 0,01 мМ і 15,0 мМ (рис. 10).

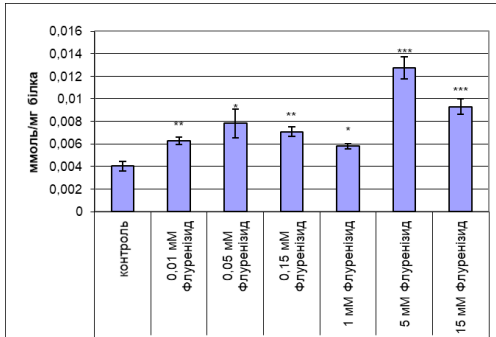


Рис. 7. Вміст сіалових кислот на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомери за впливу флуоренізида різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

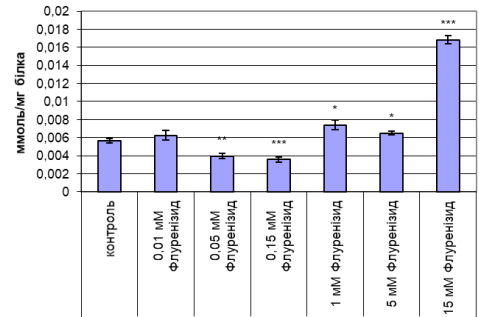


Рис. 8. Вміст сіалових кислот на етапі розвитку зародків в'юна 16 бластомерів за впливу флуоренізида різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

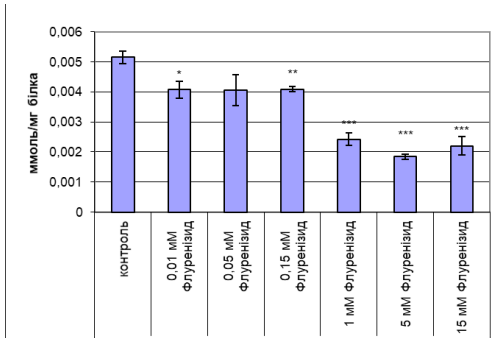


Рис. 9. Вміст сіалових кислот на етапі розвитку зародків в'юна 64 бластомери за впливу флуоренізида різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

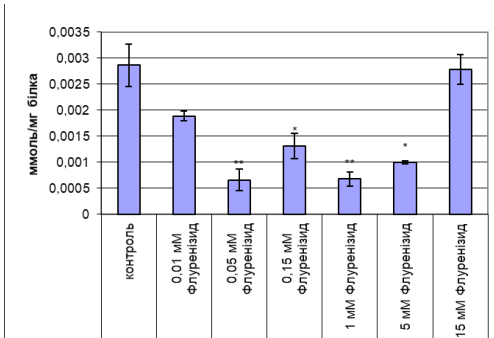


Рис. 10. Вміст сіалових кислот на етапі розвитку зародків в'юна 256 бластомерів за впливу флуоренізида різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ )

Вміст сіалових кислот підвищується на етапі розвитку зародків 1024 бластомерів порівняно з етапом розвитку 256 бластомерів. Нами встановлено, що за впливу антибіотика у концентрації 0,05 і 1,0 мМ вміст сіалових кислот зменшується на 68 і 45 % відповідно щодо контролю, а за концентрації 15,0 мМ – збільшується на 58 % (рис. 11).

У контролі нами зафіксовано, що вміст сіалових кислот зростає на етапі розвитку зародків в'юна 16 бластомерів на 39 % і значно знижується (на 29 %) порівняно з етапом 2 бластомери (рис. 12).

Отже, антибіотик зумовлює підвищення вмісту сіалових кислот на першому етапі дроблення (2 бластомери). На наступному етапі (16 бластомерів) флуоренізид у низьких концентраціях веде до зниження вмісту сіалових кислот. Проте вже на етапі поділу 64 і 256 бластомерів досліджувана речовина в усіх концентраціях зумовлює переважаче зниження кількості сіалових кислот. На останньому етапі синхронних дроблень (1024 бластомери) флуоренізид у максимальній досліджуваній концентрації (15 мМ) зумовлює значне зростання вмісту сіалових кислот.

Відомо, що на поверхні кожної клітини живого організму міститься шар гліканів, його глікокалікс, який забезпечує її зв'язок із навколишнім середовищем. У еукаріотів глікокалікс складається з глікокон'югатів: глікопротеїнів, гліколіпідів, протеогліканів,

більшість вуглеводних компонентів яких містять кінцеві сіалові кислоти, які в основному представлені N-ацетилнейраміною кислотою. Сіалові кислоти у складі гліканів впливають на процеси адгезії, розпізнавання речовин, визначають тривалість циркуляції у крові деяких гормонів та білків, беруть участь у гормонрецепторній взаємодії [11, 22]. Вуглеводна частина здебільшого стабілізує структуру молекули глікопротеїну, обмежуючи неспецифічні білок-білкові взаємодії та захищає від дії пептидогідролаз. Разом з тим, зміна структури глікану та положення окремих вуглеводних залишків визначає фізіологічну активність протеїнів, впливає на адгезію клітин, їхню диференціацію та проліферацію. Глікопротеїновим комплексам належить як провідна роль у зв'язуванні й виведенні ксенобіотиків, так і імуномодульвальна й антиоксидантна активність, а також здатність інгібувати протеїнази [8, 26]. Враховуючи значення глікопротеїнів, до складу яких входять сіалові кислоти, у функції розмноження, диференціації, проліферації й адгезії, зміни вмісту сіалових кислот за дії флуореніду будуть відображатися на зазначених процесах розвитку зародків в'юна.

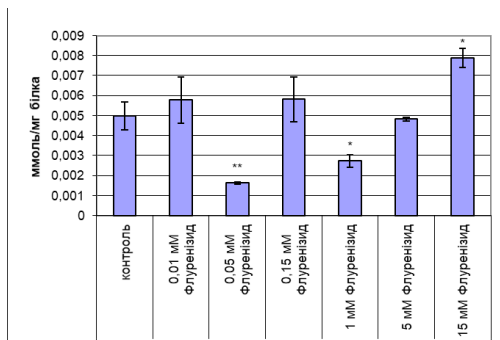


Рис. 11. Вміст сіалових кислот на етапі розвитку зародків в'юна 1024 бластомери за впливу флуореніду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ )

Провівши дослідження, ми встановили, що на етапі розвитку зародків в'юна 2 бластомери флуоренід у найнижчій досліджуваній концентрації (0,01 мМ) не зумовлює змін вмісту АТФ. Проте флуоренід у концентрації 0,05; 0,15; 1,0 та 5,0 мМ веде до підвищення вмісту АТФ у зародках в'юна на 67, 30, 61 і 188 % відповідно (рис. 13). Потрібно відмітити, що антибіотик у найвищій досліджуваній концентрації (15,0 мМ) спричиняє зниження утворення АТФ на 22 %.

На етапі розвитку зародків в'юна 16 бластомерів за впливу флуореніду в концентрації 0,01 мМ і 0,05 мМ відбувається підвищення вмісту АТФ на 59 і 123 %. Відмічено, що флуоренід у концентрації 0,15 мМ веде до зниження вмісту АТФ на 77 %. Нами відмічено, що за дії антибіотика у високих концентраціях (1,0; 5,0; 15,0 мМ) вміст АТФ перебуває на рівні контрольних значень (рис. 14).

Під час подальшого розвитку зародків на етапі 64 бластомерів у середовищі з флуоренідом встановлено зниження вмісту АТФ. Зокрема, за концентрації флуореніду 0,05; 0,15; 5,0 і 15,0 мМ вміст досліджуваного показника знижується на 29; 27; 54 та 26 % відповідно. Не зумовлює змін вмісту АТФ флуоренід у концентрації 0,01 і 1,0 мМ (рис. 15).

Нами виявлено, що флуоренід у концентрації 0,15; 5,0; 15,0 мМ зумовлює зниження вмісту АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів на 28; 67 та 38 % від-

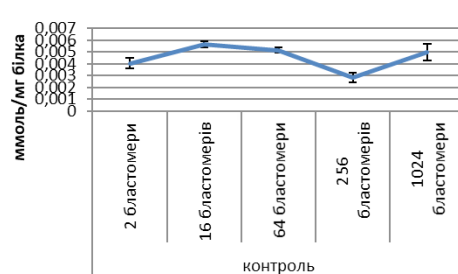


Рис. 12. Вміст сіалових кислот на різних етапах раннього розвитку зародків в'юна у контролі

повідно (рис. 16). Зростання вмісту АТФ на 33 % відбувається за впливу флуренізиду в концентрації 1,0 мМ. Мінімальні концентрації антибіотика не спричинюють зміни вмісту АТФ у зародках.

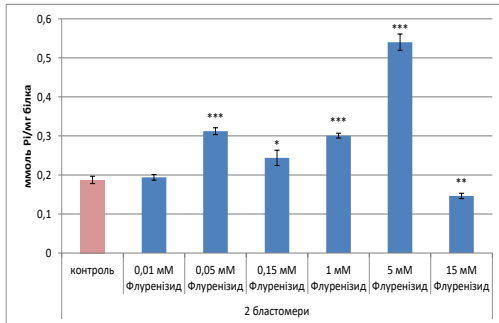


Рис. 13. Вміст АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери за впливу флуренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

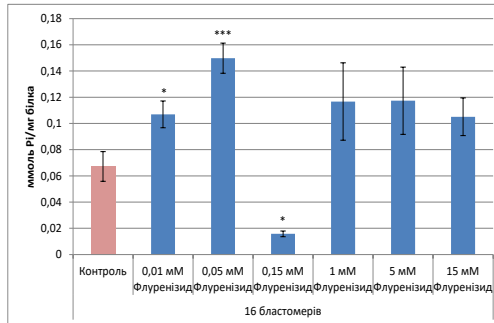


Рис. 14. Вміст АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за впливу флуренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

Вміст АТФ підвищується на етапі розвитку зародків 1024 бластомери за впливу флуренізиду всіх досліджуваних концентрацій (рис. 17). Так, кількість АТФ зростає на 25 % за концентрації 0,01 мМ, на 51 % за концентрації 0,05 мМ, на 50 % за концентрації 0,15 мМ, на 61 % за концентрації 1,0 мМ, на 164 % за концентрації 5,0 мМ, на 53 % за концентрації 15,0 мМ. Отже, найбільш інтенсивно утворюється АТФ у зародках в'юна за впливу флуренізиду в концентрації 5,0 мМ. Потрібно відмітити, що у контролі вміст АТФ на етапі розвитку 16 бластомерів є найнижчим порівняно з іншими етапами розвитку, тоді як на етапі розвитку 64 бластомери – найвищим (рис. 18).

Отже, узагальнюючи наші результати, можна зробити висновок, що антибіотик у переважній більшості концентрацій зумовлює підвищення вмісту АТФ на першому етапі дроблення. На етапі поділу 64 та 256 бластомерів досліджувана речовина зумовлює зниження кількості АТФ. Проте вже на останньому етапі синхронних дроблень флуренізид у всіх досліджуваних концентраціях зумовлює значне зростання вмісту АТФ. Ймовірно, під час першого поділу відбувається зниження використання АТФ клітинами. Проте вже на подальших етапах розвитку відбувається ушкодження мітохондрій і синтез АТФ уповільнюється [3].

Флуренізид у найнижчій концентрації (0,01 мМ) чинить мінімальний негативний вплив на зростання вмісту АТФ упродовж раннього ембріогенезу зародків в'юна. За цієї концентрації флуренізиду вміст АТФ зростає на етапі розвитку 16 і 1024 бластомери. На інших етапах розвитку вміст показника перебуває в межах контролю. Незначний вплив також чинить флуренізид у концентрації 1,0 мМ. За впливу цієї концентрації вміст АТФ зростає на етапі розвитку 2, 256 і 1024 бластомери.

Значний негативний вплив чинить флуренізид у концентрації 0,15 мМ. Так, на етапі розвитку 2 бластомери вміст АТФ зростає, проте вже на наступних етапах розвитку включно до 256 бластомерів вміст показника знижується. На етапі розвитку 1024 бластомери кількість АТФ знову підвищується порівняно з контролем. Потужний вплив флуренізиду зафіксований і за дії його у концентрації 15,0 мМ, де відбувається зниження вмісту АТФ уже на першому етапі поділу зародків в'юна. Зменшення вмісту АТФ відбувається і на ета-

пі розвитку 64 і 256 бластомерів. Проте вже на етапі розвитку 1024 бластомери вміст АТФ підвищується порівняно з контролем. Негативний вплив низьких і високих концентрацій флуренізиду був засвідчений на зародках в'юна попередніми дослідженнями. Зокрема, було встановлено, що флуренізид у концентраціях 5,0 і 15,0 мМ підвищує вміст гідропероксидів ліпідів упродовж розвитку зародків. Антибіотик у концентраціях 0,01; 0,05; 0,15 і 1,0 мМ веде до підвищення кількості ТБК-позитивних продуктів [5].

Етап розвитку 16 бластомерів виявився найменш чутливим до дії флуренізиду, де вміст АТФ переважно перебуває на рівні контролю. Етап розвитку 64 бластомери є найбільш чутливим, де вміст АТФ переважно знижується. На останньому етапі синхронних поділів виявлено відмінний вплив флуренізиду, а саме зростання концентрації АТФ у бластомерах.

Варто відмітити, що у контролі вміст АТФ на етапі розвитку 16 бластомерів є найнижчим порівняно з іншими етапами розвитку, тоді як на етапі розвитку 64 бластомери – найвищим.

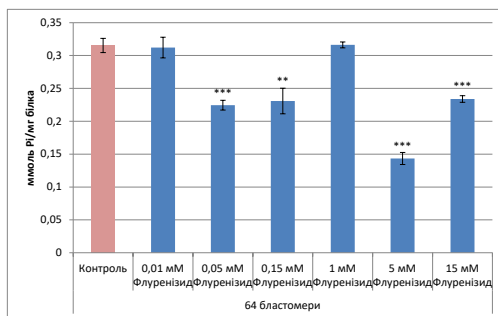


Рис. 15. Вміст АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за впливу флуренізиду різних концентрацій (\*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

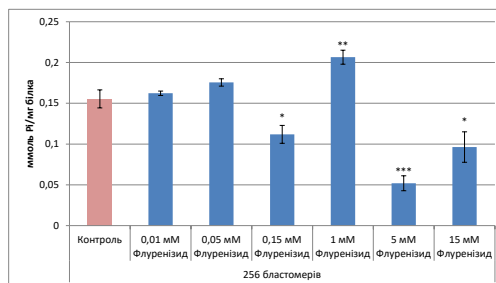


Рис. 16. Вміст АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів за впливу флуренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

Відомо, що зміна співвідношення набухлих і компактних мітохондрій, що ростуть, відображає певний функціональний стан мітохондрій. При вивченні популяції мітохондрій зародків ранніх стадій шпорцевої жаби було показано, що набухлий і компактний (стиснутий) тип мітохондрій представлені у рівних кількостях [7]. У яйцях в'юна немає суттєвої зміни вмісту мітохондріальних білків за час розвитку від запліднення до вилуплення з оболонки, що збігається зі спостереженнями про сталість вмісту цитохромів а, b та с і активності цитохромоксидази. Проте показано, що в зародках від стадії 9 год (пізня бластула) до стадії 30 год (стадія 17 пар сомітів) за 21,5 °С концентрація мітохондріальних білків значно зменшується [7]. Отже, результати досліджень щодо мітохондрій і мітохондріальних білків є неоднозначними. За нашими результатами, можна твердити, що впродовж раннього ембріогенезу відбувається зміна синтезу АТФ.

Вивчаючи дію флуренізиду на зростання вмісту АТФ,  $O_2^-$  та сіалових кислот у зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.), за результатами дисперсійного аналізу встановлено, що такий фактор, як розвиток зародка, має провідний вплив на ці сполуки. Так, частка впливу фактора розвитку становить 56 % на вміст АТФ, 46 % – на вміст сіалових кислот, 47 % – на вміст супероксидного аніон-радикала (рис. 19).

Флуренізид чинить незначний вплив на зростання вмісту АТФ, сіалових кислот і супероксидного аніон-радикала впродовж раннього ембріогенезу зародків в'юна за дії флуренізиду, частка впливу якого становить 9, 15 і 11 % (рис. 19).

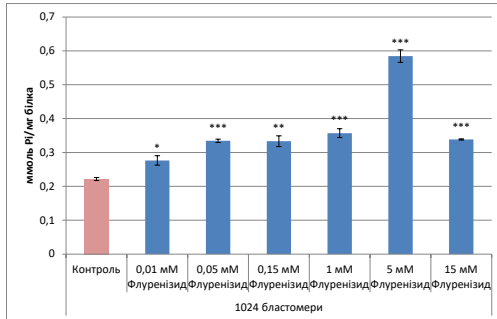


Рис. 17. Вміст АТФ у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за впливу флуоренізиду різних концентрацій (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ )

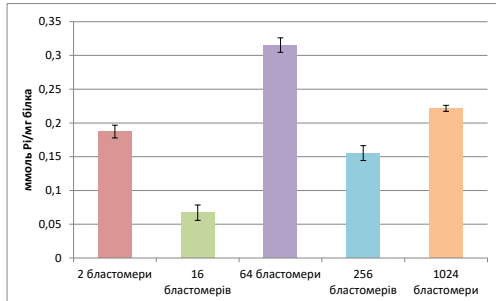


Рис. 18. Вміст АТФ в інтактних зародках в'юна на етапі розвитку 2, 16, 64, 256 та 1024 бластомери

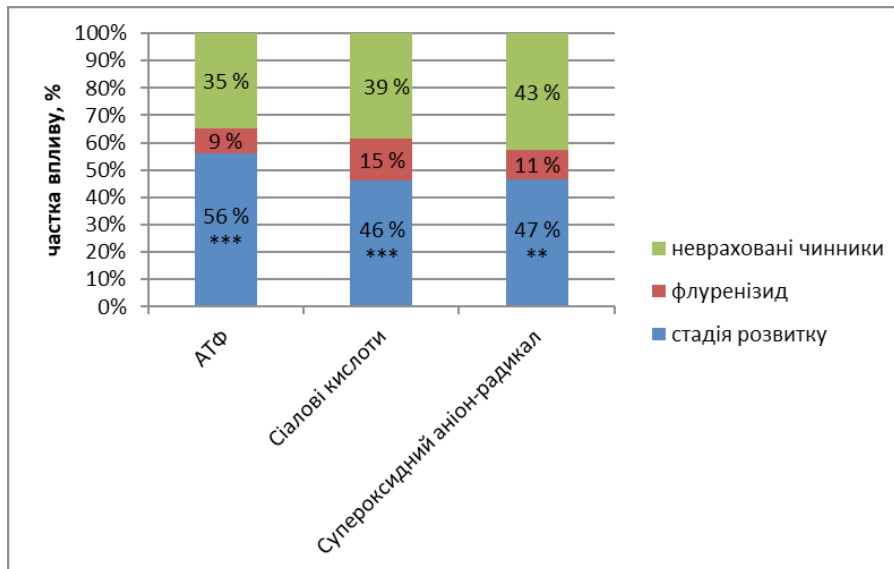


Рис. 19. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу флуоренізиду на зростання вмісту АТФ,  $O_2^-$ , сіалових кислот у зародках в'юна

Потрібно зазначити, що на частку впливу неврахованих чинників припадає 35 % (щодо АТФ), 39 % (щодо сіалових кислот), 43 % (щодо супероксидного аніон-радикала) (рис. 19).

Отже, значний вклад у зростання вмісту АТФ, сіалових кислот і супероксидного аніон-радикала чинить фактор розвитку зародків в'юна. Тому під час інтерпретації результатів дослідження потрібно приділяти більшу увагу змінам на молекулярному і клітинному рівні, які відбуваються у зародкових об'єктах. Однією з таких особливостей є те, що зародки на ранньому етапі не містять цитохрому р-450 на ендоплазматичній сітці, який відповідає за безпосереднє знешкодження шкідливих сполук, ксенобіотиків, лікарських препаратів. Таку функцію виконує в зародкових клітинах лише глутатіон-S-трансфераза.

Відповідно до поставленої мети і завдань, досліджено вплив флуоренізиду на вміст  $O_2^-$ , АТФ і сіалових кислот у зародках в'юна впродовж раннього ембріогенезу.



Проаналізовано результати дисперсійного аналізу. Флуренізид у концентраціях 0,05; 0,15; 1,0; 5,0; 15,0 мМ зумовлює зростання вмісту супероксидного аніон-радикала у зародках в'юна на етапах розвитку 2, 64, 256 та 1024 бластомери. Найінтенсивніше зростання його кількості виявлене на етапі розвитку 256 і 1024 бластомери, найменш інтенсивне – на етапі 64 бластомери. Флуренізид зумовлює підвищення вмісту сіалових кислот на першому етапі дроблення зиготи, тоді як на етапах 16, 64 і 256 бластомерів досліджувана речовина призводить до переважаючого зниження показника. На останньому етапі синхронних дроблень флуренізид у концентрації 15,0 мМ зумовлює значне зростання вмісту сіалових кислот. Флуренізид підвищує вміст АТФ на етапах 2 і 1024 бластомери та знижує його вміст на етапах поділу 64 та 256 бластомерів. Етап розвитку 16 бластомерів є найменш чутливим до дії флуренізиду, де вміст АТФ переважно перебуває на рівні контролю. Етап розвитку 64 бластомери є найбільш чутливим, де вміст АТФ переважно знижується.

За допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що значний вклад у зростання вмісту АТФ, сіалових кислот і супероксидного аніон-радикала під час раннього ембріогенезу зародків в'юна чинить фактор розвитку зародків, тоді як фактор флуренізиду робить слабший внесок.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Алейникова Т. Л., Рубцова Г. В.* Руководство к практическим занятиям по биологической химии. М.: Высшая школа, 1988. 239 с.
2. *Бішко О. І., Гарасим Н. П., Санагурський Д. І.* Стан системи антиоксидантного захисту в плазмі крові та серцевому м'язі щура за дії гістаміну та гіпохлориту натрію // Укр. біохім. журнал. 2014. Вип. 86. № 6. С. 56–65.
3. *Боднарчук Н. О., Бура М. В., Санагурський Д. І.* Транспортні властивості мембран за дії флуренізиду та його похідних // Біологія тварин. 2011. Т. 13. № 1–2. С. 48–59.
4. *Боднарчук Н., Гарасим Н., Санагурський Д.* Кластерний аналіз впливу флуренізиду на показники стану прооксидантно-антиоксидантної системи зародків в'юна // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2019. Вип. 80. С. 44–51.
5. *Боднарчук Н. О., Мандзинець С. М., Петрух Л. І., Санагурський Д. І.* Вміст первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації у зародках в'юна за дії флуренізиду // Біологічні Студії / Studia Biologica. 2016. Т. 10. № 1. С. 53–60.
6. *Денисенко С. В., Костенко В. А.* Изменения продукции активных форм кислорода в семенниках белых крыс в условиях хронической интоксикации нитратом натрия // Сучасні проблеми токсикології. 2005. № 4. С. 44–46.
7. *Джатдоева А. А., Проскурнина Е. В., Нестерова А. М.* и др. Митохондрии как источники супероксидного анион-радикала в тромбоцитах // Биологические мембраны, 2017. Т. 34. № 6. С. 116–123.
8. *Долайчук О. П., Федорук Р. С., Ковальчук І. І.* Вплив компонентів натуральної та генетично модифікованої сої на показники імунної і репродуктивної систем у самиць щурів // Фізіол. журнал. 2013. Т. 59. № 2. С. 65–70.
9. *Михалик О., Коваленко М.* Ефективність лікарських форм з флуренізидом для профілактики і лікування небезпечних та керованих інфекційних захворювань // Праці НТШ. Медичні науки. 2019. Т. 57. С. 50–58.
10. *Морозенко Д. В., Леонтєва Ф. С.* Методи дослідження маркерів метаболізму сполучної тканини у сучасній клініці та експериментальній медицині // Молодий вчений. 2016. № 2 (29). С. 168–172.

11. *Нетроніна О. В.* Вільні та зв'язані форми сіалових кислот у плазмі крові хворих на хронічний лімфолейкоз // *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Med.* 2015. 6(2). С. 108–112.
12. *Нізельський Ю., Козак Н.* Флуоренізид. Електронна будова, таутомерія та його властивості: Праці НТШ. Хемія і біохемія. Зб. на пошану Євгена Гладішевського. Львів. 2005. Т. XV. С. 41–50.
13. *Петрух Л. І.* Флуорени як туберкулостатики. Флуоренізид: мікробіологічні, фармакологічні і клінічні аспекти Львів: Львівська політехніка, 2008. 138–140 с.
14. *Ромакін В. В.* Комп'ютерний аналіз даних. К.: МДГУ ім. Петра Могили, 2006. 150 с.
15. *Сенюк І. В.* Біохімія с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-кор. РАН, проф. Е.С. Северина. М., 2010. С. 125–128.
16. *Anke P., Lingbo S., Morten A. et al.* Activity of N-acylneuraminase-9-phosphatase (NANP) is not essential for de novo sialic acid biosynthesis // *Biochim. Biophys. Acta Gen Subj.* 2019. Vol. 1863 (10). P. 1471–1479. doi: 10.1016/j.bbagen.2019.05.011.
17. *Azzam E., Gerin J., Pain D.* Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury // *Cancer Lett.* 2012. Vol. 327. P. 48–60.
18. *Ken H., Noriko S., Shunji N.* Structures and developmental alterations of N-glycans of zebrafish embryos // *Glycobiology.* 2017. Vol. 4. N 27 (3). P. 228–245. doi: 10.1093/glycob/cww124.
19. *Leonardo M., Annia G.* The other side of the superoxide radical anion: its ability to chemically repair DNA oxidized sites // *Chem Commun (Camb).* 2018. Vol. 4. N 54 (97). P. 13710–13713. doi: 10.1039/c8cc07834c.
20. *Lozan T., Maria T., Luciano S., Irena K.* In Vitro Interaction of 5-Aminoorotic Acid and Its Gallium(III) Complex with Superoxide Radical, Generated by Two Model Systems // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 23. N 21 (22). P. 8862. doi: 10.3390/ijms21228862.
21. *Michael H. Hayes, Elizabeth H. Peuchen, Norman J. Dovichi, Daniel L. Weeks.* Dual roles for ATP in the regulation of phase separated protein aggregates in *Xenopus* oocyte nucleoli // *Elife.* 2018. Vol. 17 (7). P. 35224. doi: 10.7554/eLife.35224.
22. *Paul R Wratil, Rüdiger Horstkorte* Metabolic Glycoengineering of Sialic Acid Using N-acyl-modified Mannosamines // *J. Vis. Exp.* 2017. Vol. 25 (129). P. 55746. doi: 10.3791/55746.
23. *Petruch L.* The urgency of the creation and implementation of industrial production of new medicines // *Collection descriptions of inventions.* 2003. Vol. 2. P. 198.
24. *Prashant M., David C.* Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014. Vol. 15 (10). P. 634–646. doi: 10.1038/nrm3877.
25. *Renan C., Marisa F., Zerlotti M., Eduarda F.* Superoxide Anion Radical: Generation and Detection in Cellular and Non-Cellular Systems // *Curr. Med. Chem.* 2015. Vol. 22 (37). P. 4234–4256. doi: 10.2174/0929867322666151029104311.
26. *Sam J., Gosse J., Max Tgm. Derks, Thomas J., Christian Büll.* Sialic acid glycoengineering using N-acetylmannosamine and sialic acid analogs // *Glycobiology.* 2019. Vol. 29 (6). P. 433–445. doi: 10.1093/glycob/cwz026.
27. *Scheinok S., Leveque Ph., Sonveaux P. et al.* Comparison of different methods for measuring the superoxide radical by EPR spectroscopy in buffer, cell lysates and cells // *Free Radic. Res.* 2018. Vol. 52 (10). P. 1182–1196. doi: 10.1080/10715762.2018.1541321.
28. *Waleska K. Martins, Nayra Fernandes Santos, Cleidiane de Sousa Rocha et al.* Parallel damage in mitochondria and lysosomes is an efficient way to photoinduce cell death // *Autophagy.* 2019. Vol. 15 (2). P. 259–279. doi: 10.1080/15548627.2018.1515609.

29. *Ying Wang, Robyn Branicky, Alycia Noë, Siegfried Hekimi.* Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling // *J. Cell Biol.* 2018. Vol. 4. N 217 (6). P. 1915–1928. doi: 10.1083/jcb.201708007.

*Стаття надійшла до редакції 26.02.21*

*доопрацьована 26.05.21*

*прийнята до друку 01.06.21*

## CONTENT OF SIALIC ACIDS, ATP AND SUPEROXIDE ANION-RADICAL IN LOACH EMBRYOS UNDER THE INFLUENCE OF FLURENIZYD

**N. Bodnarchuk, N. Harasym, A. Tril, D. Sanagurskiy**

*Ivan Franko National University of Lviv*

*4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

*e-mail: nataljabodnarchyk@ukr.net*

It is known that flurenizide is a newly synthesized drug with pronounced antimicrobial, immunomodulatory functions. However, its effect on the functional properties of cells, in particular germ cells, is unknown. The aim of this study was to determine the presence of sialic acids as the final components of glycoconjugates, the main macroergic compound - ATP, to evaluate the generation of  $O_2^-$  in embryos of lobster (*Misgurnus fossilis* L.) under the influence of the antibiotic flurenizide.

Studies have been performed on embryos of *Misgurnus fossilis* L. After fertilization, the zygotes were placed in Petri dishes with solutions of flurenizide in concentrations of 0.01; 0.05; 0.15; 1.0; 5.0; 15.0 mM, where allowed to develop. At the development stages, 2 blastomeres, 16 blastomeres, 64 blastomeres, VIII (256 blastomeres) and X divisions (1024 blastomeres) were sampled. In parallel, control studies were performed, where flurenizide was not added to the samples. The content of sialic acids, ATP, superoxide anion radical was determined in the selected samples. We found that flurenizide at the lowest concentration of 0.01 mM does not cause changes in the content of superoxide anion radical during early embryogenesis. The antibiotic in the maximum concentration causes changes in the content of free radical from the stage of development of 16 blastomeres to 1024 blastomeres, and from the stage of 64 blastomeres there is an increase in its number. Probably flurenizide at a concentration of 15.0 mM is the most reactive. It is known that flurenizide has antioxidant properties, but in its structure there are groups that have a toxic effect, which is most pronounced when exposed to high concentrations. In general, at the stage of development of 16 blastomeres there is a decrease in the amount of  $O_2^-$  under the influence of the studied antibiotic. At this time, the content of this free radical in the control increases, compared with other stages of development. Flurenizide leads to an increase in the content of superoxide anion radical at development stage 2, 64 blastomeres and is particularly pronounced at concentrations from 0.05 to 15.0 mM at development stages 256 and 1024 blastomeres. 1024 blastomeres are the 10th stage of separation, where desynchronization occurs and the mitotic index decreases. Probably, the changes that take place at this stage of development are related to this. The antibiotic causes an increase in the content of sialic acids in the first stage of crushing (2 blastomeres). In step 16 of the blastomere, flurenizide in low concentrations leads to a decrease in the content of sialic acids. However, already at the stage of separation of 64 and 256 blastomeres, the test substance in all concentrations causes a predominant decrease in the amount of sialic acids. At the last stage of synchronous crushing (1024 blastomeres) flurenizide in the maximum investigated concentration (15.0 mM) causes a significant accumulation of sialic acid content.

Flurenizide at concentrations of 0.15, 5.0 and 15.0 mM causes a decrease in ATP

content in loach embryos at the stage of development of 256 blastomeres by 28, 67 and 38 %, respectively. An increase in ATP content by 33 % occurs under the influence of flurenizide at a concentration of 1.0 mM. The ATP content also increases at the stage of development of embryos of 1024 blastomeres under the influence of flurenizide of all studied concentrations.

Analysis of variance has shown that a significant contribution to the growth of ATP, sialic acid and superoxide anion radical, during the early embryogenesis of lobster embryos, is made by the factor of embryo development, while the factor of flureniside has a smaller contribution.

Therefore, studies have shown that flurenizide causes increased generation of superoxide anion radical, decreased sialic acid content, as well as changes in ATP content in embryonic cells during early embryogenesis.

*Keywords:* loach embryos, flurenizyd; sialic acid, superoxide anion-radical, ATP

**ДОЦІЛЬНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ СОНЯШНИКУ  
(*HELIANTHUS ANNUUS* L.) ЯК ФІТОІНДИКАТОРА  
АНТРОПОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ СЕРЕДОВИЩА**

**Н. Притула**

*Запорізький національний університет  
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя 69600, Україна  
e-mail: prytulanataliam@gmail.com*

У статті проаналізовано фітоіндикаційні властивості соняшнику (*Helianthus annuus* L.) як імовірного біоіндикатора антропогенного навантаження території за допомогою методики оцінки величини флуктуаційної асиметрії листової пластинки рослин. Досліджували вплив просторового розташування посівів соняшнику та вплив генотипу на розвиток морфометричних ознак рослин. Дослідження проводили наприкінці липня 2019–2020 років, коли вегетативні органи соняшнику досягали максимального розвитку. Для проведення досліджень відібрано матеріал на дев'яти ділянках (на дев'яти полях), що розташовані у Запорізькій області, на різній відстані та в різних напрямках від промислової зони м. Запоріжжя (Заводський район). Для вивчення впливу генотипу на морфологічні ознаки соняшнику проведено дослідження восьми гібридів, що зростали в однакових умовах на демонстраційній ділянці у Василівському районі Запорізької області. Інтегральний показник флуктуаційної асиметрії соняшнику перебував у межах 0,062–0,114, при цьому найбільший показник флуктуаційної асиметрії спостерігали на ділянці, що найближче розташована до промислової зони Запоріжжя – північний напрямок від Запоріжжя. Найменший показник спостерігали на ділянці у східному напрямку від Запоріжжя. Інтегральний показник флуктуаційної асиметрії гібридів соняшнику, що вирощувалися в однакових ґрунтово-кліматичних умовах на демонстраційній ділянці, коливався у межах 0,070–0,093.

На основі проведених у 2019–2020 роках досліджень ми дійшли висновку, що соняшник (*Helianthus annuus* L.), незважаючи на його поширення, не придатний для використання як біоіндикаційна рослина під час вивчення рівня техногенного навантаження території. Нами отримано значні достовірні розбіжності у розвитку морфометричних параметрів листків соняшнику (*Helianthus annuus* L.) що вирощувалися на різновіддалених від промислової зони м. Запоріжжя ділянках. Гібриди, що відрізнялися між собою за морфо-господарськими характеристиками, вирощувалися в однакових ґрунтово-кліматичних умовах і за однакової агротехніки на демонстраційній ділянці, також показали значне коливання інтегрального показника флуктуаційної асиметрії.

*Ключові слова:* флуктуаційна асиметрія, дисперсія, морфометричні ознаки, мінливість, соняшник

На сьогодні одним із простих інформаційних і дешевих методів інтегральної оцінки стану навколишнього середовища є біоіндикація. Біоіндикація – це оцінка якості довкілля та його окремих параметрів за станом біоти, що там існує. Найчастіше як організми-біоіндикатори використовують рослини, що ведуть прикріплений спосіб життя, тобто чітко приурочені до місця досліджень і достатньо чутливі до зміни умов існування. Фітоіндикація як складова частина екологічного моніторингу досліджує морфогенетичні

зміни рослин як реакцію на антропогенні впливи. На рівні рослинних організмів впливи стресорів легко виявити завдяки прояву зовнішніх симптомів ушкоджень і стабільності розвитку рослинного організму.

Фітоіндикація є ефективною для оцінювання екологічного стану території, оскільки живі системи дуже чутливі до змін зовнішнього середовища і мають властивість реагувати раніше, ніж ці зміни стануть очевидними [1].

Стабільність розвитку особини проявляється у її здатності приймати «ідеальний» стан у відповідних, «ідеальних» умовах розвитку [2]. Критерієм, який допомагає дати достовірну оцінку стабільності розвитку, є флуктуаційна асиметрія, характерна для всіх білатеральних видів. Флуктуаційна асиметрія дає змогу оцінити найменші неспрямовані відхилення від білатеральної симетрії у морфологічній будові органа. На сьогодні достовірно встановлено, що за погіршення умов існування певного виду зростає флуктуаційна асиметрія особин [11], тому явище флуктуаційної асиметрії можна використати як показник антропогенного навантаження довкілля. Оцінку рівня флуктуаційної асиметрії листків для встановлення ступеня впливу стресового чинника на рослину використовували багато науковців [3–5, 9]. Суть методу полягає у виявленні рівня стабільності індивідуального розвитку особин конкретного виду, в нашому випадку соняшнику однорічного (*Helianthus annuus* L.), у певних умовах екологічного середовища й у виявленні ступеня розбіжності білатерально-симетричних морфологічних ознак особини.

Апріорно прийнято положення, що флуктуаційна асиметрія прямо залежить від якості середовища [10].

Переваги методики оцінки величини флуктуаційної асиметрії органів рослин:

- а) достатня кількість матеріалу для дослідження, що забезпечує репрезентативність вибірки;
- б) мінімальне та доступне обладнання (лінійка і транспортир);
- в) легкість збору матеріалу;
- г) можливість повторного дослідження однієї особини або популяції;
- д) дотримання принципів біоетики, а саме проведення досліджень без вилучення особин із популяції.

Як фітоіндикаційну культуру ми обрали соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.), одну із найпоширеніших культур в Україні, що приваблює сільськогосподарських товаровиробників стабільністю попиту на насіння та відносно низькими виробничими витратами. За господарським значенням соняшник не поступається таким найважливішим і поширеним культурам, як пшениця та кукурудза, і є однією з найпопулярніших олійних культур України та інших країн. Його вирощують майже в 60 країнах як Південної, так і Північної півкулі, у тропічному, субтропічному та помірному кліматі, що свідчить про високий рівень екологічної пластичності цієї культури [7]. Так, у 2019 р. в Україні соняшник був посіяний на площі 5,76 млн га, або 101 % проти 2018 р. – 5,7 млн га. [8]. Посіви соняшнику розташовані у всіх областях України, але найбільше їх у центральних, південних і східних областях України.

Мета роботи – дослідити флуктуаційну асиметрію листкової пластинки соняшнику (*Helianthus annuus* L.) та можливості використання його як біоіндикаторної культури для оцінки стану довкілля. У дослідженні було поставлено два завдання: визначити, як впливає просторове розташування посівів, а, відповідно, ступінь антропогенного навантаження на прояв флуктуаційної симетрії листків соняшнику, та вплив генотипу на ступінь прояву флуктуаційної асиметрії.

### Матеріали та методи

Дослідження проводили у Запорізькій обл., яка належить разом із Дніпропетровською, Миколаївською, Кіровоградською та Харківською обл. до «соняшникового поясу», де площі його посівів у загальній структурі посівних площ становлять більше 30 %.

Посіви цієї культури розташовані у всіх районах Запорізької обл., на різній віддаленості від промислових центрів, що дає змогу проаналізувати вплив умов довкілля на розвиток флуктуаційної асиметрії листків соняшнику.

Об'єктом дослідження слугували морфологічні ознаки листової пластинки соняшнику однорічного (*Helianthus annuus* L.).

Відбір проб для дослідження проводили наприкінці липня 2019–2020 років, коли вегетативні органи соняшнику досягли максимального розвитку, на 9 дослідних ділянках (на 9 полях) (дослід 1) та на демонстраційній ділянці (дослід 2). Ділянки характеризувалися різним рівнем техногенного навантаження та розташуванням у різних напрямках від промислової зони – Заводський район м. Запоріжжя (південь, північ, захід, схід). Із рослин на кожній дослідній ділянці добирали по 50 листових пластинок. Для вимірювання морфологічних параметрів використовували тільки непошкоджені листки, які відбирали по одному зі середнього ярусу листків кожної дослідної рослини.

Ділянки, на яких проводили відбір матеріалу для дослідження флуктуаційної асиметрії листків соняшнику, охарактеризовано у табл. 1.

Таблиця 1

Розташування ділянок для збору матеріалу дослідження

№ ділянки дослідження	Місце збору	Географічні координати
1	Північний напрямок від м. Запоріжжя, перед с. Богатирівка Вільнянського р-ну, Запорізької обл.	47°91'06"N 35°19'28"E
2	Північний напрямок від м. Запоріжжя, біля с. Люцерна Вільнянського р-ну, Запорізької обл.	47°93'30"N 35°18'80"E
3	Біля Енергодару, між с. Нововодяне Кам'яно-Дніпровського р-ну, Запорізької обл. та м. Енергодар	47°27'56"N 34°40'49"E
4	Більмакський р-н, 15 км до смт Розівка Розівського р-ну, Запорізької обл. у східному напрямку	47°41'51"N 36°02'62"E
5	18 км від м. Орхів, Орхівського р-ну, Запорізької обл. у східному напрямку	47°28'33"N 36°01'42"E
6	Східний напрямок від Запоріжжя, біля с. Наталовка Запорізького р-ну, Запорізької обл.	47°85'57"N 35°35'42"E
7	Західний напрямок від м. Запоріжжя, край Хортицького житлового масиву	47°83'72"N 35°00'22"E
8	Південний напрямок від м. Запоріжжя, біля с. Балабіно Запорізького р-ну, Запорізької обл.	47°74'99"N 35°22'59"E
9	Південно-східний напрямок, біля с. Степне Запорізького р-ну, Запорізької обл.	47°78'59"N 35°29'76"E

Перша ділянка – північний напрямок від м. Запоріжжя, перед с. Богатирівка Вільнянського р-ну, Запорізької обл. – найкоротша відстань від ділянки до промислового скупчення підприємств становить близько 6 км. Це найближча до промислової зони Запоріжжя ділянка з посівами соняшнику у 2019 р.

Друга ділянка – північний напрямок від Запоріжжя, біля с. Люцерна Вільнянського р-ну, Запорізької обл., найкоротша відстань від промислового скупчення підприємств до поля, з якого добирали матеріал для дослідження, – 8,3 км. Ці дві ділянки розташовані в одному напрямку.

Третя ділянка – поле, розташоване біля Енергодару, між с. Нововодяне Кам'яно-Дніпровського р-ну, Запорізької обл. та м. Енергодар. Тут розглядали як джерело забруднення Запорізьку ТЕС, найкоротша відстань до якої становить близько 5,5 км.

Четверта ділянка – поле у Більмакському р-ні, 15 км до смт Розівка Розівського р-ну, Запорізької обл. у східному напрямку від Запоріжжя, найвіддаленіша у наших дослідженнях від великих промислових об'єктів точка, найкоротша відстань від промислової зони Запоріжжя до неї становить 142 км.

П'ята ділянка – поле у 18 км від м. Оріхів Оріхівського р-ну, Запорізької обл., у східному напрямку від промислового скупчення підприємств Запоріжжя найкоротша відстань до неї становить близько 77 км.

Шоста ділянка – східний напрямок від Запоріжжя, біля с. Наталовка Запорізького р-ну, Запорізької обл. Найкоротша відстань від промислової зони Запоріжжя до неї становить близько 15 км.

Сьома ділянка – у західному напрямку від Запоріжжя, на краю Хортицького житлового масиву, до якого найкоротша відстань від великих промислових об'єктів Запоріжжя – 11,8 км.

Восьма ділянка – у південному напрямку від Запоріжжя, біля с. Балабіне Запорізького р-ну, Запорізької обл. Найкоротша відстань від промислової зони до поля досліджень – близько 14 км.

Дев'ята ділянка – у південно-східному напрямку від Запоріжжя, біля с. Степне Запорізького р-ну, Запорізької обл., до якого найкоротша відстань від скупчення промислових підприємств Запоріжжя становить близько 14 км.

Для вивчення впливу генотипу на формування морфологічних ознак соняшнику було досліджено 8 гібридів, які вирощували на демонстраційній ділянці французької компанії з виробництва та селекції насіння сільськогосподарських культур Limagrain. Ділянка була розташована біля траси Харків – Сімферополь, орієнтовно на 315 км, Василівського р-ну Запорізької обл., географічні координати 47°38'55.7"N 35°21'17.6"E.

Вимірювання правої та лівої частини листкової пластинки проводили за такими показниками (рис. 1): 1) ширина найширшої частини листкової пластинки; 2) ширина середини листкової пластинки; 3) довжина 1-ї від основи листкової пластинки жилки другого порядку; 4) довжина 2-ї від основи листкової пластинки жилки другого порядку; 5) відстань між основами 1-ї та 2-ї жилки листкової пластинки; 6) відстань між основами 2-ї та 3-ї жилки листкової пластинки; 7) відстань між кінцями 1-ї та 2-ї жилки листкової пластинки; 8) відстань між кінцями 2-ї та 3-ї жилки листкової пластинки; 9) кут між головною жилкою та другою жилкою другого порядку від основи листкової пластинки; 10) кут між головною жилкою і третьою жилкою другого порядку від основи листкової пластинки; 11) кількість добре розвинутих жилок другого порядку. Нами обрано велику кількість показників з метою виявлення тих, що будуть найбільш інформативні щодо мінливості.

Величину флуктуаційної асиметрії кожного параметра визначали як відношення подвоєного модуля різниці промірів з лівого та правого боку листкової пластинки до їхньої суми [12].

Інтегральний показник флуктуаційної асиметрії розраховували за формулами (1–3):

$$Y = \frac{|x_L - x_P|}{|x_L + x_P|} \quad (1)$$



$$Z = \frac{Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4 + Y_5}{N}, \quad (2)$$

$$\bar{X} = \frac{\sum Z}{n} = \frac{Z_1 + Z_2 + \dots + Z_n}{n}, \quad (3)$$

де  $Y$  – показник, розрахований для кожного параметра, як різниця між правою та лівою частинами листової пластинки,  $Z$  – відносна середня відмінність між ознаками для кожного листка,  $N$  – кількість ознак,  $X$  – інтегральний показник асиметрії,  $n$  – число листків.

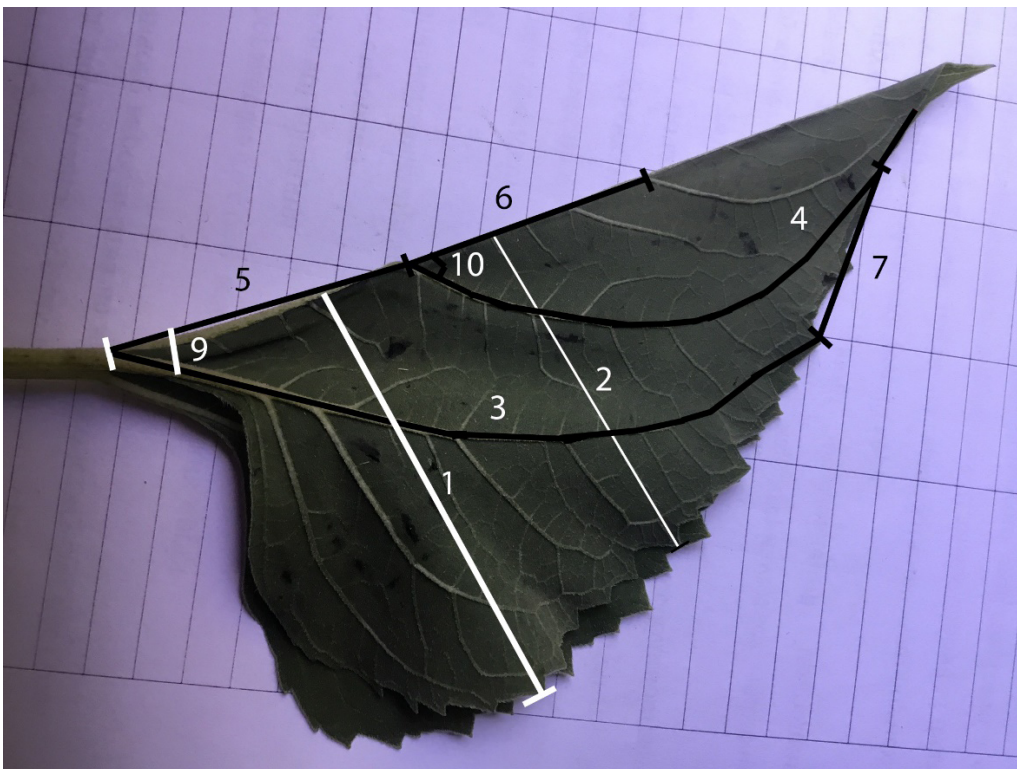


Рис. 1. Схема вимірювання морфологічних ознак, яку використовували для оцінки стабільності розвитку соняшнику однорічного (*Helianthus annuus* L.)

Математичну обробку результатів вимірювань (10 300 промірів) проводили на базі програми Microsoft Excel та Statistica 6.0.

#### Результати і їхнє обговорення

Розраховані за формулами показники флуктуаційної асиметрії листових пластинок соняшнику (*Helianthus annuus* L.) представлено в табл. 2.

Виходячи з даних, наведених у табл. 2, можна бачити, що інтегральний показник флуктуаційної асиметрії соняшнику коливався у межах 0,062–0,114, при цьому найбільший показник флуктуаційної асиметрії спостерігали на ділянці, що найближче розташована до промислової зони Запоріжжя (ділянка 1) – північний напрямок від Запоріжжя. Найменший показник спостерігали на ділянці 5 – східний напрямок від Запоріжжя.

Таблиця 2

Інтегральний показник флуктуаційної асиметрії листкової пластинки соняшнику, що вирощувався на полях, різновіддалених від промислового району м. Запоріжжя

№ ділянки дослідження	Інтегральний показник флуктуючої асиметрії
1	0,114±0,0035
2	0,109±0,0008
3	0,080±0,0008
4	0,073±0,0013
5	0,062±0,0006
6	0,084±0,0011
7	0,076±0,0007
8	0,082±0,0012
9	0,070±0,0010

В.В. Матвієнко [6] при дослідженні впливу автомобільного транспорту на показник флуктуаційної асиметрії листків соняшнику виявляє пряму залежність величини показника флуктуаційної асиметрії від транспортного навантаження траси. Дослідження проводили на шести ділянках біля трас із різною інтенсивністю руху. Автор пов'язує високий негативний показник флуктуаційної асиметрії з забрудненням атмосферного повітря автомобільними газами. Однак у роботі не досліджено вплив генотипу на формування ознаки. Оскільки малоімовірним є те, що на всіх ділянках вирощувався соняшник одного сорту чи один гібрид, то, на наш погляд, доцільно дослідити цей вплив.

Тому для вивчення ступеня впливу генотипу на флуктуаційну асиметрію листкової пластинки соняшнику було досліджено вісім гібридів, що вирощувалися в однакових ґрунтово-кліматичних умовах, але відрізнялися групами стиглості, господарськими та морфологічними характеристиками (табл. 3).

Таблиця 3

Інтегральний показник флуктуючої асиметрії листкової пластинки гібридів соняшнику, що вирощувалися в однакових ґрунтово-кліматичних умовах

Гібрид соняшнику	Інтегральний показник флуктуючої асиметрії
ЛГ50510	0,074±0,0012
ЛГ5580	0,093±0,0014
ЛГ50300	0,079±0,0005
ЛГ5485	0,082±0,0018
ЛГ50480	0,070±0,001
ЛГ5478	0,076±0,0008
Мегасан	0,074±0,0007
Тунка	0,082±0,0012

Наші дослідження свідчать, що інтегральний показник флуктуаційної асиметрії гібридів соняшнику, які вирощувалися в однакових ґрунтово-кліматичних умовах, коливався у межах 0,070–0,093.

Оскільки явище флуктуаційної асиметрії характерне для всіх білатеральних організмів, то ми розглядали всі гібриди соняшнику однорічного як один вид, припускаючи, що у будь-яких гібридів за нормальних умов листя рівномірно симетричне.

Дослідження показало значну варіацію інтегрального показника флуктуаційної асиметрії у гібридів у другому досліді, однак розмах мінливості у першому досліді був більшим.

На ділянці, що лежала найближче до промислової зони Запоріжжя, спостерігали найбільшу мінливість ознаки, яка була меншою в інших напрямках від Запоріжжя.

Отримані величини інтегрального показника флуктуаційної асиметрії можна пояснити скоріше різними умовами вирощування. Зважаючи на значну мінливість ознаки гібридів і сортів, що вирощувалися на одній ділянці демонстраційного полігону, можна припустити, що на розвиток асиметрії впливають умови вирощування більше, ніж просторове розташування рослин від джерела забруднення. Тому припускаємо, що соняшник однорічний малочутливий до забруднення атмосфери, що дає змогу отримувати високі та сталі врожаї цієї культури незалежно від антропогенного навантаження, але використовувати його як фітоіндикатор атмосферного забруднення недоцільно.

1. На основі проведених досліджень ми дійшли висновку, що соняшник (*Helianthus annuus* L.) непридатний для використання як біоіндикаційна рослина під час вивчення рівня техногенного навантаження території.

2. Нами отримано значні достовірні розбіжності у розвитку морфометричних параметрів листків соняшнику (*Helianthus annuus* L.), що вирощувалися на різновіддалених від промислової зони м. Запоріжжя ділянках.

3. Гібриди, що вирощувалися в однакових ґрунтово-кліматичних умовах, також показали значне коливання інтегрального показника флуктуаційної асиметрії.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бессонова В. П. Пасивний моніторинг забруднення середовища важкими металами з використанням рослин // Укр. ботан. журн. 1991. Т. 48. № 2. С. 77–80.
2. Захаров В. М., Баранов А. С., Борисов В. И. и др. Здоровье среды: методика оценки. М.: Изд-во Центра экол. политики России, 2000. 68 с.
3. Злобин Ю. А. Индикаторная роль листьев растений в биоэкологическом мониторинге // Наук. вісн. Миколаїв. держ. ун-ту. 2009. 24. № 4(1). С. 93–96.
4. Коровякова Т. О. Флуктуаційна асиметрія листків деяких видів лучного різнотрав'я на пасовищах // Укр. ботан. журн. 2013. Т. 70. № 2. С. 330–335.
5. Легета У. В., Ситнікова І. О. Оцінка екологічного стану територій Чернівецької області за інтегральним показником флуктуючої асиметрії (на прикладі *Tussilago farfara* L.) // Природничий альманах. 2009. 13. С. 98–104.
6. Матвиенко В. В. Биоиндикация состояния окружающей среды с помощью подсолнечника // Питання біоіндикації та екології. Запоріжжя: ЗНУ, 2014. Вип. 19. № 1. С. 39–49.
7. Нестерчук В. В. Продуктивність гібридів соняшнику залежно від густоти стояння рослин та мікродобрив в умовах півдня України: дис. ... канд. с.-г. наук: 06.01.09. Херсон, 2017. 170 с.
8. Рентабельність виробництва соняшнику в Україні впала до мінімуму за п'ять років. Режим доступу: <http://nv.ua/ukr/biz/markets/viroshchuvannya-sonyashniku-rentabelnist-vpala-do-minimumu-za-p-yat-rokiv-50030158.html> (дата звернення Листопад 17, 2020).
9. Kozlov M., Niemelä P., Junttila J. Needle fluctuating asymmetry is a sensitive indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*) // Ecological Indicators. 2002. 1(4). P. 271–277.
10. Moller A. P. Asymmetry, developmental stability and evolution. Oxford: Oxford Univ. Press, 1997. 291 p.
11. Palmer A. R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Kluwer Academic, Dordrecht, 1986. P. 335–364.
12. Zakharov V. M., Graham J. H. (eds.) Developmental stability in natural populations // Acta Zoologica Fennica. 1992. 191. P. 85–101.

**THE FEASIBILITY OF USING SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) AS A PHYTOINDICATOR OF ANTHROPOGENIC LOAD OF THE ENVIRONMENT****N. Prytula**

*Zaporizhzhya National University  
66, Zhukovsky St., Zaporizhzhya 69600, Ukraine  
e-mail: prytulanataliam@gmail.com*

The phytoindication properties of sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a possible bioindicator of anthropogenic load of the territory are analyzed in the article by means of a technique of estimation of size of fluctuating asymmetry of a leaf plate of plants. The influence of the spatial location of sunflower crops and the influence of genotype on the development of morphometric traits of plants were studied. The study was conducted in late July 2019–2020, when the vegetative organs of sunflower reached their maximum development. The material was selected for research at nine points (nine fields) located in the Zaporizhzhia region, at different distances and in different directions from the industrial zone of Zaporizhzhia (Zavodsky district). To study the influence of genotype on the morphological characteristics of sunflower, a study of eight hybrids that grew under the same conditions in the demonstration area in Vasylivka district of Zaporizhzhia region was conducted. The integrated index of fluctuating asymmetry of sunflower was in the range of 0.062–0.114, with the largest indicator of fluctuating asymmetry was observed in the area closest to the industrial zone of Zaporizhzhia – north of Zaporizhzhia. The lowest rate was observed in the area – 5 – east of Zaporizhzhia. The integrated index of fluctuating asymmetry of sunflower hybrids grown in the same soil and climatic conditions in the demonstration area ranged from 0.070 to 0.093.

Based on research conducted in 2019–2020, we concluded that the species sunflower (*Helianthus annuus* L.), despite its distribution, is not suitable for use as a bioindication plant in the study of the level of man-made load in the area. We obtained significant differences in the development of morphometric parameters of sunflower leaves (*Helianthus annuus* L.) grown in areas far from the industrial zone of Zaporizhzhia. Hybrids, which differed in morpho-economic characteristics, were grown in the same soil and climatic conditions and with the same agricultural techniques, on the demonstration site, also showed significant fluctuations in the integral index of fluctuating asymmetry.

*Keywords:* fluctuating asymmetry, dispersion, morphometric features, variability, sunflower

## ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ВИТУШКИ РОГОВОЇ (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA, BULINIDAE)

Ю. Бабич<sup>1\*</sup>, Т. Пінкіна<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Житомирський державний університет імені Івана Франка  
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир 10008, Україна

<sup>2</sup>Поліський національний університет  
бульв. Старий, 7, Житомир 10002, Україна  
e-mail: b\_yulia@i.ua

Досліджено вплив різних концентрацій іонів міді, цинку, нікелю, мангану водного середовища на екоотоксикологічні показники широкоареального і найчисленнішого виду малакофауни України – витушки рогової *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758). За рівнем токсичної дії на витушки досліджені нами полютанти належать до категорій слабкотоксичних ( $Mn^{2+}$ ), помірнотоксичних ( $Ni^{2+}$ ), сильнотоксичних ( $Zn^{2+}$ ) і високотоксичних ( $Cu^{2+}$ ) речовин. За особливостями поведінки і фізіологічним станом піддослідних тварин виявлено значення підпорогових, сублетальних, хронічнолетальних, гостролетальних концентрацій кожного із використаних токсикантів ( $mg/dm^3$ ). З підвищенням концентрацій іонів металів у середовищі значення латентного періоду у *P. corneus* збільшуються. Першими ознаками отруєння у тварин є послаблення рухової активності й посилення слизовиділення. За летальних концентрацій ( $LC_{100}$ ) даних токсикантів у піддослідних молюсків розвивається стрімкий патологічний процес. До моменту завершення експерименту всі особини цієї групи гинуть. З підвищенням концентрацій іонів важких металів летальний час і летальний середній час зменшуються. Найвищі значення летального часу відзначені для іонів мангану (II), а найменші – для іонів міді. Досліджено оборотність отруєння молюсків різними концентраціями зазначених металів. Відновлення функцій у досліджуваних тварин відбувається в оборотному порядку. За дії однакових концентрацій іонів важких металів тривалість летального середнього часу різна.

Значення коефіцієнта витривалості за впливу важких металів на витушку рогову зменшується від високих до низьких концентрацій. За підпорогових концентрацій цей коефіцієнт неможливо встановити через не стовідсоткову загибель особин до моменту завершення гострого дослідження. Значення коефіцієнта пристосування є найвищими для високотоксичного металу ( $Cu^{2+}$ ) і найнижчими – для слабкотоксичного ( $Mn^{2+}$ ). За дії іонів міді адаптація тварин до впливу токсиканта має тимчасовий характер, після чого настає депресія.

*Ключові слова:* *Planorbarius corneus*, важкі метали, екоотоксикологічні показники

Протягом ХХ ст. навколишнє середовище зазнало суттєвих змін унаслідок зростання дії на нього антропопресії. Найвразливішими до техногенно-антропогенного забруднення є басейни малих річок. Вони мають незначні площі водозбору й безпосередньо впливають на гідрохімічний склад і якість води середніх та великих річок. У їхніх басейнах формується понад 60 % водних ресурсів України [24].

Однією із важливих груп полютантів водного середовища є важкі метали та їхні солі [2, 3, 8–10, 15, 20–21, 26, 27]. Значна кількість солей потрапляє у водойми з неочищеними

стоками гірнично-рудних, металургійних, приладо- та машинобудівних підприємств [10]. Ці поллютанти є вкрай небезпечними, оскільки довго зберігаються у водоймах, накопичуючись у гідробіонтах і завдаючи їм значної шкоди. Такі порушення часто є необоротними, вони призводять до загибелі особин або до елімінації популяції. Більшість солей важких металів – прості неорганічні сполуки, токсичність яких обумовлена аніонами, катіонами або фізико-хімічними властивостями солі. Дані токсиканти належать до категорії мікроелементів.

Незважаючи на певну позитивну тенденцію до зменшення вмісту важких металів у поверхневих водах України на початку XXI ст., концентрації цих металів у річках залишаються ще досить суттєвими [6, 18].

Щоб визначити оцінку якості природних вод, наразі використовують екологічний моніторинг і біотестування. Грамотне виконання їх можливе лише за умов безпомилкового визначення видової приналежності індикаторних видів. Як такі можуть застосовуватися прісноводні молюски родини *Bulinidae*, а саме, витушка рогова (*Planorbis corneus* (Linnaeus, 1758)) – один із найчисленніших і широкоареальних видів малакофауни України. За допомогою цих організмів можна скласти уявлення про стан забруднення гідромережі.

У ході токсикологічних досліджень найперше визначають межі безпечності токсичної речовини та найбільшого і помірнього її впливу. У мікродозах дані поллютанти вкрай необхідні для нормальної життєдіяльності гідробіонтів. Вони входять до складу активних центрів окисно-відновних ферментів і сприяють росту й розмноженню тварин. За перевищення безпечного рівня в організмах зникає межа між їхньою фізіологічною і токсичною дією [7].

У токсикологічних дослідженнях значну увагу приділяють вивченню впливу іонів важких металів на поведінкові й фізіологічні реакції та порушення фізико-хімічних властивостей гемолімфи витушки [5, 11–13, 19, 22]. Встановлено токсикологічні показники ( $LC_{0}$ ,  $LC_{50}$ ,  $LC_{100}$ ) за впливу іонів міді, цинку, кадмію на легеневих молюсків [16]. Такі дослідження спрямовані на визначення діапазонів концентрацій, які можна використати в подальших експериментах. Основним їхнім критерієм є ступінь виживання тварин.

Мета роботи: визначити основні екотоксикологічні показники для витушки рогової *P. corneus* за дії на неї іонів міді, нікелю, цинку, мангану. По кожному з металів визначено 10 токсикологічних показників, деякі з них встановлено вперше.

#### Матеріали та методи

Досліджено витушок однієї і тієї ж розмірної групи ( $2,62 \pm 0,02$ ) із р. Сапогівка (сmt Миропіль Житомирської обл.), зібраних вручну та за допомогою сачка у серпні 2020 р. У кожній із контрольних груп було по 6 екз., у дослідних – 6–8 екз. молюсків. У лабораторію тварин доставляли у пластиковій тарі. Токсикологічному дослідженню передувала 15-добова аклімація молюсків до умов лабораторного утримання, згідно з вимогами правил постановки екотоксикологічних експериментів [23].

Умови досліду: температура води – 20–22 °С, водневий показник (pH) – 7,5–8,0, оксигенізація – 7,8–8,2 мг/дм<sup>3</sup>. Токсиканти –  $CuCl_2 \times 2H_2O$ ,  $ZnCl_2 \times 2H_2O$ ,  $NiCl_2 \times 6H_2O$ ,  $MnCl_2 \times 4H_2O$ . Розчини готували на дехлорованій відстоюванням (1 доба) воді з житомирської водогінної мережі. Оновлення середовища здійснювали через добу.

Орієнтовний і основний токсикологічний досліди поставлено за методикою В. Алексєєва [1]. Орієнтовним дослідом встановлено концентрації, необхідні для проведення основного експерименту. Визначали вплив на піддослідних тварин різних концентрацій хлоридів важких металів у перерахунку на катіон. Експозиція – 48 год. У результаті дослі-

дження встановлено основні екотоксикологічні показники: недіючі, сублетальні та летальні концентрації –  $LC_0$ ,  $LC_{50}$ ,  $LC_{100}$ ; ступінь токсичності (СТ); порогову концентрацію (ПК); латентний період (ЛП); летальний час (ЛЧ); летальний середній час (ЛСЧ); коефіцієнт витривалості (КВ); коефіцієнт пристосування (КП). Більшість показників отримали завдяки візуальному спостереженню за поведінкою тварин у токсичному середовищі й завдяки аналізу летальних випадків. Коефіцієнт витривалості визначали за формулою [4]:

$$KB = \frac{E_k}{E_n}$$

де  $E_k$  – час, через який загинули всі піддослідні тварини;  $E_n$  – час, за який загинула перша тварина.

Коефіцієнт пристосування встановлювали за методикою І. Мелесі [25]. Молюсків дослідної групи витримували 2 доби у розчинах сублетальних концентрацій хлоридів металів, а контрольних тварин – у воді без додавання токсикантів. Потім піддослідних та контрольних особин переносили у розчини летальних концентрацій досліджуваних токсикантів і фіксували час їхньої смерті. Обчислювали середній час виживання кожної з груп витушок і встановлювали різницю в часі загибелі (год) піддослідних та контрольних особин. І це був коефіцієнт пристосування.

#### Результати і їхнє обговорення

Встановлено загальні особливості токсичного впливу іонів міді, цинку, нікелю, мангану на основні токсикологічні показники *P. corneus* (табл. 1), за якими було визначено зони токсичної дії досліджуваних токсикантів:  $Cu^{2+}$  – < 0,004–0,04 мг/дм<sup>3</sup>;  $Zn^{2+}$  – < 0,25–5 мг/дм<sup>3</sup>;  $Ni^{2+}$  – < 0,5–250 мг/дм<sup>3</sup>;  $Mn^{2+}$  – < 150–3000 мг/дм<sup>3</sup>.

Згідно зі шкалою токсичності речовин для гідробіонтів, досліджені нами токсиканти за рівнем токсичного впливу належать до чотирьох груп [17]. До високотоксичних речовин (< 1 мг/дм<sup>3</sup>) належить мідь, сильнотоксичних (1–10 мг/дм<sup>3</sup>) – цинк, помірнотоксичних (10–100 мг/дм<sup>3</sup>) – нікель, слабкотоксичних (вище 100 мг/дм<sup>3</sup>) – манган.

Таблиця 1

Основні токсикологічні показники (мг/дм<sup>3</sup>) витушки рогової за дії на неї іонів важких металів

Іон	$LC_0$	$LC_{50}$	$LC_{100}$	Ступінь токсичності	Порогова концентрація
$Cu^{2+}$	0,004	0,02	0,04	0,02	0,0004
$Zn^{2+}$	0,25	2	5	2	0,005
$Ni^{2+}$	0,5	100	250	100	0,05
$Mn^{2+}$	150	700	3000	700	0,3

Піддослідні молюски є високочутливими до дії на них іонів важких металів, на що вказують значення порогових концентрацій. Встановлено підпорогові, сублетальні, хронічні летальні та гостролетальні концентрації для кожного із використаних токсикантів (мг/дм<sup>3</sup>) (табл. 2). Визначаючи ці показники, ми вели спостереження за етологічними особливостями і загальним станом особин. Саме поведінка є найчутливішим показником ступеня токсичності *P. corneus* до вищезазначених металів.

Після занурення витушок у воду з підпороговими концентраціями даних поллютантів жодних змін у їхній поведінці, порівняно з контролем, не відзначено. Вони були байдужими до токсичного середовища. За сублетальних концентрацій молюски життєздатні протягом усього досліду, у них спостерігали активування кормової і статевої поведінки. Однією із захисних реакцій особин було утворення набряку внаслідок порушення у них водного

балансу. Тварини пом'якшують наслідки іонів важких металів шляхом «розведення» концентрації отруйних речовин [19].

Таблиця 2

Іон	Концентрації іонів важких металів (мг/дм <sup>3</sup> ), використані у досліджах			
	Концентрації			
	Підпорогові	Сублетальні	Хронічні летальні	Гостролетальні
Cu <sup>2+</sup>	4×10 <sup>-5</sup>	0,0004	0,04	4
Zn <sup>2+</sup>	0,005	0,05	5	20
Ni <sup>2+</sup>	0,05	0,5	50	50
Mn <sup>2+</sup>	0,3	3	90	200

За хронічнолетальних концентрацій у 50 % піддослідних тварин мало місце пригнічення життєвих функцій і посилене виділення слизу залозистими клітинами шкірного епітелію. Решта ж особин загинули. У гостролетальних концентраціях молюски на початку дослідження прагнули покинути токсичне середовище, а потім прикріплювалися до стінок акваріума або нерухомо лежали на дні. До моменту завершення експерименту (48 год) смертність піддослідних тварин сягала 100 %.

Латентний період – це проміжок часу між початком впливу токсикантів на піддослідних тварин і появою перших ознак отруєння у них [14]. Цей показник визначали за візуальними спостереженнями (табл. 3). Перші поведінкові реакції у розчинах з іонами міді спостерігали за концентрації 0,004 мг/дм<sup>3</sup>. У витушок через 14 год після перебування у розчині з вищезазначеною концентрацією відбулося послаблення рухової активності й посилювалося слизовиділення. З підвищенням концентрації цього полютанта у середовищі прояв перших ознак отруєння прискорюється.

Таблиця 3

Тривалість латентного періоду витушки рогової за дії на неї іонів важких металів							
Cu <sup>2+</sup>		Zn <sup>2+</sup>		Ni <sup>2+</sup>		Mn <sup>2+</sup>	
C <sub>Cu<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛП, год	C <sub>Zn<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛП, год	C <sub>Ni<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛП, год	C <sub>Mn<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛП, год
0,004	14	0,005	24,1	0,005	25,5	0,003	25
0,04	4,2	0,05	10,3	0,05	24,2	0,03	4,1
0,4	1,4	0,5	2,1	0,5	20,5	0,3	2
4	0,5	5	1,5	5	2,1	3	1,1
40	0,3	50	1	50	1,1	30	0,35
400	0,1	500	0,1	500	0,1	300	0,3

У розчинах іонів цинку (діапазон 0,05–500 мг/дм<sup>3</sup>), на відміну від іонів міді, поява перших ознак отруєння спостерігається менш стрімко і через більший період часу. За концентрації 0,005 мг/дм<sup>3</sup> зміни у поведінці тварин мали місце лише на початку другої доби.

Подібне простежується і за зниження концентрацій Ni<sup>2+</sup> та Mn<sup>2+</sup>. У розчинах високих концентрацій цих металів перші ознаки з'являються через нетривалі від початку досліду проміжки часу. За дії іонів нікелю латентний період незначно збільшується, починаючи з концентрацій 0,05 мг/дм<sup>3</sup> і нижче. Оскільки Mn<sup>2+</sup> – слабкотоксичний агент, то чутливість витушок до нього виявляється за 0,03 мг/дм<sup>3</sup>.

За летальних концентрацій (LC<sub>100</sub>) досліджуваних токсикантів у піддослідних *P. corneus* упродовж першої доби експерименту стрімко розвивається патологічний процес – отруєння, внаслідок розвитку у них деструктивних явищ на клітинному рівні. До моменту завершення експерименту всі особини цієї групи гинуть (табл. 4).



Таблиця 4

Тривалість летального часу витушки рогової за дії на неї іонів важких металів

Cu <sup>2+</sup>		Zn <sup>2+</sup>		Ni <sup>2+</sup>		Mn <sup>2+</sup>	
C <sub>Cu<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛЧ, год	C <sub>Zn<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛЧ, год	C <sub>Ni<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛЧ, год	C <sub>Mn<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛЧ, год
0,004	37						
0,04	30	0,05	41,0	0,05	43,3		
0,4	12	0,5	23,2	0,5	29,1		
4	0,5	5	18,4	5	19,3		
40	0,3	50	6,3	50	8,1	30	27
400	0,1	500	0,4	500	0,5	300	15
						3000	1,1

Із підвищенням концентрацій іонів важких металів у середовищі значення показників летального часу у моллюсків зменшуються. Найдовший летальний час відзначений для іона мангану (II), а найкоротший - для іона міді. Показник LC<sub>50</sub> вказує на те, що дані моллюски є досить чутливими до дії важких металів і, до певної межі, можуть протидіяти впливові даних токсикантів. Отруєні важкими металами тварини після перенесення їх у чисте середовище не здатні до відновлення рухової активності. Отже, оборотність отруєння витушок цими поллютантами є досить невисокою.

Летальний середній час у *P. corneus* зі зростанням концентрації іонів важких металів зменшується (табл. 5). Високу летальність (загибель 50 % тварин) спостерігали у розчинах Cu<sup>2+</sup> через сильну токсичність зазначеного металу. За дії Mn<sup>2+</sup> моллюски у досліді загинули за більших концентрацій, порівняно з іншими токсикантами. Порівняння показників летального середнього часу у розчинах токсикантів одного порядку (300 мг/дм<sup>3</sup> Mn<sup>2+</sup>, 400 мг/дм<sup>3</sup> Cu<sup>2+</sup> та 500 мг/дм<sup>3</sup> Zn<sup>2+</sup> і Ni<sup>2+</sup>) показало, що вони зростають від 1,1 год у розчинах з іонами міді до 3–5 год з іонами цинку і нікелю та до 46 год у розчині з іонами мангану.

Таблиця 5

Тривалість летального середнього часу витушки рогової за дії на неї іонів важких металів

Cu <sup>2+</sup>		Zn <sup>2+</sup>		Ni <sup>2+</sup>		Mn <sup>2+</sup>	
C <sub>Cu<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛСЧ, год	C <sub>Zn<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛСЧ, год	C <sub>Ni<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛСЧ, год	C <sub>Mn<sup>2+</sup></sub> , мг/дм <sup>3</sup>	ЛСЧ, год
0,04	43						
0,4	23,1	0,5	40	0,5	42		
4	9,2	5	20	5	29		
40	3,2	50	11	50	15		
400	1,1	500	3	500	5	300	4
						3000	46

Коефіцієнти витривалості (КВ) і пристосування (КП) дають уявлення про рівень адаптації піддослідних моллюсків до дії різних концентрацій іонів металів. Встановлено, що чим нижчою є концентрація токсиканта, тим менші значення коефіцієнта витривалості (табл. 6). За низьких концентрацій іонів важких металів встановити КВ неможливо через відсутність повної загибелі тварин до моменту завершення гострого дослідю.

На коефіцієнт пристосування впливає хімічна природа агента і його концентрації: більш виражена адаптація до отрут органічної природи і майже зовсім відсутня до неорганічних речовин [17]. Встановлено (табл. 7), що значення КП є найвищими для високотоксичних металів (Cu<sup>2+</sup>) і найменшими для слабкотоксичних (Mn<sup>2+</sup>). У витушок за дії

іонів міді спостерігається тимчасовий характер адаптацій до впливу токсиканта. Вони виражаються у початковій підвищеній стійкості тварин до отрути, після чого настає депресія внаслідок порушення їхніх пристосувальних механізмів.

Таблиця 6

Коефіцієнт витривалості витушки рогової за дії на неї іонів важких металів

Cu <sup>2+</sup>		Zn <sup>2+</sup>		Ni <sup>2+</sup>		Mn <sup>2+</sup>	
C <sub>Cu</sub> <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	КВ, год	C <sub>Zn</sub> <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	КВ, год	C <sub>Ni</sub> <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	КВ, год	C <sub>Mn</sub> <sup>2+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	КВ, год
0,4	1,14	0,5	1,25				
4	1,32	5	1,34	5	2,05		
40	2,47	50	1,56	50	3,12		
400	3,12	500	2,87	500	2,21		
						3000	3,57

Таблиця 7

Коефіцієнт пристосування витушки рогової за дії на неї іонів важких металів

Іон металу	Коефіцієнт пристосування, год
Cu <sup>2+</sup>	4
Zn <sup>2+</sup>	1,30
Ni <sup>2+</sup>	1,15
Mn <sup>2+</sup>	1

Отже, за зростанням рівня токсичності для *P. corneus* іони досліджуваних металів можна розмістити в такий ряд: Mn<sup>2+</sup> > Ni<sup>2+</sup> > Zn<sup>2+</sup> > Cu<sup>2+</sup>. За хронічної дії низьких концентрацій вони викликають у молюсків патологічні зміни, провокуючи розвиток кумулятивних токсикозів. За підвищення концентрацій токсикантів латентний період у витушок прискорюється, а летальний час зменшується. Значення коефіцієнта витривалості за дії на молюсків досліджуваних поллютантів послаблюється від високих концентрацій іонів металів до низьких. Найкраще піддослідні тварини пристосовуються до впливу на них Cu<sup>2+</sup> (високотоксичний метал), а найгірше – до Mn<sup>2+</sup> (слаботоксичний метал).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журнал. 1981. Т. 17. № 3. С. 92–100.
2. Беспалова Л. Е., Оліфіренко В. В., Рачковський А. В. Водна токсикологія. Херсон: Колос, 2011. 131 с.
3. Вишневський В. І. Річки і водойми України. Стан і використання. К.: Віпол, 2000. 376 с.
4. Выскушенко Д. А. Реагирование прудовика озерного (*Lymnaea stagnalis* L.) на воздействие сульфата меди и хлорида цинка // Гидробиол. журнал. 2002. Т. 38. № 4. С. 86–92.
5. Войціцька Л. Г., Стадниченко А. П. Вплив нікель сульфату водного середовища на показники дихання рогових витушок (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Bulinidae) у нормі і за інвазії їх трематодами / Біологічні дослідження – 2015: зб. наук. праць. Житомир: Рута, 2015. С. 163–166.
6. Гірій В. А., Колісник І. А., Косовець О. О., Кузнєцова Т. О. Динаміка якості поверхневих вод України на початку XXI століття // Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія. 2011. Т. 4. № 25. С. 129–136.
7. Горювая С. Л., Столярова С. А. Физиолого-биохимические показатели рыб водоемов Белоруссии. Минск: Наука и техника, 1987. 157 с.

8. Давыдова С. Л., Тагасов В. И. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века. М.: Изд-во РУДН, 2002. 140 с.
9. Давыдова О. А., Климов Е. С., Ваганова Е. С., Ваганов А. С. Влияние физико-химических факторов на содержание тяжелых металлов в водных экосистемах. Ульяновск: УлГТУ, 2014. 167 с.
10. Дудник С. В., Євтушенко М. Ю. Водна токсикологія: основні теоретичні положення та їхнє практичне застосування: навч. посіб. К.: Вид-во Укр. фітосоціол. центру, 2013. 297 с.
11. Киричук Г. Е. Особенности накопления ионов тяжелых металлов в организме пресноводных моллюсков // Гидробиол. журнал. 2006. Т. 42. № 4. С. 99–100.
12. Киричук Г. Є. Фізіолого-біохімічні механізми адаптації прісноводних молюсків до змін біотичних та абіотичних чинників водного середовища: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.17. К., 2011. 45 с.
13. Киричук Г. Є., Стадниченко А. П. Вплив іонів міді водного середовища на гістометрію гемоцитів і деякі гематологічні показники витушки (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata: Vulinidae) у нормі та за інвазії її трематодами // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2007. Вип. 45. С. 102–108.
14. Кузьменко М. И., Брагинский Л. П., Ковальчук Т. В., Романенко А. В. Гидроэкологический русско-украинско-английский словарь-справочник / под ред. В.Д. Романенко. К.: Демиург, 1999. 262 с.
15. Линник П. Н. Тяжелые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции // Гидробиол. журнал. 1999. Т. 35. № 1. С. 22–42.
16. Малева М. Г., Семашко И. Н., Павлова О. А. Ответные реакции *Ceratophyllum demersum* L. на действие тяжелых металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$ ) / Проблемы глобальной и региональной экологии: конф. молодых ученых. Екатеринбург: Академкнига, 2003. С. 144–147.
17. Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г. Водная токсикология. М.: Колос, 1971. 247 с.
18. Мислива Т. М., Кот І. С. Важкі метали у водах малих річок і боліт Житомирського Полісся // Вісн. Житомир. нац. агрокол. ун-ту. 2011. Т. 1. № 2 (29). С. 58–68.
19. Пінкіна Т. В. Екотоксикологічна характеристика ставковика озерного за дії на нього важких металів водного середовища // Природничий альманах. Сер. біол. науки. 2010. № 14. С. 138–151.
20. Пінкіна Т. В., Пінкін А. А. Оцінка токсикорезистентності ставковика озерного (Mollusca: Gastropoda) до впливу йонів мангану (II) у водному середовищі // Ukrainian Journal of Ecology. 2018. № 8 (1). P. 719–729.
21. Романенко В. Д. Основи гідроекології. К.: Обереги, 2001. 728 с.
22. Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Василенко О. Ф. и др. Влияние различных концентраций сульфата цинка на физико-химические свойства гемолимфы катушек *Planorbarius* (Mollusca: Vulinidae) в норме и при инвазии трематодами // Паразитология. 1993. Т. 27. № 5. С. 404–409.
23. Хлебович В. В. Акклимация животных. Л.: Наука, 1981. 136 с.
24. Golovko N., Golovko T., Gelikh A. Investigation amino-acid structure of proteins bivalve freshwater Mussels from the family Anodonta of the northern Ukraine // East.-Eur. J. Enterp. Technol. 2015. Vol. 77. N 5/11. P. 10–16.
25. Malacea I. Untersuchungen über die Gewohnung der Fische on hohe Konzentrationen toxischer Substanzen // Arch. Hydrobiol. 1968. Vol. 65. N 1. P. 74–95.

26. Pinkina T., Zymarioieva A., Matkovska S. et al. Trophic characteristics of *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda: Lymnaeidae) in toxic environment // *Ekologia* (Bratislava). 2019. Vol. 38. N 3. P. 292–300.
27. Ramade F. *Ecotoxicology*. Chichester [West Sussex]; New York: Wiley, 1987. 262 p.

Стаття надійшла до редакції 13.01.21

доопрацьована 24.03.21

прийнята до друку 07.05.21

## INFLUENCE OF HEAVY METAL IONS ON ECOTOXICOLOGICAL INDICATORS OF *PLANORBARIUS CORNEUS* (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA, BULINIDAE)

Y. Babych, T. Pinkina

<sup>1</sup>Zhytomyr Ivan Franko State University  
40, Velyka Berdychivska St., Zhytomyr 10008, Ukraine

<sup>2</sup>Polissya National University  
7, Boulevard Old, Zhytomyr 10002, Ukraine  
e-mail: b\_yulia@i.ua

The influence of different concentrations of ions of copper, zinc, nickel, manganese of the aquatic environment on the ecotoxicological indicators of the wide range and the most numerous species of malacofauna of Ukraine – *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758) was studied. According to the level of toxic effect on the coils, the pollutants studied by us belong to the categories of low-toxic ( $Mn^{2+}$ ), moderately toxic ( $Ni^{2+}$ ), highly toxic ( $Zn^{2+}$ ) and highly toxic ( $Cu^{2+}$ ) substances. The values of subthreshold, sublethal, chronically lethal, and acute lethal concentrations for each of the used toxicants ( $mg/dm^3$ ) were determined according to the peculiarities of behavior and physiological condition of the experimental animals. As the concentrations of metal ions in the medium increase, the values of the latent period in *P. corneus* increase. The first signs of poisoning in animals are a weakening of motor activity and increased mucus secretion. At lethal concentrations ( $LC_{100}$ ) of these toxicants in experimental mollusks develops a rapid pathological process. By the end of the experiment, all individuals in this group die. With increasing concentrations of heavy metal ions, lethal time and lethal mean time decrease. The highest lethal time values were observed for manganese (II) ions, and the lowest for copper ions. The reversibility of mollusk poisoning by different concentrations of these metals was studied. Restoration of functions in the studied animals is carried out in reverse order. Under the action of the same concentrations of heavy metal ions, the duration of the lethal mean time is different.

The value of the coefficient of endurance under the influence of heavy metals on the horn extract decreases from high to low concentrations. At subthreshold concentrations, this coefficient cannot be established due to the absence of 100 % death of individuals until the end of the acute experiment. The values of the adaptation coefficient are the highest for highly toxic metal ( $Cu^{2+}$ ) and the lowest for weakly toxic ( $Mn^{2+}$ ). Under the action of copper ions, the adaptation of animals to the effects of the toxicant is temporary, followed by depression.

*Keywords:* *Planorbarius corneus*, heavy metals, ecotoxicological indicators

**ASSESSMENT OF ECOTOXICAL STATE OF TECHNOLOGICALLY  
MODIFIED EDAPHOTOPES WITH WASTE OF OIL REFINERY  
WITH THE *ALLIUM*-TEST METHOD**

**H. Klepach<sup>1\*</sup>, N. Holub<sup>2</sup>, O. Lupak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University  
24, I. Franko St., Drohobych 82100, Ukraine  
e-mail: pavlishko@yahoo.com*

<sup>2</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: nataliia.holub@lnu.edu.ua*

The ecotoxic state of technologically modified edaphotopes by waste of refinery was investigated with the *Allium*-test method. Material for the investigations was samples of edaphotopes which were selected at a depth of 15–20 cm from seven research areas of different locations. The last ones were 10–200 m away in relation to the surface storages of oil sludge and other waste of refinery. It has been detected in *Allium*-test that edaphotopes of the research areas located at a distance of 10–50 m relative to the storages of waste are toxic. Particularly, their aqueous extracts cause a medium and high level of phyto-, cyto- and genotoxic effects on the growing and proliferative activity of *Allium cepa* Stuttgarter Riesen variety meristem. Test extracts of edaphotopes in growing *Allium*-test caused darkening of rootlets and blackening of their tips (contrary to the light rootlets with light tips in control). In addition to it the growing activity of *A. cepa* bulb roots that were grown on the aqueous extracts of edaphotopes was decreased in 1.71–3.5 times depending on the location and measure of remoteness of the research area from the storage of waste of the refinery. Phytotoxicity of aqueous extracts of those edaphotopes regarding to *A. cepa* is above average and higher levels, and tolerance of onion rootlets to the test extracts decreases up to 29–52 % comparing to control. The mitotic activity of apical meristem of rootlets also decreased. Particularly, mitotic indexes diminished to 51.05–63.57 % (in control – 82.34 %) and cytotoxicity ones were in the range of 22.8–48.0 % that confirms the medial level of cytotoxicity of the investigated edaphotopes. Ana-telophase method and micronucleus test have shown that the chromosome aberrations frequency and appearance of micronuclei in the cells of the apical meristem of the test object *A. cepa* is higher in 3.34–5.20 times comparing to control. It indicates the average and the high level of genotoxicity of the investigated edaphotopes. The edaphotopes, which are located at the distance of 100–200 m in relation to the surface storages of waste of refinery have a slight phyto-, cyto- and genotoxic effects which are close to the background level.

*Keywords:* waste of oil refinery, edaphotopes, *Allium*-test, ecotoxicity

Oil refineries (ORs) are strong pollutants of the environment during the last century. Despite of introduction of up-to-date technologies of oil processing, some of ORs continue generating a big volumes of exhausted fumes into the environment. A great danger for the environment has their surface storages where oil-slimes and other waste of oil processing are dumped. Concentrating in soils adjacent to oil-slime storages and spreading along ground horizons they cause the negative changes of all their characteristics. Significant or partial soil pollution with oil-slimes leads to the change of physical, physico-chemical and chemical characteristics of soil. The level of these changes depends on the type of soil and its initial state as well as the kind and number of pollutants [3].

Among oil-slimes there is a number of substances which penetrate into soil and cause genotoxic action: they can enhance the intensity of natural mutation in ten and hundred times. Some of them are carcinogens, some – co-mutagens. Nowadays mutagenic effects of chemical compounds (chemical mutagenesis) is in the centre of genotoxic investigations, whereas they have a significant meaning for medicine, ecology and national economy [1, 8, 19, 20].

For ecotoxic assessment of the state of technologically contaminated soils different methods are used [3, 17, 18]. They include chemical-analytical, bio-indicative and bio-testing methods. Each of them has its advantages and disadvantages, and only their co-application are the most objective assessment of the soils conditions, their suitability for the using for various purposes of national economy. So the spectrum of soil pollutants detected by chemical-analytical methods doesn't always make it possible to estimate their toxicity for plants, animals and humans [8]. In contrast to chemical analysis, biodiagnosis methods make it possible to estimate the presence of most soil pollutants using the test organisms in experimental or natural conditions [20]. Biodiagnosis based on the application of bioindication and bioassay methods allows detecting the presence of contaminants in the soil by changing the status of its phytobiota [16].

Bioassay methods are used to evaluate the quality of environmental objects (mainly in the laboratory) using living organisms. Using specially selected, highly sensitive to contamination the test organisms (biotesters) it's possibly to determine the integral toxicity of samples from the investigated territories, evaluate their ecological and toxicological state and possible consequences [1, 10].

According to the recommendations of the Special Committee on Ecological Toxicology of the International Scientific Committee on Environmental Issues, at least two biotest systems should be used to accurately assess the ecological state of an environmental object. Especial attention is paid to plant biotest systems due to their availability, simplicity and cost-effectiveness of the studies carried out on them, the reliability and consistency of the obtained results, and, importantly, they are widely used to assess soil contamination and their environmental state [5, 7, 12, 18]. Another biotest-object may be animal organisms, such as *Danio rerio* fish, branched *Cladocera crustaceans* (*Daphnia magna* and ceriodaphnia *Cladocera crustaceae*) [13] and gill-shape legged crustaceans, flies *Drosophila melanogaster* [2].

**The aim of the work** was the assessment of genotoxicity of edaphotopes adjacent to the surface storages of the oil processing waste of the OR with *Allium*-test bioassay.

#### Materials and Methods

The material used for the investigation was the edaphotopes adjacent to the surface storages of oil processing waste contained in the Drohobych district. The edaphotopes were selected in 2019 from the test sites (EEA), located at different distances relative to storages. EEA1 located at the distance of 10 m, EEA2 – at the distance of 20 m, EEA3 – 30 m, EEA4 – 40 m, EEA5 – 50 m, EEA6 – 100 m, EEA7 – 200 m. Edaphotope samples (each of 1 kg) were taken at a depth of 15–20 cm according to the recommended methods [4]. Each mixed sample was prepared from 5 samples, mixed with each other, and immediately transported to the laboratory for further researches. Edaphotope samples were being dried in semi-sterile conditions on glass plates at room temperature (20±2 °C) within 15–20 days.

Preparation of aqueous extracts: pieces of edaphotopes weighing 20 g were ground in a mortar, sieved through an aluminum perforated sieve (3 mm in diameter), 100 ml of water were added, shaken for 10–15 min and stood for 15 h. The resulting extracts were filtered, sterilized by holding (15 min) in a water bath at 100 °C. The filtrates were cooled and used for further studies.

The assessment of phyto-, cyto- and genotoxicity of the investigated edaphotopes was taken by a modified variant of *Allium*-test in which test-object (*Allium cepa* bulbs of the Stuttgarter

Riesen) was placed in aqueous extracts of edaphotopes without first germinating roots [6]. For each testing edaphotope the three independent same experiments in five times were performed. Artesian water of low mineralization was as control.

**The overall toxicity** of edaphotopes was assessed in a screening test using a standard plant test system of *A. cepa*. The parameters of the test reaction were turgescence, discoloration, and shape of *A. cepa* bulbs grown during five days on experimental and control samples.

**The phytotoxicity** of edaphotopes in the *Allium*-test was evaluated by the phytotoxicity index of the sample ( $PI_{\%}$ ) determined by the formula:  $PI_{\%} = (M_C - M_E) \times 100 \% / M_C$ , where  $M_C$  – the magnitude of the test reaction in control;  $M_E$  – the magnitude of the test reaction in the experimental sample. **The level of phytotoxicity** of edaphotopes was assessed on a five-point scale [11]: 0–20 % – absent or weak level; 20.1–40 % – medial level, 40.1–60 % – above average level; 60.1–80 % – high level; 80.1–100 % – maximal level. The magnitude of the test reaction was the length of the roots of *A. cepa* bulbs which were grown on experimental and control aqueous extracts. The root length (in mm) of bulbs was measured on the fifth day of growth (exposure time), and the mean value (M) and its error (m) were calculated.

**Tolerance** of *A. cepa* roots to aqueous extracts of edaphotopes in the *Allium*-test was evaluated by the tolerance index ( $TI_{\%}$ ).  $TI_{\%}$  was determined by the root length of bulbs, and was calculated by the formula:  $TI_{\%} = (M_E / M_C) \times 100 \%$ , where  $M_E$  is the average root length of *A. cepa* bulbs of the experimental variant;  $M_C$  is the average root length of the bulbs in control [9].

**The cytotoxicity** of edaphotopes in the *Allium*-test was evaluated by mitotic ( $MI_{\%}$ ) and cytotoxic ( $CI_{\%}$ ) indexes [15].  $MI_{\%}$  is an indicator of the proliferative activity of meristem cells of roots of *A. cepa* bulbs, which was calculated by the formula:  $MI_{\%} = \Sigma (P+M+A+T) \times 100 \% / N$ , where  $\Sigma (P+M+A+T)$  – the sum of cells undergoing pro-, meta-, ana- and telophase, and N is the total number of counted cells. For this purpose cytopreparations of meristem roots of *A. cepa* bulbs grown on the test extracts and artesian water were prepared. Cytopreparations were prepared according to the method [14] which included the selection of root meristems, their fixation with Clark's solution, washing with 70 % ethanol and staining with 2 % acetoorsein. Microscopy of the preparations was carried out at magnification 40×15 and 90×15. The cytotoxicity index ( $CI_{\%}$ ) was determined by the formula:  $CI_{\%} = (MI_E - MI_C) \times (MI_C^{-1}) \times 100 \%$ , where  $MI_E$  is the average mitotic index of the bulb roots of *A. cepa* in test samples;  $MI_C$  is the average mitotic index of the roots in control. The level of cytotoxicity of edaphotopes was assessed on a five-point scale [11]: 0–20 % – absent or weak; 20.1–40 % – medial; 40.1–60 % – above average; 60.1–80 % – high; 80.1–100 % – maximal.

**The genotoxicity** of edaphotopes was assessed by the frequencies of chromosome aberrations and appearance of micronuclei induced in the root apical meristem of bulbs [14]. The frequency of chromosome aberrations was determined by ana-telophase method according to Prokhorova and coauthors technique. According to the technique all ana- and telophases on cytopreparations are counted and among them cells with chromosome aberrations are detected [14]. At least 500 of ana- and telophases cells were analyzed on the cytopreparations of *A. cepa* root meristems, among which cells with different types of aberrations were detected. The chromosome aberrations frequency ( $FM_{\%}$ ) was calculated by the formula:  $FM_{\%} = \Sigma (MCh) \times 100 \% / N(A+T)$ , where  $\Sigma (MCh)$  – the sum of cells with chromosome aberrations (bridges, lagging chromosomes, their fragments, vagrant chromosomes and others) at the ana- and telophase stages;  $N(A+T)$  – the total number of ana- and telophases analyzed on the cytopreparations.

The frequency of the micronuclei appearance was assessed by micronucleus method [11]. At least 1000 interphase cells were analyzed on the cytopreparations of *A. cepa* root meristems

among which cells with micronuclei were detected. The mutation frequency was calculated with the formula:  $FMn_{\%} = \Sigma I_{mkn} \times 100 \% / \Sigma I$ , where  $\Sigma I_{mkn}$  – the sum of cells with micronuclei;  $\Sigma I$  – the total number of analyzed interphases on the cytopreparations.

**The level of genotoxicity** of edaphotopes was assessed by the coefficient of the mutagenic effect expression (KME, k). KME indicates in how many times the frequency of chromosomal aberrations in the experiment is higher than in the control, and it's evaluated in points. KME = 1-2 – mutagenic effect is absent;  $KME \leq 5$  – mutagenic effect is low;  $KME \leq 10$  – mutagenic effect is medial;  $KME \geq 10$  – mutagenic effect is strong [15].

**Statistical analysis of experimental data.** Experiments were carried out in 5 repetitions. Arithmetical mean (M), standard error of mean value (m), the Student's ratio (t) and the reliability index (p) were determined for each selection of indices. *Statistical significant effects are indicated by  $p \leq 0.05$ .*

### Results and Discussion

During the processing and production of petroleum products various waste, including oil sludge, are generated. Oil sludge is a mixture of water, mechanical impurities, chloride salts with petroleum or petroleum products, which is not to be used in production, and therefore should be sent for disposal. In case of improper storage of waste of oil refining in open-type surface storage facilities which are not equipped with restrictive means, their seepage into adjacent soils and subsequent migration of soil horizons is observed. Getting into the soil, the components of the sludge cause their contamination, imbalance, death of some organisms that inhabit the surface layers of soil [3].

For the purpose of the initial assessment of the ecotoxic state of soils adjacent to the surface storages of oil processing waste of OR (Fig. 1), they were investigated for phyto-, cyto- and genotoxicity using standard *Allium*-test [6, 11]. *Allium*-test is a widely used method of biotesting recommended by the International Commission on Mutagenic and Carcinogenic Compounds [3], which analyzes the growth and mitotic activity of *A. cepa* bulb roots [6]. It is noted that the sensitivity of *A. cepa* as a test object is similar to the sensitivity of Chinese hamster cells and human lymphocytes – test systems for the assessment of environmental factors [18].



Fig. 1. Still pictures on the left and on the right – the view of sumps of the refinery

At the first stage of the *Allium*-test (screening test) we visually evaluated such morphological indicators as the turgescence, color, shape (swelling and bending) of the roots grown on the aqueous extracts of edaphotopes. As can be seen from Table, the turgescence of *A. cepa* bulb roots on all samples is normal, the shape is elongated and correct. But color the roots and tips of the bulb roots are different. In the sample EEA6 they are barely dark, in EEA2 – EEA5 ones –



completely dark or black (EEA1). In control the roots and their tips were light. The change in the tested indexes of the roots indicate the presence of pollutants in the edaphotopes of the research areas located at a distance of 10–100 m in relation to the oil processing waste of OR.

Phytotoxicity assessment of aqueous extracts of the investigated edaphotopes in the second stage was measured by the indexes of phytotoxicity ( $IP_{\%}$ ) and tolerance ( $IT_{\%}$ ) [9]. According to the results (see Table) the growth activity of *A. cepa* bulb roots grown on extracts of edaphotopes, with the exception of the two studied variants (EEA6 and EEA7) is statistically lower compared to the control. The  $IP_{\%}$  of water extracts of EEA1 – EEA5 edaphotopes are 20.78–71.24 %, that indicates their average and high phytotoxic effect. The indexes of bulb roots tolerance ( $IT_{\%}$ ) are determined after their length are low for EEA1 and EEA4 (Table) or medium for EEA2, EEA3, EEA5 and EEA7 samples, that confirms the negative effect of pollutants of the investigated edaphotopes on growth activity.

Morphometrical indexes of *A. cepa* bulb roots grown on aqueous extracts of edaphotopes adjacent to the surface storages of oil processing waste of OR

Samples of edaphotopes	Morphological indices of <i>Allium cepa</i> roots		Roots length (M±m), mm; (t*; ≤p**)	Indexes	
	Turgescence & Shape	Colour		Phytotoxicity index ( $IP_{\%}$ ); toxicity level	Tolerance index ( $IT_{\%}$ ); tolerance level
Control	Normal; lengthened regular (normal)	Light with light tips (normal)	38.88±1.82		
EEA1	Normal	Black with dark tips	12.88±1.19 (11.96; 0.01)	66.87%; high level	33 %; low level
EEA2	Normal	Dark with dark tips	22.69±2.28 (5.00; 0.01)	41.64 %; above average level	58 %; medium level
EEA3	Normal	Dark with dark tips	20.02±1.95 (7.07; 0.01)	48.04%; above average level	51 %; medium level
EEA4	Normal	Dark with dark tips	11.18±1.01 (13.31; 0.01)	71.24%; high level	29 %; low level
EEA5	Normal	Dark with dark tips	20.19±1.01 (8.98; 0.01)	48.07%; above average level	52 %; medium level
EEA6	Normal	Light with dark tips	33.14±1.73 (2.29; 0.02)	14.76%; low level	85 %; high level
EEA7	Normal	Normal	30.80±1.47* (3.45; 0.01)	20.78%; medium level	79 %; medium level

\*t – Student's ratio; \*\*p – reliability index

The last ones were obtained with calculating cells at the different stages of mitosis. To determine the target of mitosis modifying action of the pollutants of edaphotopes, phase indexes of the root meristems were calculated. The last ones were obtained with calculating cells at the different stages of mitosis (Fig. 3). As can be seen from the Fig. 2, the mitotic indexes of the root meristem in five investigated samples EEA1 – EEA5 are significantly lower comparing to the control (multiplicity values are 0.77–0.62). It should be noted that the prophase indexes of these edaphotopes samples are higher compared to the control (48.19 %) (Fig. 3). These results indicate the delay of the processes in the prophase associated with the condensation of chromosomes and their subsequent transition to the metaphase stage. Confirmation of this assumption is that the metaphase indexes of these experimental samples (EEA1 – EEA5) are lower than the control one. It can be explained by the decreased activity of the proteins responsible for the formation of the metaphase plate, for proper positioning and orientation of homologous chromosomes on it. In addition, the anaphase index of the root apical meristem in sample EEA3 is lower than the

control one and other edaphotope samples. This might indicate the ability of the pollutants of edaphotope, which are extracted with water, at higher concentrations to interfere with the normal formation of fission spindles and chromosome segregation.

Thus, the pollutants of the test edaphotope samples EEA1 – EEA5 have a negative effect on the course of processes in mitosis, especially in prophase and anaphase, showing mitosomodifying effect.

In other experimental samples (EEA6 and EEA7) there was a slight effect of edaphotope pollutants on mitotic activity of the root – there mitotic indexes are close to control (Fig. 2). For EEA6 and EEA7 the cytotoxic effect of their extracts is absent at all: the cytotoxicity indexes are low – 2.37 and 3.55, respectively (Fig. 2). The weaker mitotoxic effect of these edaphotopes can be explained by their longer distance (100 and 200 m) from the oil processing waste of OR. In addition, the phase indexes of these experimental samples are close to control. This ratio of phase indexes according to the literature is typical for the mitotic activity of *A. cepa* roots [6].

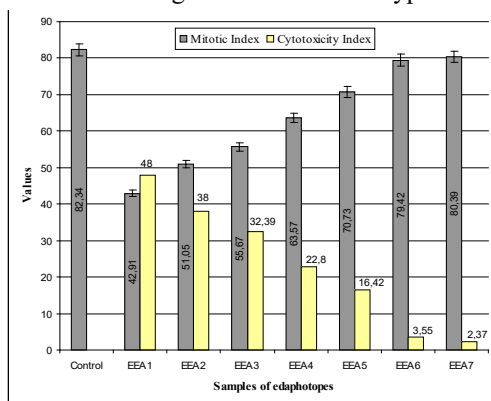


Fig. 2. Mitotic and cytotoxicity indexes of meristem cells of *A. cepa* bulb roots grown on aqueous extracts of the samples of edaphotopes

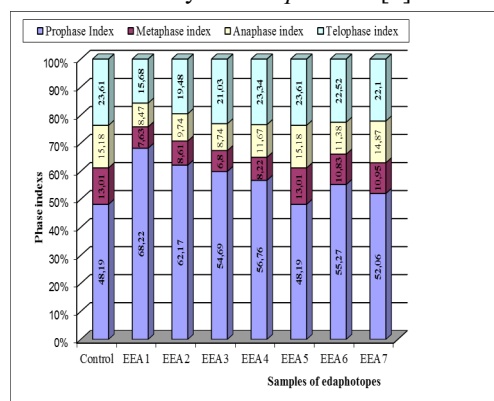


Fig. 3. Phase indexes of mitotic activity of meristem cells of *A. cepa* bulb roots grown on aqueous extracts of the samples of edaphotopes

So it was found that edaphotopes located at a distance of 10–50 m relative to the storages of oil processing waste of OR have a high and average cytotoxic effect (depending on the distance) on the proliferative activity of the test-object *A. cepa* meristem cells: their mitotic index are reduced to 51.05–63.57 % (normal – 82.34 %), and cytotoxicity index increases up to 22.8–48.0 %.

The genotoxicity assessment of technologically modified edaphotopes by the activity of the OR was carried out by ana-telophase method [14]. Ana-telophase method was combined with a micronucleus test [15]. The results of the studies are shown on Fig. 4 and Fig. 5. As we can see (Fig. 4), the frequency of chromosome aberrations in the meristem cells of *A. cepa* bulb roots induced by aqueous extracts of EEA1 – EEA5 sample edaphotopes was increased up to 2.32–4.12 % comparing to the control. Coefficient of the mutagenic effect expression (KME) was 2.73–4.85, indicating the low level of genotoxicity. For EEA6 – EEA7 samples the frequency of chromosome aberrations is close to the control. KME is not higher than 2. It indicates the absence of pronounced genotoxicity of edaphotopes located at the distance 100 m and 200 m in relation to the storages of oil processing waste. It should be noted that among the interphase cells of the meristem grown on the aqueous extracts of EDD1 – EDD5 sample edaphotopes, a significant proportion were cells with micronuclei (Fig. 6, B). In particular, the frequency of interphase cells with micronuclei is 1.97–3.60 % (0.30 % in control), and KME is 6.57–12.00 (Fig. 5). It

indicates on the medial and high level of genotoxicity of aqueous extracts of EDD1 – EDD5 edaphotopes (see Fig. 6, B). These indexes are especially high ( $k > 10$ ) for EDD1, EDD2 and EDD4 sample edaphotopes which are located at a distance of 10–40 m in relation to the storages of oil processing waste of the OR.

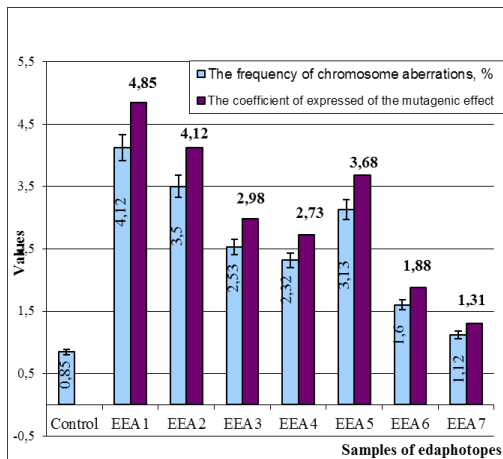


Fig. 4. Frequency of chromosome aberrations in mitotic phases of *A. cepa* root tip cells grown on aqueous extracts of the samples of edaphotopes

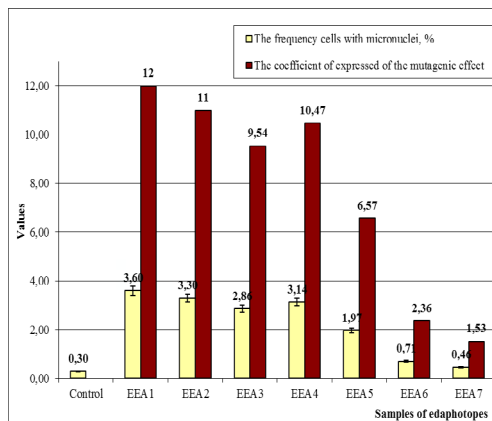


Fig. 5. Frequency of cells with micronuclei in meristem of *A. cepa* root tip cells grown on aqueous extracts of the samples of edaphotopes

In the ana-telophase test on cytopreparations of apical meristem cells of *A. cepa* bulb roots grown on aqueous extracts of EDD1 – EDD5 edaphotopes different types of disorders during the chromosomes divergence to the poles of spindle were revealed. Among them – chromosome lagging, formation of single and paired fragments and bridges which may be the result of deletions and translocations of chromosomes (Fig. 6, A). The high frequency of chromosome aberrations can be explained by the fact that the oil processing waste seeps into the adjacent soils from their storages. Since they are present in the studied edaphotopes in sufficiently high quantities they are highly likely to induce various types of chromosome aberrations – most often micronuclei in the meristem cells of test object *A. cepa*.

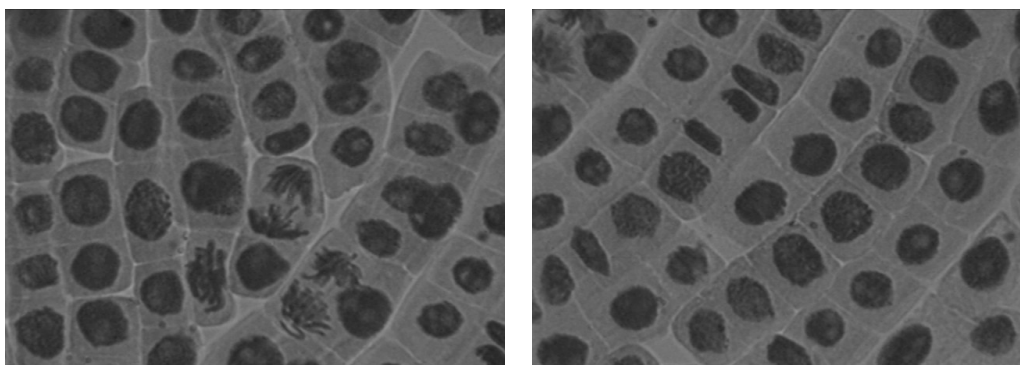


Fig. 6. Meristematic cells of root tips of *A. cepa* with chromosome aberrations (A) and micronuclei (B)

So it was shown that edaphotopes located at a distance of 10–50 m relative to the storages of oil processing waste of the OR are impregnated with the same waste and are toxic. Their

aqueous extracts cause a medium and high level of phyto-, cyto- and genotoxic effects on the morphogenesis of the plant test object *A. cepa* depending on their location. Remote edaphotopes (up to 100–200 m) have lower phyto-, cyto- and genotoxic effects which are close to the levels of the spontaneous one.

## REFERENCES

1. Ball N., Madden J., Pains A. et al. Key read across framework components and biology based improvements // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2020. Vol. 853. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503172>.
2. Bodnar I., Gorbulska S., Bodnar L. Expediency of use vitamin chemioprotectors for correction of chromosome aberration induced by food synthetic flavors “Caramel” // *Visnyk of the Lviv University. Series Biology.* 2017. Iss. 76. P. 54–60 [in Ukrainian].
3. Citterio S., Aina R., Labra M. Soil Genotoxicity Assessment: A New Strategy based on Biomolecular Tools and Plant Bioindicators // *Environ. Sci. Technol.* 2002. Vol. 36. Iss. 12. P. 2748–2753. <https://doi.org/10.1021/es0157550>.
4. Datta S., Singh J., Singh J. Assessment of genotoxic effects of pesticide and vermicompost treated soil with *Allium cepa* test // *Sustain. Environ. Res.* 2018. Vol. 28. Iss. 4. P. 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.serj.2018.01.005>.
5. Farizan A., Norfatimah M. Y., Aili Z. N. et al. Use of cytological and molecular biological method for water pollution monitoring // *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* 2021. doi:10.1088/1755-1315/674/1/012108.
6. Fiskesjo G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring // *Hereditas.* 1985. Vol. 102. P. 99–112.
7. Haq I., Kalamdhad S. Phytotoxicity and cyto-genotoxicity evaluation of organic and inorganic pollutants containing petroleum refinery wastewater using plant bioassay // *Environ. Technol. Inno.* 2021. Vol. 23. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101651>.
8. Herrero O., Pérez J. M., Fernández M. P. et al. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2012. Vol. 743. Iss. 1–2. P. 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>.
9. Konotop Ye. O., Kovalenko M. S., Ulynets V. Z. et al. Phytotoxicity of colloidal solutions of metal-containing nanoparticles // *Cytol. Genet.* 2014. Vol. 48. P. 98–102. <https://doi.org/10.3103/S0095452714020054>.
10. Kwasniewska J., Nałęcz-Jawecki G., Skrzypczak A. et al. An assessment of the genotoxic effects of landfill leachates using bacterial and plant tests // *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 2012. Vol. 75. P. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.020>.
11. Leme D. N., Marin-Morales M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application // *Mutation Research.* 2009. Vol. 682. Iss. 1. P. 71–81.
12. Martins M., Ventura de Souza V., Souza T. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa* // *Chemosphere.* 2016. Vol. 148. P. 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.071>.
13. Pellegrini V., Gorbi G., Buschini A. Comet Assay on *Daphnia magna* in eco-genotoxicity testing // *Aquat. Toxicol.* 2014. Vol. 155. P. 261–268. doi: 10.1016/j.aquatox.2014.07.002.
14. Prokhorova I. M., Kovaleva M. I., Fomicheva A. N. Assessment of cytotoxic and mutagenic effects of environmental factors: guidelines. Yaroslavl: Yaroslavl State University, 2003. 32 p. [in Russian].
15. Prokhorova I. M., Kovaleva M. I. A system of tests for assessing the genotoxic activity of

- environmental factors. Yaroslavl: Yaroslavl State University, 2001. 23 p. [in Russian].
16. Radic S., Stipaničev D., Vujčić V. et al. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test // Sci. Total Environ. 2010. Vol. 408. Iss. 5. P. 1228–1233. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.055>.
  17. Rank J. The method of *Allium* anaphase telophase chromosome aberration assay // Ecologia (Vilnius). 2003. № 1. P. 38–42.
  18. Stapulionyte A., Kleizaite V., Šiukšta R. et al. Cyto/genotoxicological evaluation of hot spots of soil pollution using *Allium* bioassays in relation to geochemistry // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2019. Vol. 842. P. 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.01.001>.
  19. Steiblen G., van Benthem J., Johnson G. Strategies in genotoxicology: Acceptance of innovative scientific methods in a regulatory context and from an industrial perspective // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2020. Vol. 853. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503171>.
  20. Yadav A., Raj A., Purchase D. et al. Phytotoxicity, cytotoxicity and genotoxicity evaluation of organic and inorganic pollutants rich tannery wastewater from a Common Effluent Treatment Plant (CETP) in Unnao district, India using *Vigna radiata* and *Allium cepa* // Chemosphere. 2010. Vol. 224. P. 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.124>.

Стаття надійшла до редакції 22.04.21

доопрацьована 08.06.21

прийнята до друку 09.06.21

## ОЦІНКА ЕКОТОКСИЧНОГО СТАНУ ТЕХНОГЕННО-ЗМІНЕНИХ ЕДАФОТОПІВ ВІДХОДАМИ НАФТОПЕРЕРОБНОГО ЗАВОДУ МЕТОДОМ *ALLIUM*-ТЕСТУ

Г. Клепач<sup>1\*</sup>, Н. Голуб<sup>2</sup>, О. Лупак<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка  
вул. І. Франка, 24, Дрогобич 82100, Україна  
e-mail: pavlishko@yahoo.com

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: nataliia.holub@lnu.edu.ua

Досліджено екотоксичний стан техногенно-змінених едафотопів відходами нафтопереробного заводу методом *Allium*-тесту. Матеріалом для досліджень слугували зразки едафотопів, відібрані на глибині 15–20 см зі семи дослідних ділянок, розміщених на відстані 10–200 м від поверхневих сховищ відходів нафтопереробного заводу. У *Allium*-тесті виявлено, що зразки едафотопів ділянок, локалізованих на відстанях 10–50 м від сховищ відходів нафтопереробного заводу, є токсичними. Зокрема, їхні водні витяжки спричиняли фіто-, цито- і генотоксичну дію середнього й високого рівнів стосовно ростової та проліферативної активності корінців цибулин *Allium cepa* сорту Stuttgarter Riesen. У ростовому *Allium*-тесті зазначені витяжки едафотопів спричиняли потемніння корінців і почорніння їхніх кінчиків (на противагу світлим корінцям зі світлими кінчиками у контролі). До того ж їхня ростова активність на водних витяжках едафотопів була знижена в 1,71–3,5 рази залежно від їхньої локації та віддаленості від поверхневого сховища відходів нафтопереробного заводу. Фітотоксичність водних витяжок досліджених едафотопів стосовно *A. cepa* є вище

середнього і високого рівнів, а толерантність корінців тест-об'єкта до них знижується до 29–52 % порівняно з контролем. Мітотична активність апікальної меристеми корінців цибулин *A. sera* також знижується. Зокрема, їхні мітотичні індекси спадають до 51,05–63,57 % (за норми 82,34 %), а індекси цитотоксичності зростають до 22,8–48,0 %, що свідчить про середній рівень цитотоксичності досліджених едафотопів на проліферативну активність тест-об'єкта. За допомогою анателофазного методу і мікроядерного тесту показано, що частота хромосомних аберацій і поява мікроядер у клітинах апікальної меристеми корінців *A. sera* є вищою у 3,34–5,20 разу порівняно з контролем, а це вказує на середній і високий рівні генотоксичності досліджених едафотопів. Едафотопи, розташовані на відстані 100–200 м від поверхневих сховищ відходів нафтопереробного заводу, мають слабку фіто-, цито- і генотоксичну дію, яка є близькою до фонового рівня.

*Ключові слова:* відходи нафтопереробного заводу, едафотопи, Allium-тест, екотоксичність

## ФОРМУВАННЯ ФАУНИ БЕЗХРЕБЕТНИХ ГІДРОБІОНТІВ У ВОДОЙМІ ДОМБРОВСЬКОГО КАР'ЄРУ В ПЕРІОД 2014-2018 РОКІВ

Т. Микітчак<sup>1</sup>, В. Козловський<sup>1</sup>, О. Мателешко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна  
e-mail: tarasmkyitchak@yahoo.com, vkozlovskyy@gmail.com

<sup>2</sup>Ужгородський національний університет  
пл. Народна, 3, Ужгород 88000, Україна  
e-mail: alexander.mateleshko@uzhnu.edu.ua

Досліджено угруповання безхребетних гідробіонтів водойми Домбровського кар'єру в період 2014–2018 рр. Відзначено 25 видів. У планктоні єдиним постійним компонентом є коловертка *Brachionus plicatilis* Müller, 1786, у бентосі та нейстоні – клопи *Sigara lateralis* (Leach, 1817), жуки *Hydrobius fuscipes* (Linnaeus, 1758), двокрилі *Aedes* sp., *Ochlerotatus lepidonotus* (Edwards, 1920), *Culicoides salinarius* Kieffer, 1914, *Ephydra glauca* Meigen, 1830. Основне різноманіття безхребетних сконцентроване у літоральній зоні на глибинах до 2 м. Перш за все, це пов'язано з опрісненням цих ділянок поверхневим стоком опадів. За останнє десятиріччя мінералізація поверхневого шару зменшилася від 120–138 до 25–28 г/л. З опрісненням води відзначено збільшення видового різноманіття безхребетних гідробіонтів у весняні періоди від 7 до 17 таксонів. Зростає роль в угрупованнях прісноводних таксонів, які толерантні до солоності нижче 5 г/л: від 0–10 % видового різноманіття у 2014–2015 рр. до 22–35 % у 2018 р. Із них у 2018 р. уперше відзначено *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851), *Candona* sp., *Cypris pubera* O. F. Müller, 1776, *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1760), *Libellula depressa* Linnaeus, 1758, *Sympsecta fusca* Vander Linden, 1820, *Paracorixa concinna* (Fieber, 1848). У 2018 р. мілководдя водойми заселили прісноводні таксони, які не є толерантними навіть до низької солоності (7–25 % видового різноманіття) – *Hydrometra stagnorum* (Linnaeus, 1758), *Rhyacophila tristis* Pictet, 1834, *Coelambus impressopunctatus* (Schaller, 1783), *Enochrus coarctatus* (Gredler, 1863), *Hydrophilus caraboides* (Linnaeus, 1758). Натомість кількість солоноводних видів зменшується від 20–29 % (2014–2015 рр.) до 5–14 % (2018 р.). Солоноводне угруповання безхребетних водойми з часом набуває рис солонувато-прісноводного. З прісноводних калюж водозбірних басейну водойми 83 % таксонів відзначено у Домбровській водоймі. Заселення видів з обвідних каналів у водойму кар'єру є малоімовірним, оскільки лише 5 % таксонів звідти відзначено у ній. Очевидно, що основним шляхом формування угруповань безхребетних гідробіонтів цієї водойми є періодичне затоплення прісноводних узбережних калюж.

*Ключові слова:* угруповання безхребетних гідробіонтів, Домбровський кар'єр

Унаслідок діяльності підприємств гірничодобувної промисловості з'являється велика кількість штучних водойм. Деякі з них мають специфічні гідрохімічні, гідрологічні, біотопічні особливості. Прикладом створення такої штучної водойми є затоплення Домбровського кар'єру. Метою роботи було дослідити формування нового для цієї території солоноводного угруповання гідробіонтів у цій водоймі.

### Матеріали та методи

Упродовж 1967–2005 рр. на північних околицях м. Калуш Івано-Франківської обл. діяв Домбровський кар'єр калійної руди. У результаті видобутку утворився котлован площею 64 га та максимальною глибиною 140 м. Із 2008 р. почалося його неконтрольоване затоплення. Прогнозам екологічних ризиків, зумовлених цим затопленням, присвячено чимало наукових праць на гідрогеологічну тематику. Думки науковців щодо екологічної безпеки подальшого формування водойми розділились. В.В. Долін зі співавторами [5] стверджували, що подальше затоплення може призвести до прориву рідких стоків сусіднього хвостосховища у кар'єр, до аварійного прориву стоку р. Сивка у кар'єр із його прискореним затопленням, до формування техногенного стоку високомінералізованих вод у басейні рік Сивка-Лімниця-Дністер. На нашу думку, ймовірнішим є інший прогноз екологічної ситуації – за досягнення максимальної відмітки у 295 м н. р. м. рівень води у водоймі залишиться нижчим від рівня води в руслі р. Сивка, і ґрунтові води будуть продовжувати рухатись у напрямку озера, тобто загрози проникнення більш мінералізованих вод у ґрунтові води та басейн Дністра немає [2]. Станом на 2021 р. рівень води в кар'єрі становить  $\approx 285$  м н. р. м., що на 10 м нижче за прогнозований максимум.

Гідрохімічний склад води та процеси формування геоморфологічних обрисів водойми нерозривно пов'язані. Наслідком зсувних процесів є не лише виположення та стабілізація берегової лінії, а й стабілізація хімічного складу води у водоймі. Так, біля дна розчинення солей відбуватиметься до повного насичення водного розчину. Одночасно зі стабілізацією берегової лінії припиниться ріст мінералізації верхніх шарів води за рахунок розчинення солевмісних порід стінок кар'єру і перекриття їх зсувами вільних від солей четвертинних відкладів. На сучасному етапі формування водойми початково стрімкі схили кар'єру з крутизою до  $65^\circ$  на багатьох ділянках вже не перевищують  $25^\circ$  – утворюється важлива для функціонування озерної екосистеми літоральна зона. Перемішування більш мінералізованих нижніх шарів із верхніми неможливе через значну різницю в їхній густині. Тому з часом Домбровський кар'єр перетвориться на мероміктичне «озеро» з потужним ( $\approx 17$  м) маломінералізованим верхнім шаром води [23].

За нашими власними даними, мінералізація поверхневого шару води (0–5 м) у водоймі в 2014 р. сягала в середньому 86 г/л, у 2015 р. – 58 г/л, у 2018 р. – 28 г/л. За останнє десятиріччя мінералізація поверхневого шару зменшилася від 138 г/л (2011 р.) до 25–28 г/л (2020 р.).

Згідно зі супутниковими знімками програми Google Earth, максимальна довжина водойми сягає 1800 м, ширина – до 780 м.

У першій згадці про гідрофауну Домбровського кар'єру [30] автори констатують наявність 14 видів коловерток, 4 види гіллястовусих і 1 вид веслоногих ракоподібних (червень 2015 р.). У наступній публікації [31] зазначено, що у пробах за червень і листопад 2015 р. із безхребетних гідробіонтів у живому стані авторами відзначено лише коловертку *Brachionus plicatilis*, а знайдено мертвими 19 видів коловерток, гіллястовусих і веслоногих ракоподібних. У такому разі незрозуміло, навіщо автори подають чисельність мертвих особин цих таксонів на глибинах від 0 до 83 м. Під час власних досліджень у 2014–2015 рр. [9] частину цих видів відзначено в обвідних каналах кар'єру та в калюжах його водозбірної площі, проте жодної особини, живої чи мертвої, у водоймі Домбровського кар'єру не знайдено, за винятком *B. plicatilis*. У публікації 2021 р. [25] автори вказують наявність у водоймі *Chironomus salinarius* та *Cricotopus* (C.) cfr. *salinophilus* (червень 2019 р.), а також крупніші таксони черв'як, клопів, жуків і двокрилих.



Гідроекологічні проби із водойми Домбровського кар'єру зібрано 02.04.2014, 19.03.2015, 17.04.2018 і 03.09.2018. Різниця в часі весняних відборів проб зумовлена метеорологічними умовами настання весни. Оскільки навесні відбувається розвиток більшості груп амфібіонтних організмів, насамперед двокрилих комах, то цей період обрано основним для досліджень. Відбір проб здійснювали загальноприйнятими в гідроекології методами [8, 9]. Для планктонних проб фільтрували 20–100 л води (залежно від глибини відбору), для бентосних – перемивали дно на площі 1 м<sup>2</sup>. Гідробіонтів відловлювали також і за допомогою ручного збору. Фіксували зібраний матеріал етанолом із досягненням 30 % його концентрації у пробах. Відбирали по 6–10 проб бентосу і планктону з постійних стацій відбору в літоральній зоні та 2–3 проби в центрі плеса за градієнтом глибин 0–3 м і більше (рис. 1). Ідентифікацію таксонів проводили за низкою праць [3, 4, 7, 8, 12, 13, 24]. Чисельність планктонних організмів вказана в тис.ос./м<sup>3</sup>, бентосних і нейстонних – в ос./м<sup>2</sup>. Кількісні показники вказано для всіх особин виду без розподілу на дорослі особини, лялечки або личинки. Під час кожного відбору проб досліджували калюжі й тимчасові струмки водозбірної площі, а в 2014 р. – також обвідні канали кар'єру (рис. 1). Оскільки берегова лінія у різні періоди відбору проб істотно змінювалася, стації відбору вибирали згідно з градієнтом глибин.



Рис. 1. Картосхема відбору гідроекологічних проб у водоймі Домбровського кар'єру. Умовні позначення: кола – постійні стації відбору, квадрати – періодичні стації відбору

Мінералізація у літоральній зоні істотно залежить від інтенсивності вітрового перемішування. Прибережну зону періодично “накриває” хвиля більш мінералізованих вод із центральних частин плеса. Після дощу літоральна маломінералізована зона відновлюється і зберігається до наступного шторму. Такий цикл постійно повторюється, тому чисельність гідробіонтів у літоральній зоні є мінливою як щодо різних стацій, так і щодо короточасних періодів, проте кількісний склад вказує на роль різних таксонів у структурі угруповання. За довжини озера майже 2 км і максимальної швидкості вітру до 20 м/с висота хвилі сягає 0,6 м. За таких умов відбувається перемішування до глибини не більше 1 м, що не сягає глибин концентрації розсолу [1, 6].

### Результати і їхнє обговорення

У водоймі відзначено 25 таксонів безхребетних гідробіонтів (див. таблицю).

У пробах 02.04.2014 найбільш численними безхребетними бентосу були личинки берегової мухи *Ephydra glauca* (до 185 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 0,5 м). На мілководді спостерігали значні скупчення дорослих мух (до 210 ос./м<sup>2</sup>). Із двокрилих відзначено також личинок справжніх комарів *Aedes* sp., *Ochlerotatus lepidonotus* і мокреців *Culicoides salinarius*. Чисельність цих таксонів коливалась у межах 18–315 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1,5 м. З інших безхребетних відзначено *Sigara lateralis* з максимумом чисельності до 3 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 0,5 м та *Hydrobius fuscipes* – до 2 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1,5 м. У планктоні узбережжя й центру плеса відзначено лише коловертку *Brachionus plicatilis* чисельністю до 0,2 тис.ос./м<sup>3</sup>.

У пробах 19.03.2015 в літоралі чисельність личинок *E. glauca* була значно меншою (до 21 ос./м<sup>2</sup>). З інших двокрилих відзначено *Aedes* sp. (до 151 ос./м<sup>2</sup>), *O. lepidonotus* (до 61 ос./м<sup>2</sup>), *C. salinarius* (до 232 ос./м<sup>2</sup>), *Cricotopus* sp. (до 11 ос./м<sup>2</sup>), *Chironomus* sp. (до 23 ос./м<sup>2</sup>). Поодинокі личинки *Aedes* sp. траплялись і в центрі плеса. У літоралі також траплялися кліщі-орібатида (поодинокі особини), клопи *S. lateralis* чисельністю 1–7 ос./м<sup>2</sup>, поодинокі особини жуків *H. fuscipes* й *Coelambus impressopunctatus*. У планктоні відзначено *B. plicatilis* (до 0,1 тис.ос./м<sup>3</sup>).

У пробах 17.04.2018 в літоралі до 0,3 м траплялися поодинокі особини кліщів роду *Arrenurus* sp. і родини Oribatida. Клопи представлені *Paracorixa concinna* з чисельністю до 2 ос./м<sup>2</sup> на глибині до 0,3 м та *S. lateralis* – до 13 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1,5 м. Із жуків відзначено *H. fuscipes* чисельністю до 6 ос./м<sup>2</sup>, *C. impressopunctatus* і *Enochrus coarctatus* – до 2 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1 м. Чисельність личинок *E. glauca* сягала до 17 ос./м<sup>2</sup>, скупчення дорослих мух на поверхні води – до 160 ос./м<sup>2</sup>. З інших двокрилих траплялися *Aedes* sp. – до 183 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1 м, *O. lepidonotus* – до 457 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 0,5 м, *Cricotopus* sp. – до 12 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1,5 м, *Chironomus* sp. – до 48 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1,5 м, *C. salinarius* – до 48 ос./м<sup>2</sup> на глибинах до 1,5 м. У планктоні в центрі плеса відзначено поодинокі особини нематод. *B. plicatilis* траплявся у прибережній зоні – 89,2 тис.ос./м<sup>3</sup>, у центрі плеса – до 2,4 тис.ос./м<sup>3</sup> (до 2 м глибини). У літоралі (до 0,3 м) зареєстровано веслоногих ракоподібних *Eucyclops serrulatus* і черепашкових ракоподібних *Candona* sp. чисельністю до 0,1 тис.ос./м<sup>3</sup>.

У пробах 03.09.2018 із кліщів поодинокі траплялися орібатида. У затоці глибиною до 1 м відзначено кілька личинок бабок *Libellula depressa*, *Sympecta fusca* (до 5 ос./м<sup>2</sup>) та окремі особини волохокрильця *Rhyacophila tristis*. У складі епінейстону тут траплялися водомірки *Hydrometra stagnorum* – до 7 ос./м<sup>2</sup>. На різних стаціях прибережжя відзначено клопів *P. concinna* чисельністю до 11 ос./м<sup>2</sup> та *S. lateralis* – до 3 ос./м<sup>2</sup>. Жуки *H. fuscipes*, *C. impressopunctatus*, *E. coarctatus* заселяли літораль з чисельністю до 2–5 ос./м<sup>2</sup>, відзначено кілька особин *Hydrophilus caraboides*. Із двокрилих траплявся *Chironomus salinarius*

чисельністю до 201 ос./м<sup>2</sup>, *C. salinarius* – до 88 ос./м<sup>2</sup>. Відзначено велику кількість екзувіїв *Aedes* sp. і *O. lepidonotus*, також на воді траплялися дорослі мухи *E. glauca* (до 120 ос./м<sup>2</sup>). На глибині до 0,3 м біля берега відзначено по кілька личинок одноденки *Cloeon dipterum* і коловодницевих мух *Stratiomys singularior*. *B. plicatilis* траплявся у прибережній зоні на глибині до 2 м (до 22,3 тис.ос./м<sup>3</sup>) і в центрі плеса на глибині до 1,5 м (до 0,4 тис.ос./м<sup>3</sup>). У літоралі до 0,3 м глибиною відзначено *Cypris pubera* (до 0,6 тис.ос./м<sup>3</sup>), *Candona* sp. та *E. serrulatus* (до 0,1 тис.ос./м<sup>3</sup>). У тимчасовому струмку глибиною до 0,1 м, що впадав у водойму, *C. pubera* відзначено чисельністю до 31,8 тис.ос./м<sup>3</sup>. Також тут у воді й на вологому камінні обабіч відзначено кілька личинок *S. singularior*.

Різноманіття безхребетних гідробіонтів  
у водоймі Домбровського кар'єру (2014–2018 роки)

Таксон	Дата відбору проб				Група толерантності до солоності*
	02.04. 2014	19.03. 2015	17.04. 2018	03.09. 2018	
<b>Клас нематоди аденофори (Adenophorea)</b>					
1. Nematoda gen. sp.	-	-	+	+	Не визн.
<b>Клас коловертки (Eurotatoria)</b>					
2. <i>Brachionus plicatilis</i> Müller, 1786	+	+	+	+	V
<b>Підклас веслоногі ракоподібні (Copepoda)</b>					
3. <i>Eucyclops serrulatus</i> (Fischer, 1851)	-	-	+	+	II
<b>Клас черепашкові ракоподібні (Ostracoda)</b>					
4. <i>Candona</i> sp.	-	-	+	+	II
5. <i>Cypris pubera</i> O. F. Müller, 1776	-	-	-	+	II
<b>Клас павукоподібні (Arachnida)</b>					
6. <i>Arrenurus</i> sp.	-	-	+	-	Не визн.
7. Oribatida gen sp.	-	+	+	+	Не визн.
<b>Клас комахи (Insecta)</b>					
<b>Ряд одноденки (Ephemeroptera)</b>					
8. <i>Cloeon dipterum</i> (Linnaeus, 1760)	-	-	-	+	II
<b>Ряд бажки (HziOdonata)</b>					
9. <i>Libellula depressa</i> Linnaeus, 1758	-	-	-	+	II
10. <i>Symptecta fusca</i> Vander Linden, 1820	-	-	-	+	II
<b>Ряд клопи (Heteroptera)</b>					
11. <i>Hydrometra stagnorum</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	+	I
12. <i>Paracorixa concinna</i> (Fieber, 1848)	-	-	+	+	II
13. <i>Sigara lateralis</i> (Leach, 1817)	+	+	+	+	III
<b>Ряд волохокрильці (Trichoptera)</b>					
14. <i>Rhyacophila tristis</i> Pictet, 1834	-	-	-	+	I
<b>Ряд жуки (Coleoptera)</b>					
15. <i>Coelambus impressopunctatus</i> (Schaller, 1783)	-	+	+	+	I
16. <i>Enochrus coarctatus</i> (Gredler, 1863)	-	-	+	+	I
17. <i>Hydrobius fuscipes</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+	III
18. <i>Hydrophilus caraboides</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	+	I
<b>Ряд двокрилі (Diptera)</b>					
19. <i>Aedes</i> sp.	+	+	+	+	III
20. <i>Chironomus salinarius</i> Kieffer, 1915	-	+	+	+	IV
21. <i>Cricotopus</i> sp.	-	+	+	-	IV
22. <i>Culicoides salinarius</i> Kieffer, 1914	+	+	+	+	IV
23. <i>Ephydra glauca</i> Meigen, 1830	+	+	+	-	V
24. <i>Ochlerotatus lepidonotus</i> (Edwards, 1920)	+	+	+	+	III
25. <i>Stratiomys singularior</i> (Harris, 1776)	-	-	-	+	III
Загальна кількість таксонів:	7	11	17	22	

\* – нумерація груп толерантності до солоності згідно з текстом

У скупченнях затоплених рослинних решток на поверхні води за весь період досліджень часто траплялися ногохвістки з родин Poduridae, Isotomidae, кліщі родини Halacaridae та павуки родини Linyphiidae. Ці таксони не залучали до гідробіонтів.

У наукових публікаціях знаходимо дані про максимальну солоність водних оселищ деяких перелічених вище видів: *B. plicatilis* – до 146 г/л [21], *E. serrulatus* – до 55 [16], *C. pubera* – до 3 [20], *C. dipterum* – до 5 [28], *L. depressa* – до 6 [15], *P. concinna* – до 26 [29], *S. lateralis* – до 50 [14], *H. stagnorum* – до 2 [18], *C. impressopunctatus* – здебільшого до 5 [27], *E. coarctatus* – здебільшого до 5 [26], *H. fuscipes* – до 26 [29], *Chironomus salinarius* – до 50 [14], *Culicoides salinarius* – до 60 [17], *E. glauca* – до 164 [22], *S. singularior* – до 280 г/л [19]. Солоність води у дослідженій водоймі не перевищує межі толерантності більшості знайдених у ній видів. Проте деякі таксони відзначені за солоності, яка перевищувала межі цього показника порівняно з відомими літературними даними. Так, особини *S. lateralis* були наявні за солоності води до 86 г/л (часто), *C. impressopunctatus* і *E. coarctatus* – до 30 г/л (спорадично), *H. fuscipes* – до 80 г/л (часто), *Chironomus salinarius*, *Culicoides salinarius* та *O. lepidonotus* – до 80 г/л (часто). За максимальних значень солоності до 142 г/л відзначено лише коловертку *B. plicatilis* (часто, самки з яйцями, ювенільні особини).

З-поміж різноманітних класифікацій толерантності таксонів безхребетних гідробіонтів до солоності води ми обрали класифікацію В. Wolf et al. [28], яка найбільш репрезентативно відтворює зміну фауни Домбровського кар'єру. За цією класифікацією, до I групи належать прісноводні таксони, які не є толерантними навіть до низької солоності; до II групи – прісноводні, толерантні до солоності нижче 5 г/л; до III групи – прісноводні, толерантні до солоності вище 10 г/л у короткий проміжок часу; до IV – солонуватоводні, толерантні до солоності 0,5–30 г/л; до V групи – солонуватоводні, толерантні до широкого спектру солоності (від прісної до «морської» води). По цих групах розподілено 22 таксони згідно з літературними та власними даними (див. таблицю).

Заселення водойми прісноводними видами корелює з поступовим опрісненням поверхневого шару, відповідно з роками значно збільшується і різноманіття безхребетних гідробіонтів (рис. 2, 3).

Основне різноманіття безхребетних зосереджене у літоральній зоні водойми на глибинах до 2 м (рис. 3–5). Це пов'язано як з опрісненням цих ділянок поверхневим стоком, так і з періодичним затопленням калюж із прісноводною фауною.

Під час дослідження гідрофауни калюж біля берегової лінії водойми відзначено 23 таксони безхребетних: *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766, *B. plicatilis*, *Keratella cochlearis* (Gosse, 1851), *E. serrulatus*, *Megacyclops viridis* (Jurine, 1820), *Candona* sp., *C. dipterum*, *L. depressa*, *S. fusca*, *H. stagnorum*, *P. concinna*, *S. lateralis*, Trichoptera gen. sp., *C. impressopunctatus*, *E. coarctatus*, *H. fuscipes*, *H. caraboides*, *Culex* sp., *Aedes* sp., *Chironomus salinarius*, *Cricotopus* sp., *Culicoides salinarius*, *O. lepidonotus*. Із них лише *B. calyciflorus*, *K. cochlearis*, *M. viridis* і рід *Culex* жодного разу не були відзначені у тілі водойми кар'єру. Ще чотири таксони заселяли тимчасові струмки: *E. serrulatus*, *C. pubera*, *Candona* sp. і *S. singularior*.

Гідрофауна обвідних каналів Домбровського кар'єру (до 60 видових таксонів) доволі багата й типова для ставків Західної України, особливо на ділянках каналів, зарослих водними та напівводними макрофітами. Основну увагу приділили визначенню видів планктону, з-поміж яких найчисленнішими були *B. calyciflorus*, *K. cochlearis*, *Asplanchna priodonta* Gosse, 1850, *Chydorus sphaericus* (O.F. Müller, 1776), *E. serrulatus*, *Paracyclops fimbriatus* (Fischer, 1853) й *Cyclops strenuus* Fischer, 1851.

Очевидно, що основним шляхом заселення водойми кар'єру безхребетними гідробионтами є затоплення прісноводних калюж. Таким чином відбувається поступова адаптація низки поколінь різних видів до розмноження й існування у більш солоних водах. Загалом 83 % таксонів із прісноводних калюж уже відзначено у Домбровській водоймі. Міграція видів з обвідних каналів у водойму кар'єру малоімовірна, оскільки в ній відзначено лише 5 % таксонів із каналів.

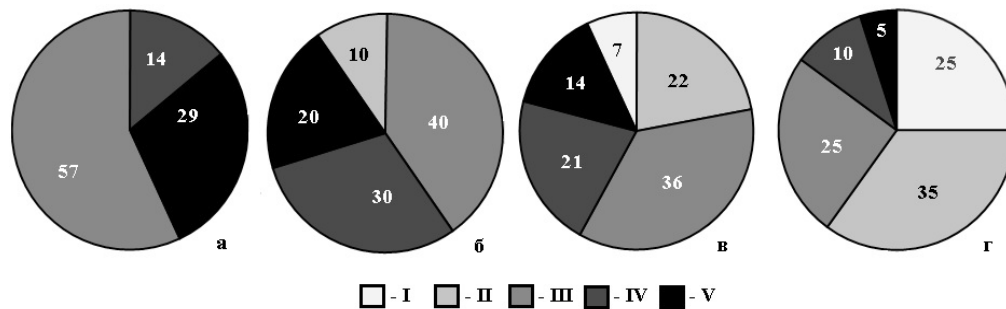


Рис. 2. Розподіл кількості таксонів водних безхребетних водойми Домбровського кар'єру (% видової різноманітності) за толерантністю до солоності води: а – 02.04.2014; б – 19.03.2015; в – 17.04.2018; г – 03.09.2018. I – прісноводні таксони, які не є толерантними навіть до низької солоності; II – прісноводні, толерантні до солоності нижче 5 г/л; III – прісноводні, толерантні до солоності вище 10 г/л у короткий проміжок часу; IV – солонуватоводні, толерантні до солоності 0,5-30 г/л; V – солонуватоводні, толерантні до широкого спектру солоності (від прісної до «морської» води)

04.2014 *Hydrobius fuscipes*  
*Sigara lateralis*, *Aedes sp.*, *Ochlerotatus lepidonotus*, *Ephydra glauca*  
*Culicoides salinarius*  
*Brachionus plicatilis*

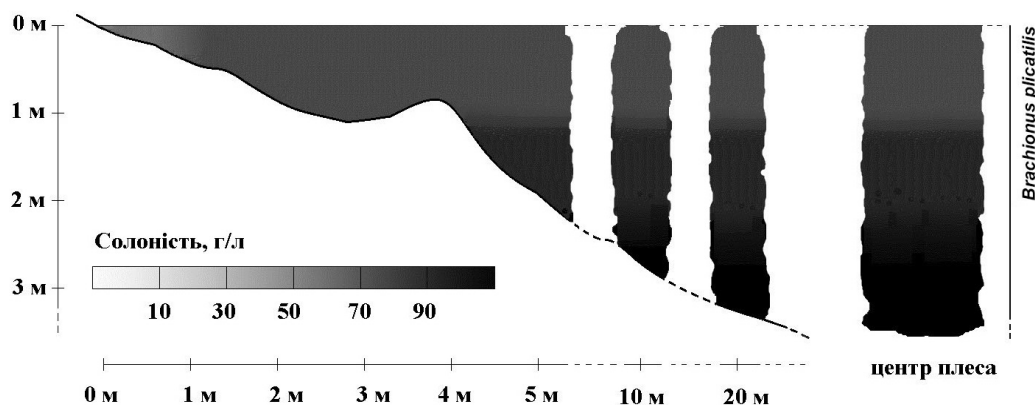


Рис. 3. Різноманіття таксонів водних безхребетних Домбровського кар'єру 02.04.2014. Лінії під назвами таксонів показують їхній горизонтальний і вертикальний розподіл

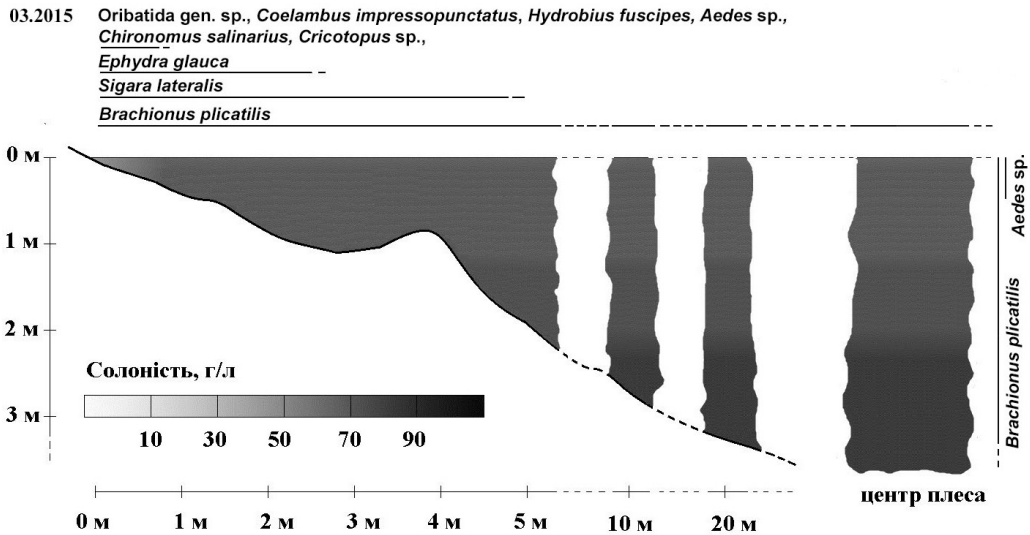


Рис. 4. Різноманіття таксонів водних безхребетних Домбровського кар'єру 19.03.2015

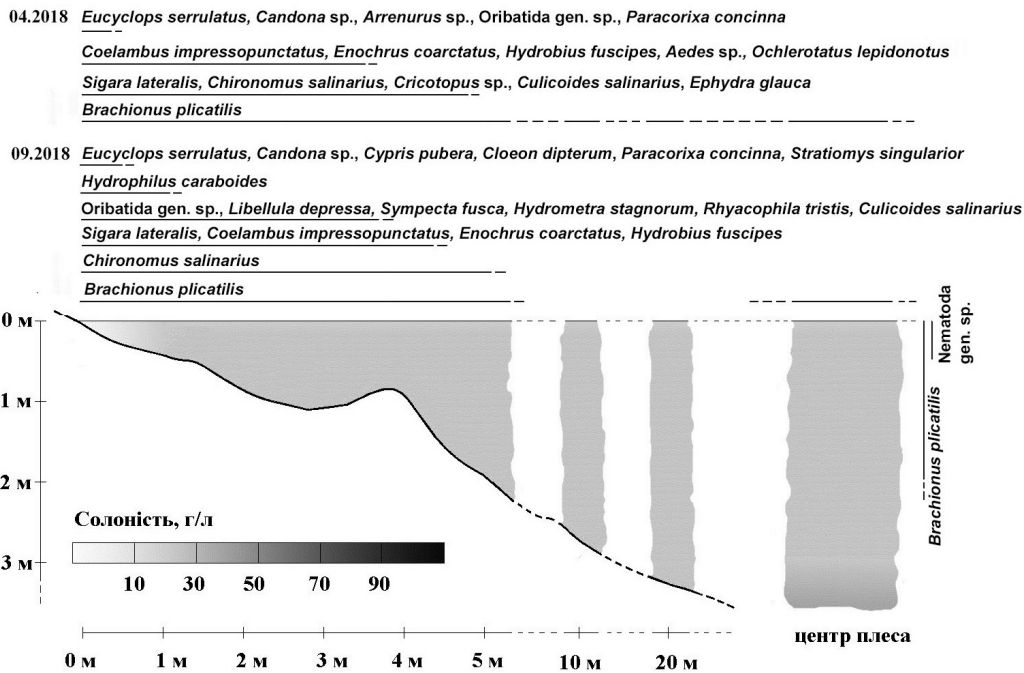


Рис. 5. Різноманіття таксонів водних безхребетних Домбровського кар'єру 17.04.2018 (а) та 03.09.2018 (б)

В угрупованні безхребетних гідробіонтів водойми Домбровського кар'єру за період 2014–2018 рр. відзначено 25 таксонів. У планктоні єдиним постійним компонентом є коловертка *Brachionus plicatilis* Müller, 1786, у бентосі та нейстоні – клопи *Sigara lateralis* (Leach, 1817), жуки *Hydrobius fuscipes* (Linnaeus, 1758), двокрилі *Aedes* sp., *Ochlerotatus lepidonotus* (Edwards, 1920), *Culicoides salinarius* Kieffer, 1914, *Ephydra glauca* Meigen,

1830. Основне різноманіття безхребетних сконцентроване у літоральній зоні на глибинах до 2 м. За останнє десятиріччя мінералізація поверхневого шару зменшилася від 120–138 до 25–28 г/л. З опрісненням води відзначено збільшення видового різноманіття безхребетних гідробіонтів у весняні періоди від 7 до 17 таксонів. У 2018 р. в угрупованнях водойми з'явилися прісноводні таксони, які не є толерантними навіть до низької солоності (7–25 % видового різноманіття). Зростає роль в угрупованнях прісноводних таксонів, які толерантні до солоності нижче 5 г/л, – 0–10 % видового різноманіття у 2014–2015 рр., 22–35 % у 2018 р. Натомість кількість солоноводних видів зменшується – від 20–29 % (2014–2015 рр.) до 5–14 % (2018 р.). Солоноводне угруповання безхребетних водойми з часом набуває рис солонувато-прісноводного. З прісноводних калюж водозбірного басейну водойми 83 % таксонів відзначено у Домбровській водоймі. Заселення видів з обвідних каналів у водойму кар'єру є малоймовірною, оскільки у ній відзначено звідти лише 5 % таксонів. Очевидно, що основним шляхом формування угруповань безхребетних гідробіонтів у водоймі кар'єру є періодичне затоплення прісноводних узбережних калюж.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонова Л. Н., Михайський Д. В., Канюк Г. І. та ін. Оцінка дії вітру на процес перемішування водних мас у водоймищі-охолоджувачі // *Восточно-Европейский журнал передовых технологий*. 2011. Т. 4. Вип. 8. С. 4–7.
2. Гайдін А. М. Озеро в Домбровському калійному кар'єрі // *Екологічна безпека та збалансоване ресурсокористування*. 2011. Т. 2. С. 55–62.
3. Гуцевич А. В. Кровососущие мокрецы (Ceratopogonidae). Л.: Наука, 1973. 269 с.
4. Гуцевич А. В., Мончадский А. С., Штакельберг А. А. Комары. Семейство Culicidae / Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Л.: Наука, 1970. Т. 3. Вып. 4. 384 с.
5. Долін В. В., Яковлев С. О., Кузьменко Е. Д., Бараненко Б. Т. Прогнозування екогідрогеохімічної ситуації при затопленні Домбровського кар'єру калійних руд // *Екологічна безпека та збалансоване ресурсовикористання*. 2010. Т. 1. Вип. 1. С. 74–87.
6. Дудко П. М. Подземное выщелачивание солей. М.: Недра, 1972, 160 с.
7. Кутикова Л. А. Коловратки фауны СССР. Л.: Наука, 1970. 744 с.
8. Мануйлова Е. Ф. Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР. М.; Л.: Наука, 1964. 328 с.
9. Микітчак Т. І. Фауна водойм Домбровського кар'єру в період затоплення // *Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій: матеріали наук. конф. (Шацьк, 2016)*. С. 67–71.
10. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зообентос и его продукция. Л.: ГосНИОРХ, ЗИН АН СССР, 1983. 51 с.
11. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция. Л.: ГосНИОРХ, ЗИН АН СССР, 1984. 33 с.
12. Монченко В. І. Щелепнороті циклопоподібні, циклопи (Cyclopidae). Фауна України. К.: Наук. думка, 1974. Т. 27. Вип. 3. 452 с.
13. Панкратова В. Я. Личинки и куколки комаров подсемейства Chironominae фауны СССР (Diptera, Chironomidae-Tendipedidae). Л.: Наука, 1983. 296 с.
14. Шайхутдинова А. А. Сезонная динамика макрозообентоса при градиенте минерализации в реке Тузлукколь // *Ученые записки Крымского федерального ун-та имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2019. Т. 5 (71). № 2. С. 184–194.

15. *Berezina N. A.* Tolerance of freshwater invertebrates to changes in water salinity // *Russian Journal of Ecology*. 2003. Vol. 34. N 4. P. 261–266.
16. *Brucet S., Boix D., Gascón S.* et al. Species richness of crustacean zooplankton and trophic structure of brackish lagoons in contrasting climate zones: north temperate Denmark and Mediterranean Catalonia (Spain) // *Ecography*. 2009. Vol. 32. P. 692–702.
17. *Drake P., Arias A. M.* Distribution and production of *Chironomus salinarius* (Diptera, Chironomidae) in a shallow coastal lagoon in the Bay of Cádiz // *Hydrobiologia*. 1995. Vol. 299. P. 195–206.
18. *Gallardo-Mayenco A.* Freshwater macroinvertebrate distribution in two basins with different salinity gradients (Guadalete and Guadaira river basins, southwestern Spain) // *Int. J. Salt Lake Res.* 1994. Vol. 3. N 1. P. 75–91.
19. *Garbuz D. G., Yushenova I. A., Zatsypina O. G.* et al. Organization and evolution of hsp70 clusters strikingly differ in two species of stratiomyidae (Diptera) inhabiting thermally contrasting environments // *BMC Evol. Biol.* 2011. Vol. 11. N 74. P. 17.
20. *Ghaouaci S., Mehmet Y., Küllköylüoğlu O., Amarouayache M.* An annotated checklist of the non-marine ostracods (Crustacea) of Algeria with some ecological notes // *Zootaxa*. 2017. Vol. 4290. N 1. P. 14–154.
21. *Hammer U. T.* Zooplankton distribution and abundance in saline lakes of Alberta and Saskatchewan, Canada // *Int. J. Salt Lake Res.* 1993. Vol. 2. N 2. P. 111–132.
22. *Hutchinson G. E.* Limnological studies in Indian Tibet // *Int. Rev. Hydrobiol.* 1937. Vol. 35. P. 134–177.
23. *Haydyn A., Dyakiv V., Romanyuk N., Kozlovskyy V.* Physicochemical and biological parameters of Dombrowske pit lake – legacy of opencast potassium salt mine (Kalush, Ukraine) // *Studia Biologica*. 2020. Vol. 14. N 2. P. 57–68.
24. *Krivoshchina M. G.* To the biology of flies of the genus *Ephydra* Fallén, 1810, with the descriptions of larvae of seven Palaearctic species (Diptera: Ephydriidae) // *Russian Entomological Journal*. 2003. Vol. 12. N 1. P. 79–86.
25. *Michailova P., Szarek-Gwiazda E., Kownacki A.* Physicochemical characteristics of the Dombrowska pit lake (Ukraine) formed in an opencast potassium salt mine and the genome response of *Chironomus salinarius* Kieffer (Chironomidae, Diptera) to these conditions // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021. Vol. 28. P. 446–458.
26. *Pallarés S., Arribas P., Bilton D. T.* et al. The chicken or the egg? Adaptation to desiccation and salinity tolerance in a lineage of water beetles. // *Mol. Ecol.* 2017. Vol. 26. N 20. P. 5614–5628.
27. *Villastrigo A., Fery H., Manuel M.* et al. Evolution of salinity tolerance in the diving beetle tribe Hygrotini (Coleoptera, Dytiscidae) // *Zoologica Scripta*. 2018. Vol. 47. N 1. P. 63–71.
28. *Wolf B., Kiel E., Hagge A.* et al. Using the salinity preferences of benthic macroinvertebrates to classify running waters in brackish marshes in Germany // *Ecol. Indic.* 2009. Vol. 9. N 5. P. 837–847.
29. *Zinchenko T. D., Golovatyuk L. V., Abrosimova E. V.* Non-biting midges (Diptera, Chironomidae) in the benthic communities of saline rivers in the Lake Elton Basin: diversity, salinity tolerance, and distribution // *Entomol. Rev.* 2019. Vol. 99. N 6. P. 820–835.
30. *Žurek R., Diakiv V., Gadzinowska J., Szarek-Gwiazda E.* Dombrowski pit lake – Ukrainian dead sea (?) // *Екологічна безпека як основа сталого розвитку суспільства. Європейський досвід і перспективи: матер. II Міжнар. наук.-практ. конф. (Львів, 2015)*. С. 200.
31. *Žurek R., Diakiv V., Szarek-Gwiazda E.* et al. Unique Pit Lake Created in an Opencast Potassium Salt Mine (Dombrowska Pit Lake in Kalush, Ukraine) // *Mine Water and the Environment*. 2018. Vol. 37. N 3. P. 456–469.



**INVERTEBRATE HYDROBIONT FAUNA TRANSFORMATION  
IN THE DOMBROVSKYI PIT LAKE DURING THE PERIOD OF 2014-2018****T. Mykitchak<sup>1</sup>, V. Kozlovskyy<sup>1</sup>, O. Mateleshko<sup>2</sup>**<sup>1</sup>*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine**e-mail: tarasmykitchak@yahoo.com, vkozlovskyy@gmail.com*<sup>2</sup>*Uzhhorod National University**3, Narodna Sq., Uzhhorod, Transcarpathian region 88000, Ukraine**e-mail: alexander.mateleshko@uzhnu.edu.ua*

The aquatic invertebrate community of Dombrovskiy pit lake was investigated during 2014–2018. 25 species were recorded there. The only permanent component of plankton in the community is rotifer *Brachionus plicatilis* Müller, 1786; of benthos and neuston is hemipteran *Sigara lateralis* (Leach, 1817), beetle *Hydrobius fuscipes* (Linnaeus, 1758), flies *Aedes* sp., *Ochlerotatus lepidonotus* (Edwards, 1920), *Culicoides salinarius* Kieffer, 1914, *Ephydra glauca* Meigen, 1830 are permanent components of benthos and neuston. The main diversity of invertebrates is concentrated in littoral zone up to 2 m of depth. This is primarily due to the desalination of these areas by surface runoff. Over the last decade the mineralization of the surface water layer has decreased from 120–138 to 25–28 g/l. Combined with the desalination of water, the increase of species diversity of aquatic invertebrates was noticed in spring seasons (from 7 to 17 taxa). The freshwater taxa, which are not tolerant even to low water salinity, appeared in the community in 2018 (7–25 % of the species diversity), among them *Hydrometra stagnorum* (Linnaeus, 1758), *Rhyacophila tristis* Pictet, 1834, *Coelambus impressopunctatus* (Schaller, 1783), *Enochrus coarctatus* (Gredler, 1863), *Hydrophilus caraboides* (Linnaeus, 1758). The role of freshwater taxa, which are tolerant to low water salinity (up to 5 g/l), increased from 0–10 % of the species diversity in 2014–2015 to 22–35 % in 2018. Among them *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851), *Candona* sp., *Cypris pubera* O. F. Müller, 1776, *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1760), *Libellula depressa* Linnaeus, 1758, *Sympsecta fusca* Vander Linden, 1820, *Paracorixa concinna* (Fieber, 1848) was noted in 2018 for the first time. On the contrary, the number of saltwater taxa decreased from 20–29 % (2014–2015) to 5–14 % (2018). The saltwater aquatic invertebrate community of this pit lake has transformed into brakish-freshwater one over time. 83 % taxa of aquatic invertebrate communities from freshwater puddles near reservoir coast are noted in the Dombrovska reservoir. The introduction of species from protective canals of the reservoir is unlikely, as only 5 % of taxa from there are marked in it. The main way of the forming communities of invertebrates in this reservoir is the periodical flooding of freshwater coastal puddles.

*Keywords:* invertebrate hydrobiont communities, Dombrovskiy pit lake

**THE EFFECTS OF AMMONIA AND GLUTAMINE  
ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION OF RAT PANCREATIC ACINAR CELLS**

**A. Zub, O.V. Manko, B.O. Manko**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: \*anastasiya.yakubovska@lnu.edu.ua (A. Zub)  
e-mail: alexis.manko@gmail.com (O.V. Manko)  
e-mail: bohdan.manko@lnu.edu.ua (B.O. Manko)*

During glutamine catabolism is produced ammonia, which can be toxic to cells. In hepatic encephalopathy neuron mitochondria ammonia causes the formation of free radicals, the opening of the mitochondrial permeability transition pore, oxidative phosphorylation disruption and swelling. It is still unknown whether the utilization of glutamine in the mitochondria of acinar cells of the pancreas produces toxic concentrations of ammonia. The experiments were performed on male Wistar rats weighing 250–300 g. Pancreatic acini were isolated using collagenase. Cells were incubated for 30 min with glucose (10 mM) in the control and additionally  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (5 mM) or glutamine (2 mM) in the experiment. Acetylcholine (10  $\mu\text{M}$ ) or cholecystokinin (0.1 nM) was used to stimulate secretion. Respiration rate of isolated rat pancreatic acini was measured using a Clark electrode. Maximum respiration rate was stimulated by addition to the FCCP. Statistical significance (P) of difference between the groups was determined with two-way repeated-measures ANOVA followed by a Holm-Bonferroni corrected post-hoc t tests. The secretagogues acetylcholine and cholecystokinin did not affect basal and FCCP-stimulated respiratory rate. The basal respiratory rate of pancreatic acinar cells decreased with  $\text{NH}_4\text{Cl}$  compared to the basal respiratory rate with glucose oxidation, and this decrease was observed both at normal condition and under the action of secretagogues. Glutamine did not affect basal respiratory rate. During glutamine oxidation, the maximum respiratory rate increased compared to the control, regardless of the effect of acetylcholine or cholecystokinin.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  reduced the maximum rate of FCCP-stimulated respiration in rest or upon stimulation with secretagogues compared to glucose control. Therefore,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  causes a negative effect mitochondrial respiration regardless of secretory stimulation with acetylcholine or cholecystokinin. The toxic amount of ammonia required for inhibition of mitochondrial respiration is apparently not formed due to glutamine oxidation even when stimulated by acinar cells by secretagogues.

*Keywords:* pancreatic acini, ammonia, glutamine, acetylcholine, cholecystokinin, respiration, mitochondria

**Introduction**

Central physiological roles of pancreatic acinar cells are synthesis, transport, storage and secretion of digestive enzymes. The energy required for these processes is generated in the mitochondria. Mitochondria transform chemical energy from substrate oxidation into an electrochemical proton gradient across their inner membrane ( $\Delta\Psi\text{m}$ ) [18]. Bile acids, ethanol and non-oxidative ethanol metabolites damage the exocrine pancreas via calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) toxicity and mitochondrial injury [21]. The abnormal  $\text{Ca}^{2+}$  signal promotes acinar cell necrosis by mitochondria depolarization and lowering ATP levels. Supraphysiologic concentrations of cholecystokinin

(CCK) and its analogues use in models of acute pancreatitis [17]. Experiments on isolated pancreatic mitochondria showed that  $\text{Ca}^{2+}$  directly depolarizes mitochondria by opening the mitochondrial permeability transition pore (MPTP). CCK-induced mitochondrial depolarization significantly reduces ATP levels in acinar cells and leads to necrosis [26].

A case of acute pancreatitis and hyperammonemia without liver damage in a patient with a deficiency of the urea cycle enzyme, ornithine carbamoyltransferase, has been described [20]. Ammonia causes the formation of free radicals, the disclosure of MPTP, oxidative phosphorylation and swelling of the neuron's mitochondria of hepatic encephalopathy patients [32]. Ammonia affects the basal and stimulated secretion of pancreatic acinar cells [13].

Glutamine plays a pleiotropic role in cellular functions. Glutamine as a "nitrogen shuttle" helps to protect the body against the toxic effects of high circulating levels of ammonia [11]. Glutamine is catabolized to glutamate and then to  $\alpha$ -ketoglutarate by deamination via glutaminase and glutamate dehydrogenase. Decrease of glutamine serum levels was shown in pancreatitis patients during the metabolic stress [3, 11]. Intravenous administration of glutamine increased the concentration and total amount of glutamate secreted by acinar cells of the pancreas into pancreatic juice. Simultaneously with these processes, a large amount of ammonia is produced, which can be toxic to cells [4].

Pancreas uses large amount of absorbed glutamine for the synthesis of digestive enzymes [28]. The effect of glutamine on the functioning of the pancreatic acinar cells are controversial. Tissue cultures have a high requirement for glutamine. In 1955 it was discovered that glutamine deficiency in the incubation medium leads to cell death [8]. There is a difference in the degree of CCK-induced necrosis of pancreatic acinar cells between studies that used [10, 31] or did not use glutamine in the incubation medium [7]. Also, it has been reported that early administration of alanyl-glutamine dipeptide supplements (20 g per day or 0.40 g/kg per day) reduced morbidity and mortality in patients with severe acute pancreatitis [9, 33]. But in contrast, another study did not show a significant effect of enteral glutamine supplements (0.57 g/kg per day) on the development of infected necrosis and in-hospital mortality in patients with severe acute pancreatitis [5].

It is still unknown whether the utilization of glutamine in the mitochondria of pancreatic acinar cells can form toxic concentrations of ammonia and as this process depends on  $[\text{Ca}^{2+}]$ . The aim of our study was to determine how the oxidative capacity of mitochondria changes under the influence of ammonia and oxidation of glutamine under normal conditions and by stimulating the secretion of acinar cells in the pancreas of rats.

### Materials and Methods

Experiments were carried out on 5 male Wistar rats weighing 250–300 g. The animals were kept at a constant room temperature with a 12-hour light cycle, with free access to water and standard food (D-Mix, Ukraine).

Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes' (Council of Europe No 123, Strasbourg 1985). Experimental protocols were approved by the Animal Care and Use Committee of Ivan Franko National University of Lviv.

Suspension of isolated acinar pancreatic cells was obtained using collagenase (type IV, 0.2 mg/ml), as previously reported [2]. The cells were calculated using a hemocytometer. Cell viability after isolation was > 93 %, as assessed by trypan blue test. All chemicals were purchased from Sigma-Aldrich unless otherwise noted.

The basic extracellular solution contained (mM): NaCl – 140.0, KCl – 4.7,  $\text{CaCl}_2$  – 1.3,  $\text{MgCl}_2$  – 1.0, HEPES – 10.0, glutamine – 2.0, sodium pyruvate – 2.0, glucose – 10.0; BSA – 2.5 mg/ml, soybean trypsin inhibitor – 0,1 mg/ml and the addition of basic amino acids MEM;

pH 7.4. The cells incubation medium for the respiration study contained (mM): NaCl – 140.0, KCl – 4.7, CaCl<sub>2</sub> – 1.3, MgCl<sub>2</sub> – 1.0, HEPES – 10.0, glucose – 10.0; BSA – 2.5 mg/ml, soybean trypsin inhibitor – 0.1 mg/ml, and additionally glutamine – 2.0 or NH<sub>4</sub>Cl – 5.0 (mM) in some experiments.

The rate of oxygen consumption was measured using a Clark oxygen electrode (biological oxygen monitor YSI 5300, USA) in a closed glass respiration chamber (volume of 1.6 ml at 37 °C). Before measuring respiration rate the suspension of isolated pancreatic acinar cells were preincubated for 30 minutes at 37 °C in the medium only with glucose, glutamine and glucose or NH<sub>4</sub>Cl and glucose or additionally with secretagogues. Protonophore FCCP in increasing concentrations (0.5–2.0 μM) was added to the cell suspension directly into the polarographic chamber, to achieve the maximum frequency of uncontrolled respiration, as described previously [22]. Respiration rate was first normalized by cell number and scaled relative to the mean basal respiration rate in the control.

Results are presented as means ± SEM. Statistical analysis was performed using Origin Pro 2018. Significance of difference between the groups was determined with two-way repeated-measures ANOVA followed by a Holm-Bonferroni corrected post-hoc t tests in case of significant interaction between the factors. P<0.05 values were considered statistically significant.

### Results and Discussion

It is known that high viability pancreatic acinar cells respond to the stimulation of secretagogues by increasing respiratory rate [23]. To test the functional ability of cells to respond to stimulation by secretagogues, acetylcholine (ACh) (10 μM) was injected into the polarographic chamber. Basal respiration rate was assessed for 4 minutes. Adding ACh to the polarographic chamber intensified pancreatic acinar cells respiration rate during 1 min after administration ACh, by ~ 16 %, compared with basal respiration rate.

The next step was to evaluate the effects of ammonia and glutamine on mitochondrial respiration. In the control, the acinar cells of the pancreas were incubated in the basic extracellular medium with glucose (10 mM). In the experiments, NH<sub>4</sub>Cl (5 mM) or glutamine (2 mM) was added to the incubation medium with glucose. ACh (10 μM) or CCK (0.1 nM) was added to the solution for secretion stimulation. The cells were incubated for 30 min at 37 °C. After that, the basal respiration rate was registered. Maximal respiration rate was stimulated by adding to the cell FCCP at a concentration of 0.5; 1; 1.5; 2.0 μM.

ACh and CCK did not affect basal and FCCP-stimulated respiratory rate (Fig. A). It is likely that the incubation time was too long for the stimulating effect of secretagogues to persist. The peak of secretion by acinar cells of the pancreas occurs in the first 5 min at optimal (average) concentrations of secretagogues [27]. There is evidence that ACh and CCK intensified maximal respiration rate during 15 min of incubation, but pyruvate was necessarily present in the medium [1].

The basal respiration rate of acinar cells under the influence of NH<sub>4</sub>Cl decreased by 13.1–20.2 % (p<0.05) compared with the respiration rate for glucose oxidation, and this decrease was observed both at normal condition or under the action of secretagogues. Glutamine did not affect basal respiratory rate (Fig. A).

During glutamine oxidation, the maximum respiratory rate increased by 7.6–40.4 % (p<0.05) compared to the control, regardless of the effect of ACh or CCK, which is similar to the results of our previous studies [22]. NH<sub>4</sub>Cl reduced the maximum rate of FCCP-stimulated respiration under the influence of control, with the addition of ACh or CCK by 24.8–31.0 % (p<0.05) compared with the control of glucose oxidation (Fig. B).

Mechanism of ammonia toxicity largely studied on brain tissues, because hyperammonemia is directly linked to a spectrum of neuropathology conditions. Hyperammonemia inhibits the

activity of mitochondrial dehydrogenases, which causes the collapse of the membrane potential of mitochondria and increase of ROS levels in isolated mitochondria of the liver and brain [25, 30]. Ammonia in pathological concentration (2 mM) is a potent inhibitor of the mitochondrial complex of brain  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase. At toxic concentrations (10–20 mM), ammonia inhibits cerebral mitochondrial NAD (+) – and NADP (+) – bound isocitrate dehydrogenase and NAD (+) – bound malate dehydrogenase and hepatic mitochondrial NAD (+) – bound isocitrate dehydrogenase [16]. Under the influence of ammonia was shown decrease in the level of intermediate products of the cycle citric acid cycle (CAC), citrate,  $\alpha$ -ketoglutarate and malate, in the mitochondria of the liver [32]. Instead, low concentrations of ammonium chloride ( $> 1$  mM) stimulate the production of glucose from glutamine in mitochondria or isolated cells of the liver [15]. Ammonia also induces morphological abnormalities of mitochondria, the opening of MPTP, leading to mitochondrial swelling and cell death by apoptosis or necrosis [32].

Hyperammonemia is usually defined as plasma ammonia levels above 80  $\mu$ M in newborns and above 45  $\mu$ M in adults [19, 29]. In experiments with isolated mitochondria of the brain and liver, ammonia was used in pathologically significant concentrations of 5–10 mM [25]. In our study, we studied the effect of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  at a concentration of 5 mM. Ammonia homeostasis is a multi-organ process involving the liver, brain, kidneys and muscles, as well as the gastrointestinal tract. Under normal conditions, ammonia from the gut is efficiently processed by the liver through two main metabolic pathways: the urea cycle (also known as the ornithine cycle) and glutamine synthetase, which converts glutamate to glutamine [30]. Hyperammonemia mainly occurs in hepatic encephalopathy and genetic defects of the urea cycle or other pathways of intermediate metabolism [6]. The effectiveness of the mechanisms of “detoxification” of ammonia is impaired in hepatocellular dysfunction in cirrhosis. Even in healthy patients, a sharp increase in ammonia concentration is mostly due to renal processes. Violations of potassium and acid homeostasis, lead to overproduction of ammonia by the kidneys. To support potassium balance, renal glutaminase generates an ammonium ion from glutamine that donates a proton to be exchanged across the membrane for the potassium ion. The end result is recovered potassium, acidified urine, and ammonia, a by-product that diffuses into the serum [30]. In patients with liver cirrhosis ammonia affects the endocrine pancreas causing an imbalance of insulin and glucagon, and as a consequence, amino acids in the plasma [24]. Hyperammonemia was associated with infected necrotic acute pancreatitis in patient with late-onset ornithine carbamoyltransferase deficiency [20].

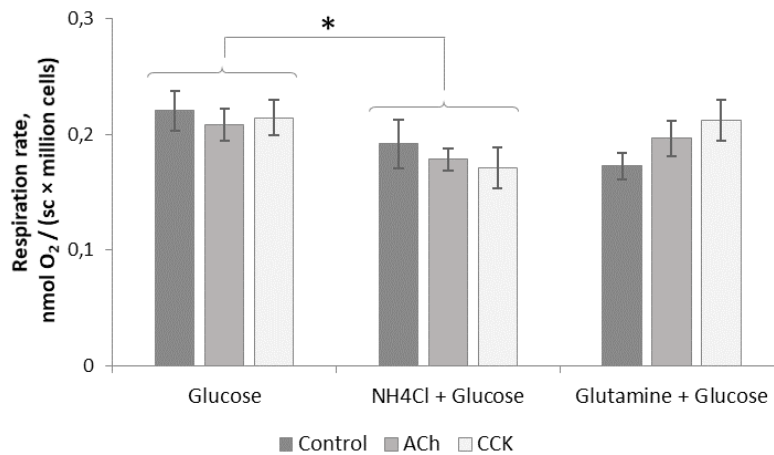
Our results confirmed that ammonia in pathological concentrations adversely affects the respiratory processes of the mitochondria of the pancreas. In our study, ammonia reduced the adaptive capacity of mitochondria, regardless of the influence of secretagogues. This can be explained by the fact that the pathological effect of ammonia is mediated by an increase in the level of cytoplasmic  $[\text{Ca}^{2+}]$  [12, 14]. Mitochondrial accumulation of  $\text{Ca}^{2+}$  impairs mitochondrial respiration, decreases ATP synthesis and increases the formation of free radicals, which lead to greater oxidative stress. An additional increase in cytoplasmic  $[\text{Ca}^{2+}]$  under the action of ACh or CCK did not increase the toxic effects of ammonia.

Glutamine is a multifunctional amino acid. In addition to protein synthesis, glutamine is an anaplerotic substrate for CAC. Mitochondrial glutamine is catabolized to glutamate by the amidohydrolase enzymes, which catalyze the conversion of glutamine to glutamate by releasing ammonium ions. Then mitochondrial glutamate is converted to  $\alpha$ -ketoglutarate by glutamate dehydrogenase 1 or several mitochondrial aminotransferases. Mitochondrial  $\alpha$ -ketoglutarate can participate in CAC by supporting the oxidative phosphorylation pathway or the reductive carboxylation pathway. During oxidative phosphorylation, glutamine metabolites are involved in the

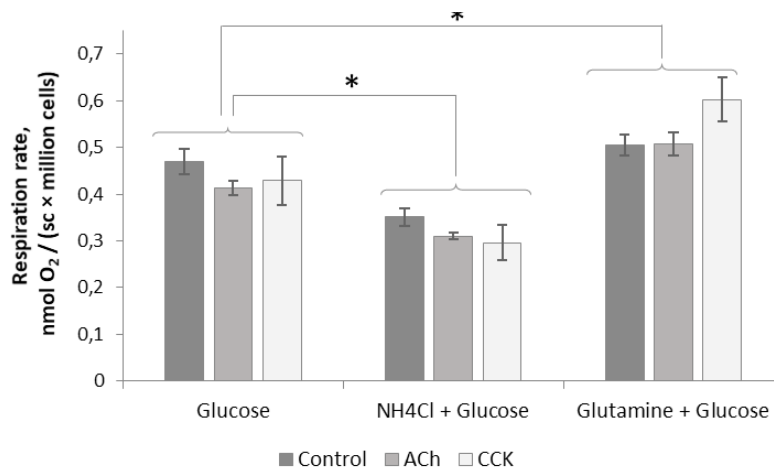
generation of electron donors, such as NADH or FADH<sub>2</sub>, and the synthesis of GDF and ATP. The active metabolism of glutamine in the mitochondria of brain astrocytes by phosphate-activated glutaminase leads to the hyperproduction of ammonia [30]. But, as our study shows, glutamine catabolism in the pancreas promotes to increased adaptability of mitochondria, even under increased [Ca<sup>2+</sup>].

Based on the results of our study, incubation of isolated acinar cells of the pancreas with NH<sub>4</sub>Cl causes a negative effect on mitochondria regardless of stimulation with ACh or CCK. The toxic amount of ammonia required for such adverse effects is apparently not formed due to glutamine oxidation even when stimulated by acinar cells by secretagogues.

A)



B)



The effects of oxidative substrates and NH<sub>4</sub>Cl on basal (A) and maximal uncoupled respiration rate (B) of isolated pancreatic acini; cells were pre-incubated in basic extracellular solution (30 min) with substrates and secretagogues; FCCP were added into the respiratory chamber; [glucose] = 10 mM, [glutamine] = 2 mM, [NH<sub>4</sub>Cl] = 5 mM, [ACh] = 10 μM, [CCK] = 0.1 nM; two-way repeated-measures ANOVA and post-hoc Holm-Bonferroni corrected t-test: \* – p<0.05, # – significant comparing with control (no ACh or CCK), p<0.05; M±S.E.M., n=5

## REFERENCES

1. Білонога О. О., Манько Б. О., Манько В. В. Вплив ацетилхоліну та холецистокініну на адаптаційну здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози // Фізіол. журнал. 2019. Т. 65. № 4. С. 73–81.
2. Манько Б., Волошин Д., Манько В. Дихання ізольованих ацинусів підшлункової залози щурів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2013. Вип. 61. С. 172–179.
3. Adrych K. Decreased serum essential and aromatic amino acids in patients with chronic pancreatitis // World J. Gastroenterol. 2010. Vol. 16. N. 35. P. 4422–4427.
4. Albrecht J., Norenberg M. D. Glutamine: A Trojan horse in ammonia neurotoxicity // Hepatology. 2006. Vol. 44. N. 4. P. 788–794.
5. Arutla M., Raghunath M., Deepika G. et al. Efficacy of enteral glutamine supplementation in patients with severe and predicted severe acute pancreatitis – A randomized controlled trial // Indian J. Gastroenterol. 2019. Vol. 38. N. 4. P. 338–347.
6. Bachmann C. Mechanisms of Hyperammonemia // Clin. Chem. Lab. Med. 2002. Vol. 40. N. 7. P. 653–662.
7. Criddle D. N., Booth D. M., Mukherjee R. et al. Cholecystokinin-58 and cholecystokinin-8 exhibit similar actions on calcium signaling, zymogen secretion, and cell fate in murine pancreatic acinar cells // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2009. Vol. 297. N. 6. P. 1085–1092.
8. Eagle H. Nutrition Needs of Mammalian Cells in Tissue Culture // Sci. 1955. Vol. 122. N 3168. P. 501–504.
9. Fuentes-Orozco C., Cervantes-Guevara G., Mucico-Hernandez I. et al. L-alanyl-L-glutamine-supplemented parenteral nutrition decreases infectious morbidity rate in patients with severe acute pancreatitis // J. Parenter. Enteral Nutr. 2008. Vol. 32. N. 4. P. 403–411.
10. Gukovskaya A. S., Gukovsky I., Jung Y. et al. Cholecystokinin induces caspase activation and mitochondrial dysfunction in pancreatic acinar cells // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. N. 25. P. 22595–22604.
11. Hall J. C., Heel K., McCauley R. Glutamine // British. J. Surgery. 2005. Vol. 83. N. 3. P. 305–312.
12. Heidari R. Brain mitochondria as potential therapeutic targets for managing hepatic encephalopathy // Life Sciences. 2019. Vol. 218. P. 65–80.
13. Jaworek J., Bilski J., Jachimczak B. et al. The effects of ammonia on pancreatic enzyme secretion *in vivo* and *in vitro* // J. Physiol. Pharmacol. 2000. Vol. 51. N. 2. P. 315–332.
14. Jayakumar A. R., Rama Rao K., Tong X. Y., Norenberg M. D. Calcium in the mechanism of ammonia-induced astrocyte swelling // J. Neurochemistry. 2009. Vol. 109. P. 252–257.
15. Joseph S. K., McGivan J. D. The effects of ammonium chloride and bicarbonate on the activity of glutaminase in isolated liver mitochondria // Biochem. J. 1978. Vol. 176. N. 3. P. 837–844.
16. Lai J. C. K., Cooper A. J. L. Neurotoxicity of ammonia and fatty acids: Differential inhibition of mitochondrial dehydrogenases by ammonia and fatty acyl coenzyme a derivatives // Neurochem. Res. 1991. Vol. 16. N. 7. P. 795–803.
17. Lerch M. M., Gorelick F. S. Models of acute and chronic pancreatitis // Gastroenterol. 2013. Vol. 144. N. 6. P. 1180–1193.
18. Lerch M. M., Halangk W., Mayerle J. Preventing pancreatitis by protecting the mitochondrial permeability transition pore // Gastroenterol. 2013. Vol. 144. N. 2. P. 265–269.

19. Liu J., Lkhagva E., Chung H.-J., Kim H.-J., Hong S.-T. The pharmabiotic approach to treat hyperammonemia // *Nutrients*. 2018. Vol. 10. N. 2. P. 140.
20. Machado M. C. C., Fonseca G. M., Jukemura J. Late-onset ornithine carbamoyltransferase deficiency accompanying acute pancreatitis and hyperammonemia // *Case Reports in Medicine*. 2013.
21. Malüth J., Hegyi P. Ca<sup>2+</sup> toxicity and mitochondrial damage in acute pancreatitis: translational overview // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2016. Vol. 371. N. 1700.
22. Manko B. O., Bilonoha O. O., Manko V. V. Adaptive respiratory response of rat pancreatic acinar cells to mitochondrial membrane depolarization // *The Ukrainian Biochem. J.* 2019. Vol. 91. N. 3. P. 34–45.
23. Manko B. O., Manko V. V. Mechanisms of respiration intensification of rat pancreatic acini upon carbachol-induced Ca<sup>2+</sup> release // *Acta Physiologica*. 2013. Vol. 208. N. 4. P. 387–399.
24. Marchesini G., Zoli M., Dondi C. et al. Ammonia-induced changes in pancreatic hormones and plasma amino acids in patients with liver cirrhosis // *Dig. Dis. Sci.* 1982. Vol. 27. N. 5. P. 406–412.
25. Niknahad H., Jamshidzadeh A., Heidari R. et al. Ammonia-induced mitochondrial dysfunction and energy metabolism disturbances in isolated brain and liver mitochondria, and the effect of taurine administration: relevance to hepatic encephalopathy treatment // *Clin. Exp. Hepatol.* 2017. Vol. 3. P. 141–151.
26. Odinokova I. V., Sung K.-F., Mareninova O. A. et al. Mechanisms regulating cytochrome c release in pancreatic mitochondria // *Gut*. 2009. Vol. 58. N. 3. P. 431–442.
27. Peikin S. R., Rottman A. J., Batzri S., Gardner J. D. Kinetics of amylase release by dispersed acini prepared from guinea pig pancreas // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 1978. Vol. 235. N 6. P. 743–749.
28. Rooman I., Lutz C., Pinho A. V., Huggel K. et al. Amino acid transporters expression in acinar cells is changed during acute pancreatitis // *Pancreatol.* 2013. Vol. 13. N. 5. P. 475–485.
29. Savy N., Brossier D., Brunel-Guitton C. et al. Acute pediatric hyperammonemia: current diagnosis and management strategies // *Hepatic Medicine: Evidence and Research*. 2018. Vol. 10. P. 105–115.
30. Tapper E. B., Jiang Z. G., Patwardhan V. R. Refining the ammonia hypothesis // *Mayo Clinic Proceedings*. 2015. Vol. 90. N.5. P. 646–658.
31. Thrower E. C., Yuan J., Usmani A. et al. A novel protein kinase D inhibitor attenuates early events of experimental pancreatitis in isolated rat acini // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2011. Vol. 300. N. 1. P. 120–129.
32. Wang B., Zhao J., Guo Z. et al. Differential contributions of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers to nitrification in four paddy soils // *The ISME J.* 2015. Vol. 9. N. 5. P. 1062–1075.
33. Xue P., Deng L.-H., Xia Q. et al. Impact of alanyl-glutamine dipeptide on severe acute pancreatitis in early stage // *World J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 14. N. 3. P. 474–478.

Стаття надійшла до редакції 24.05.21

доопрацьована 26.05.21

прийнята до друку 01.06.21



**ВПЛИВ АМІАКУ І ГЛУТАМІНУ НА ДИХАННЯ МІТОХОНДРІЙ  
АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ****А. Зуб\*, О.В. Манько, Б.О. Манько***Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна**e-mail: \*anastasiya.yakubovska@lnu.edu.ua (А. Зуб)**e-mail: alexis.manko@gmail.com (О.В. Манько)**e-mail: bohdan.manko@lnu.edu.ua (Б.О. Манько)*

За катаболізму глутаміну утворюється аміак, який може бути токсичним для клітин. За печінкової енцефалопатії у мітохондріях нейронів аміак спричиняє утворення вільних радикалів, розкриття мітохондріальної пори транзієнтної проникності, порушення окисного фосфорилування та набряк. Досі невідомо, чи за утилізації глутаміну в мітохондріях ацинарних клітин підшлункової залози утворюються токсичні концентрації аміаку. Досліди виконували на щурах самцях лінії Вістар масою 250–300 г. Панкреатичні ацинуси ізолювали з використанням колагенази. Клітини інкубували упродовж 30 хв з глюкозою (10 ммоль/л) у контролі й додатково вносили  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (5 ммоль/л) або глутамін (2 ммоль/л) – у досліді. Для стимуляції секреції використовували ацетилхолін (10 мкмоль/л) чи холецистокінін (0,1 нмоль/л). Дихання ізолюваних панкреатичних ацинусів щурів вимірювали за допомогою електрода Кларка. Максимальну швидкість дихання стимулювали додаванням у FCCP. Статистичну вірогідність (P) різниці між середніми арифметичними оцінювали парним t-тестом або двофакторним дисперсійним аналізом із повторами та post-hoc тестом Холм-Бонферроні. Секретагоги ацетилхолін і холецистокінін не впливали на базальну та FCCP-стимульовану швидкість дихання. Базальна швидкість дихання ацинарних клітин підшлункової залози за впливу  $\text{NH}_4\text{Cl}$  знизилася порівняно з базальною швидкістю дихання за окиснення глюкози, причому це зниження спостерігалось як у стані спокою, так і за дії секретагогів. Глутамін не впливав на базальну швидкість дихання. За окиснення глутаміну максимальна швидкість дихання зростає порівняно з контролем, незалежно від впливу ацетилхоліну чи холецистокініну.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  знижував максимальну швидкість FCCP-стимульованого дихання як у спокої, так і за стимуляції секретагогами порівняно з контролем за окиснення глюкози. Отже,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  негативно впливає на дихання мітохондрій незалежно від стимуляції ацетилхоліном або холецистокініном. Токсична кількість аміаку, необхідна для пригнічення дихання мітохондрій, очевидно, не утворюється через окиснення глутаміну навіть за стимулювання ацинарних клітин секретагогами.

*Ключові слова:* панкреатичні ацинуси, аміак, глутамін, ацетилхолін, холецистокінін, дихання, мітохондрії

## ЗМІСТ

### ОГЛЯДИ

- В. Кияк, В. Штупун*  
Залежність між темпами розвитку і життєвістю особин у популяціях раритетних видів рослин високогір'я Українських Карпат ..... 3
- І. Загороднюк*  
Номен «щур» як українська назва ссавців роду *Arvicola*: історичні й етимологічні дослідження ..... 16

### БІОТЕХНОЛОГІЯ

- О. Rydkin, О. Koshla, В. Ostash*  
The *mia* mutants of *Streptomyces albus* J1074 are prone to translational errors and susceptible to certain stressors ..... 33

### БІОФІЗИКА

- Н. Гарасим, Х. Баран, Н. Боднарчук, В. Отчич, М. Галан, А. Зинь, Д. Санагурський*  
Активність ферментів антиоксидантного захисту і вміст глутатіону у плазмі крові щурів за дії кверцетину та гістаміну в дослідях *in vitro* ..... 40

### БІОХІМІЯ

- Н. Боднарчук, Н. Гарасим, А. Тріль, Д. Санагурський*  
Вміст сіалових кислот, АТФ і супероксидного аніон-радикала у зародках в'юна за впливу флуоренізиду ..... 54

### ЕКОЛОГІЯ

- Н. Притула*  
Доцільність використання соняшнику (*Helianthus annuus* L.) як фітоіндикатора антропогенного навантаження середовища ..... 68
- Ю. Бабич, Т. Пінкіна*  
Вплив іонів важких металів на екотоксикологічні показники витушки рогової (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Bulinidae) ..... 76
- Н. Klepach, N. Holub, O. Lupak*  
Assessment of ecotoxicological state of technologically modified edaphotopes with waste of oil refinery with the *Allium*-test method ..... 84

### ЗООЛОГІЯ

- Т. Микитчак, В. Козловський, О. Мателешко*  
Формування фауни безхребетних гідробіонтів у водоймі Домбровського кар'єру в період 2014-2018 років ..... 94

### ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

- А. Zub, O.V. Manko, B.O. Manko*  
The effects of ammonia and glutamine on mitochondrial respiration of pancreatic acinar cells ..... 105

## CONTENS

### REVIEWS

- V. Kyyak, V. Shtupun*  
Relationship between the developmental rate and individual vitality in populations  
of rare plant species in the high-mountains of the Ukrainian Carpathians ..... 3
- I. Zagorodniuk*  
Nomen “shchur” as the Ukrainian name of mammals from the genus *Arvicola*:  
historical and etymological survey ..... 16

### BIOTECHNOLOGY

- O. Rydkin, O. Koshla, B. Ostash*  
The *mia* mutants of *Streptomyces albus* J1074 are prone to translational errors  
and susceptible to certain stressors ..... 33

### BIOPHYSICS

- N. Harasym, H. Baran, N. Bodnarchuk, V. Otchych, M. Galan, A. Zyn, D. Sanagursky*  
State of antioxidant system of rat blood plasma at the action of quartzetin  
and histamine in *in vitro* experiments ..... 40

### BIOCHEMISTRY

- N. Bodnarchuk, N. Harasym, A. Tril, D. Sanagurskiy*  
Content of sialic acids, ATP and superoxide anion-radical in loach embryos  
under the influence of flurenizyd ..... 54

### ECOLOGY

- N. Prytula*  
The feasibility of using sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a phytoindicator  
of anthropogenic load of the environment ..... 68
- Y. Babych, T. Pinkina*  
Influence of heavy metal ions on ecotoxicological indicators of planorbarius corneus  
(Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Bulinidae) ..... 76
- H. Klepach, N. Holub, O. Lupak*  
Assessment of ecotoxical state of technologically modified edaphotopes with waste  
of oil refinery with the *Allium*-test method ..... 84

### ZOOLOGY

- T. Mykitchak, V. Kozlovskyy, O.Y Mateleshko*  
Invertebrate hydrobiont fauna transformation in the Dombrovskiy pit lake during  
the period of 2014-2018 ..... 94

### HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

- A. Zub, O.V. Manko, B.O. Manko*  
The effects of ammonia and glutamine on mitochondrial respiration  
of rat pancreatic acinar cells ..... 105