

ISSN 0206-5657

**ВІСНИК**  
ЛЬВІВСЬКОГО  
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 85

2021

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

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

**Issue 85** | **Випуск 85**

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 № 23/12 від 29 грудня 2021 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію серія  
КВ № 14810-3581Р від 28 жовтня 2008 р.,  
перереєстровано як фахове видання України  
(наказ МОН № 409 від 17.03.2020 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.2021.85>

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. 8,4  
Наклад 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет  
імені Івана Франка, 2021

ОГЛЯДИ

УДК 61.575, 616.89, 616.159: 159.9

HTTPS://DOI.ORG/10.30970/  
VLUBS.2021.85.01

**РОЗЛАДИ АУТИСТИЧНОГО СПЕКТРУ: ГЕНЕТИЧНІ Й ЕПІГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ**

**О. Лановенко**

*Херсонський державний університет  
вул. Університетська, 27, Херсон 73000, Україна  
e-mail: lanovenko2708@gmail.com*

Розлади аутистичного спектру (РАС) – це хвороби складної взаємодії між спадковістю і середовищем з оцінками успадкованості від 40 до 80 %, етіологія яких є мультигенною і гетерогенною (люди з подібними патогенетичними варіантами мають різко відмінні фенотипи). Генетичні й епігенетичні фактори розвитку відіграють ключову роль у виникненні патології; серед них найважливішими є варіації кількості копій генів (CNV), однонуклеотидні поліморфізми (SNP), епігенетичні модулятори. У людей з аутизмом ідентифіковано різні варіанти кількості копій генів, що пояснює гетерогенну генетичну архітектуру розладів. Короткі однонуклеотидні поліморфізми ідентифіковано в генах нейрональних рецепторів і білків детоксикації клітин, метаболізму нейротрансмітерів і метаболітів, зокрема, метаболічних ланцюгів метилювання й транссульфурації. Незважаючи на виявлення близько 800 генів ризику РАС, жоден із них не є причиною більше 1 % усіх випадків патології. Серед щойно виявлених 215 генів-кандидатів 19,5 % є епігенетичними регуляторами. У процесі формування розладів аутистичного спектру епігенетичній трансформації піддаються ядерні та цитоплазматичні механізми регуляції генної активності: ремоделювання хроматину, транскрипція, метилювання ДНК у промоторній ділянці, альтернативний сплайсинг мРНК, регуляція трансляції, посттранскрипційна регуляція за допомогою мікроРНК, убіквітинування, деградація білків протеасомами. Мутантні білки, кодовані генами-кандидатами РАС, порушують проліферацію клітин, синаптичну архітектуру і правильну синаптичну функцію. Найчастіше у людей із аутизмом наявні спадкові зміни з неповною пенетрантністю, перемінною експресивністю або з тим та іншим одночасно. Найбільш вивченими середовищними факторами ризику, що потенційно сприяють виникненню РАС у потомства, є: вік подружжя (особливо батька), фактори перинатального ризику, порушення метаболізму вітамінів (зокрема, вітаміну D) і мікроелементів (цинку, хрому, магнію), ожиріння та цукровий діабет матері. У сечі дітей з аутизмом суттєво підвищений вміст дофаміну, а в кишечнику порушена нормальна мікрофлора внаслідок заміни корисних пробіотиків бактеріями *Clostridia*. Враховуючи складність етіології аутизму та зростаючу поширеність нових підтверджених випадків РАС у всьому світі, необхідно здійснювати пошук ефективних методів діагностики та виявляти головні фактори ризику виникнення патології.

*Ключові слова:* розлади аутистичного спектру, генетика, епігенетика

Розлади аутистичного спектру, РАС (autism spectrum disorders, ASD) – це комплекс порушень функціонування нервової системи, характерними особливостями яких є дефіцит соціальної взаємодії, обмеженість інтересів, мовленнєві розлади та розлади поведінки, з

яких аутизм є найважчим варіантом. РАС поширені в усіх расових, етнічних, соціально-економічних групах, зачіпають десятки мільйонів людей по всьому світу і вартують у середньому мільйони доларів на підтримання хворої людини протягом її життя. Патологія нерівномірно розподіляється за статтю: у чоловіків ризик розвитку розладу в 4 рази вищий, ніж у жінок [4]. Незважаючи на численні публікації, залишається нез'ясованою більшість аспектів етіології, патогенезу, систематики та лікування аутизму. Генетичний фон значною мірою сприяє розвитку цього стану. Інші чинники можуть відігравати важливу роль у виникненні РАС: батьківські, внутрішньоутробні й перинатальні фактори. Останнім часом підтверджений зв'язок із РАС епігенетичних змін генома, включаючи метилювання ДНК і зміни мікроРНК, запропоновані як потенційні біомаркери.

Цей огляд спрямовано на узагальнення останніх наукових досліджень імовірних генетичних, епігенетичних і середовищних механізмів формування аутизму / РАС.

#### **Поширеність і клінічні характеристики РАС**

Уперше аутизм описав Лео Каннер (1943) у докладному звіті про 11 дітей з подібними незвичними схильностями: неправильне використання мовлення, байдужість до інших людей, нав'язливі інтереси. Перше епідеміологічне дослідження аутизму у 1966 р. оцінило його поширеність в 4,5 на 10 000 населення [38]. Протягом багатьох років аутизм вважали відносно рідкісним явищем, із поширеністю менше 1 на 1000 дітей, тоді як нині середній оціночний показник становить 1 на 160. Оцінка поширеності аутизму значно варіює залежно від діагностичних критеріїв, віку обстежених дітей і географічного положення країни. Нині на планеті зареєстровано 6,5 млн людей, які страждають на цей розлад. Частота РАС різна у різних країнах світу (табл. 1).

Таблиця 1

Поширеність розладів аутистичного спектру в країнах світу (2020 рік)

<https://www.statista.com/statistics/676354/autism-rate-among-children-select-countries-worldwide/>

Країна	Поширеність РАС (кількість випадків на 10 000 населення)	Частота РАС
Польща	3	1: 3 333
Таїланд	5	1: 2 000
Китай	23	1: 435
Німеччина	38	1: 263
Нідерланди	48	1: 208
Норвегія	51	1: 196
Фінляндія	54	1: 185
Естонія	60	1: 167
Бельгія	60	1:167
Сінгапур	67	1: 149
Данія	69	1:145
Канада	106	1: 94
Швеція	145	1: 69
Ірландія	153	1: 65
Японія	181	1: 55
США	222	1: 45
Південна Корея	263	1:38
Гонконг	372	1: 27

Дослідження в Австралії, Канаді, Омані, США, деяких європейських країнах (Швеція, Італія) вказують на істотне збільшення оцінок поширеності РАС, починаючи з 2010 р. [8], що частково пояснюється як підвищенням обізнаності, так і вдосконаленням критеріїв Керівництва з діагностики і статистики психічних розладів (DSM-5), що охоплює сучасний їхній спектр.

Згідно з поточними критеріями DSM-5, тільки дві основні ознаки дають змогу поставити діагноз РАС:

1) постійний дефіцит соціальної комунікації та соціальної взаємодії в різних контекстах;

2) обмежені, повторювані моделі поведінки, інтересів чи дій [28].

Розлади аутистичного спектру часто поєднуються з іншими станами: руховими порушеннями (79 %), шлунково-кишковими проблемами (до 70 %), епілепсією (до 30 %), розумовою відсталістю (45 %), порушенням сну, тривогою, дратівливістю та синдромом дефіциту уваги з гіперактивністю (50–80 %) [28]. Мовленнєві розлади часто трапляються і включені в критерії DSM-IV. У хворих людей із РАС діагностують розлади імунної та ендокринної систем, функціонування печінки [32]. Спільна поширеність одного або кількох діагнозів порушень розвитку сягає у дітей із РАС до 83 %. У дорослому віці 30 % аутичних дітей можуть стати нездатними до самостійного життя, що спричинює негативні соціальні наслідки [57].

РАС розглядають як групу нейропатологічних розладів із раннім початком, які лежать в основі змін мозкової діяльності з каскадними ефектами впливу на більшість нейропсихологічних функцій [24]. У Діагностичному і статистичному керівництві з психічних розладів (DSM-5) (Американська психіатрична асоціація, АРА, Філадельфія, Пенсільванія, США, 2013) станом аутизму надається атрибут «спектру». Як це часто буває зі складними захворюваннями, люди з подібними патогенетичними варіантами можуть мати різко відмінні фенотипи. Генетичні й епігенетичні фактори розвитку відіграють ключову роль у виникненні захворювання.

#### ***Генетичні фактори та гени – кандидати РАС***

Роль генетичних факторів у формуванні та розвитку РАС загальноновизнана. Усі відомі дослідники біологічних основ аутизму погоджуються з тим, що значна частина випадків дитячого аутизму обумовлена спадково. Відомо, що дитячий аутизм часто супроводжується порушенням кількості практично кожної з хромосом геному людини; досить часто виявляють поєднання аутизму з генними хворобами (фенілкетонурия, туберозний склероз, нейрофіброматоз та ін.). Особлива роль належить синдрому ламкої (фрагільної) Х-хромосоми: в середньому один із 4–5 хлопчиків з аутизмом страждає на синдром ФраХ. Специфіка психопатологічних особливостей аутизму за хромосомних і генних захворювань не виділена.

За визначенням Р. Chaste, М. Leboyer (2012), розлади аутистичного спектру – це хвороби складної взаємодії між спадковістю і навколишнім середовищем, з оцінками успадкованості від 40 до 80 % [7]. Генетичний внесок у формування розладів уперше виявлено у дослідженні близнюків, опублікованому в 1970-х роках, яке підтвердило високу конкордантність аутизму в монозиготних близнюків (60–90 %) порівняно з дизиготними близнюками (5–40 %) [20]. У батьків дитини з аутизмом є 2–18 %-ний ризик народити другу дитину з тим самим захворюванням. Одне з найбільших на сьогоднішній день досліджень, у якому взяли участь більше 2 мільйонів дітей, що народилися в період з 1982 по 2006 рік у Швеції, показало, що РАС має успадкованість 45–56 % [42].

Поява високопродуктивного секвенування на початку ХХІ ст. дала змогу вивчати РАС на геномному рівні. Технологія секвенування підтвердила, що етіологія цих розладів є мультигенною і гетерогенною, з небагатьма однаковими патогенетичними варіантами, наявними у значного відсотка хворих. Лише незначна частина захворювань, пов'язаних з РАС, має моногенні причини, такі як синдром Ретта, синдром ламкої Х-хромосоми, туберозний склероз, синдром Шурса–Хоймейкера [58]. Десятки великомасштабних

генетичних досліджень пацієнтів із РАС і їхніх сімей допомогли ідентифікувати сотні генів ризику. Хоча білки, кодовані цими генами, мають різні функції, більшість із них походить від двох головних класів: тих, що беруть участь у формуванні синапсів, забезпечуючи синаптичну архітектуру та правильну синаптичну функцію, і тих, що регулюють транскрипцію та контролюють шляхи ремоделювання хроматину [11].

Розрізняють вроджену форму РАС із невеликим відсотком випадків, коли симптоми виникають незабаром після народження і у яких генетичний варіант є повторним, та регресивну, або набуту форму, за якої розлад з'являється після періоду типового розвитку і не характеризується типовими та постійними генетичними аномаліями. Набута форма обумовлена появою кількох коротких однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) [49], які є варіаціями одного нуклеотиду в певних ділянках ДНК. Такі однонуклеотидні поліморфізми ідентифіковані в генах, які є нейрональними рецепторами або кодують білки процесів детоксикації клітин, метаболізму кількох нейротрансмітерів і метаболітів, зокрема, метаболічних ланцюгів метилювання і транссульфурації [9].

Починаючи з 2005 р., технології секвенування екзому (WES) та використання мікроматриць дають проводити дослідження в масштабі всього геному й ідентифікувати різні варіанти кількості копій генів (copy number variation, CNV) – хромосомних сегментів ДНК розміром більше 1 т.п.н., а також однонуклеотидні варіації (SNV) в аутичних пацієнтів, що свідчить про дуже гетерогенну генетичну архітектуру захворювання. Варіації кількості копій гена є субмікроскопічними структурними варіантами, які включають дуплікації, делеції, транслокації та інверсії [31], здатні передаватись у спадок або виникати *de novo*. Такі мутації можуть зачіпати більшість генів, але не всі вони обов'язково є рушійними силами хвороби. У аутичних людей виявлено більш високе навантаження рідкісними генними копіями, які обумовлюють різні варіанти патології [36].

Однонуклеотидні поліморфізми вважають надзвичайно важливим фактором, що сприяє виникненню схильності до РАС. Лише деякі з цих генетичних змін мають настільки повну пенетрантність, що асоціюються з РАС майже у кожній хворій людині-носія цього варіанта. Найчастіше спостерігаються генетичні зміни з неповною пенетрантністю, перемінною експресивністю чи і тим, і іншим одночасно. Хоч сніпи, пов'язані з цим захворюванням, зазвичай унікальні та демонструють низьку частоту поширеності в популяції, вони виявляються у 8–21 % людей із РАС і обумовлюють важку клінічну картину [34]. Крім того, люди зі синдромальними РАС і розумовою відсталістю мають більше патогенетичних SNP, ніж люди з несиндромальними варіантами [34].

Більшість опублікованих робіт, спрямованих на виявлення етіологічної основи РАС, зосереджена на генетичній компоненті, але тільки у відносно незначній частині пацієнтів стало можливим встановити різні генетичні варіанти як причину захворювання. Ця проблема, відома як «проблема відсутності спадковості», характерна для більшості складних спадкових хвороб. Натомість висунуто кілька гіпотез, щоб виправдати відсутність успадкованості, – неповна пенетрантність, епігенетичні фактори, взаємодія генотип–середовище [55].

Під час дослідження методом випадок-контроль на популяційних і тваринних моделях виявлено понад 800 генів, пов'язаних з аутизмом. У табл. 2 представлено відомості про деякі з таких генів-кандидатів, включених у базу даних SFARI Gene, як гени РАС із високим ступенем достовірності (четвертий квартал 2020 р. [gene.sfari.org](http://gene.sfari.org)). Більшість представлених у таблиці генів залучені до формування дендритних шипиків, синаптичної архітектури та функції, що дає змогу передавати інформацію між нейронами та від нейронів до інших клітин (м'язових, сенсорних).

Білки постсинаптичного ущільнення, включаючи молекули клітинної адгезії, каркасні білки, рецептори і білки цитоскелету, є важливими для забезпечення синаптичної передачі нервових імпульсів. Зміни цих білків обумовлюють більшість неврологічних розладів, включаючи PAC [23].

Крім зазначених у табл. 2, до числа найважливіших генів-кандидатів PAC залучають гени сімейства SHANK, включаючи SHANK1, SHANK2, SHANK3, білки яких є багатодоменими скалярними білками постсинаптичного ущільнення, які з'єднують рецептори нейротрансмітерів, іонні канали й інші мембранні білки з актином цитоскелету і сигнальними білками, важливими для утворення синапсів і дозрівання дендритних шипиків [26]. У осіб із PAC ідентифіковані рідкісні делеції гена SHANK2 і варіантів *de novo*, що викликають втрату функції білка [3].

Гени ризику аутизму, пов'язані зі синапсами, включають ті, котрі кодуєть білки клітинної адгезії, такі як нейролігіни, нейрексини, трансмембранні синаптичні білки, що формують трансинаптичний комплекс нейрексин / нейролігін, критично важливий для синаптичної функції. Нейролігіни зв'язуються із геном SHANK3 через синаптичні білки. У пацієнтів із PAC відбувається втрата функції нейрексинів [45].

Ще один ген-кандидат аутизму – CAPG – член сімейства гельсолінових, регулюючих актин білків, важливих для ремоделювання архітектури актину та формування функціональних синапсів. Ці білки наявні в розгалуженій мережі актинових філаментів головок дендритних шипиків; вони є фундаментальними для розвитку останніх. Мікроделеція, що охоплює весь ген CAPG, недавно описана у трьох різних сім'ях із PAC у гетерозиготному [1] і гомозиготному стані [27]. Мікроделеція супроводжувалася зниженням щільності шипиків і збільшенням кількості філоподій-подібних протрузій [13].

Незважаючи на виявлення безлічі генетичних чинників PAC (близько 800 генів ризику), жоден із них не є причиною більше 1 % усіх випадків захворювання. Серед щойно виявлених 215 генів-кандидатів 19,5 % є епігенетичними регуляторами, що пояснює виникнення різних фенотипів хвороби з кількома патогенетичними варіантами [12]. Гени ризику з високою пенетрантністю є ядерними, впливають на модуляцію експресії інших генів, продукти яких залучені до формування білкових комплексів, що керують формуванням патерна розвитку ЦНС [6].

#### ***Роль механізмів епігенетичної регуляції розвитку PAC***

Вплив середовища на фенотип зазвичай опосередковується епігенетичними процесами. Типові епігенетичні механізми включають утворення 5-метилцитозину й ацетилювання гістонів, що призводить до модифікації хроматину. Такі епігенетичні механізми можуть призвести до пригнічення дії певних генів і впливати на вираження фенотипу. Унікальний епігеном кожної людини – геном плюс будь-які епігенетичні модифікації – розвивається в результаті багатьох факторів. Перший і, ймовірно, найважливіший, – це ефекти, що впливають на епігеном під впливом факторів середовища [15]. Крім того, епігеном успадковується: мати, наприклад, може передавати метильований ген своєму потомству [2]. Епігеном, як і геном, піддається помилкам реплікації генів, але тоді як типова частота таких помилок становить 1: 1 000 000, частота помилок реплікації епігенетичних елементів – 1: 1 000 [20].

Окрім змін, спричинених екологічними чинниками, відбуваються спонтанні зміни епігеному, відомі як епігенетичний дрейф [10]. Наявність помилок реплікації та епігенетичного дрейфу пояснює стохастичну природу епігеному, тобто тенденцію різних епігеномів до дивергенції, незважаючи на ідентичні вихідні умови. Для демонстрації того, як мутації в



Таблиця 2

## Найімовірніші гени-кандидати РАС

Категорія	Символ гена	Функція гена	Хромосома	Зміни	Асоційовані синдроми
Регулятори хроматину	ANKRD11	Анкіриновий повторний домен	16q24.3	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	Синдром Корнелі де Ланге
	ATRX	ATRX-ремулятор структури хроматину	Xq21.1	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	Альфа-галасемія / X-зчеплений синдром розумової відсталості
	AUTS2	Ген-кандидат (схильність до аутизму)	7q11.22	Збільшення кількості копій, інверсія, транслокація	Рідкісні варіанти AUTS 2 асоціюються з розумовою відсталістю, синдромом дефіциту уваги та гіперактивності, епілепсією та генетично пов'язані зі схильністю до алкоголізму
	CHD2	ДНК-зв'язуючий білок гелкази, ДНК-зв'язуючий білок 2	15q26.1	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	Синдром Туретта
	EHMT1	Еухроматична гістон-лізін-N-метилтрансфераза 1 (пригнічує транскрипцію)	9q34.3	Рідкісна мутація одного гена, збільшення кількості копій, транслокація	Синдром Кліфстрі
	MECP2	Метил-CpG-зв'язуючий білок 2	Xq28	Рідкісна мутація одного гена, синдромна, функціональна	Синдром Ретта, X-зчеплена розумова відсталість
	CHD7	ДНК-зв'язуючий білок хромодомена гелкази 7	8q12.2	Рідкісна мутація одного гена, - синдромна	-

Закінчення табл. 2

Фактори/регулятори транскрипції	ADNP	Нейропротектор гомеобокса	20q13.13	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	Синдром Хельсмуртеля-Ван дер Аа, PAC
	MED13L	Медіаторний комплекс субодиниці 13	12q24.21	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	-
	TCF4	Транскрипційний фактор 4	18q21.2	Рідкісна мутація одного гена, синдромна, генетична асоціація, функціональна	Синдром Пітта-Хопкінса
	TBR1	T-бокс, мозок, 1	2q24.2	Рідкісна мутація одного гена, синдромна, генетична асоціація, функціональна	-
	ZBTB20	Місенс-варіанти в гені ZBTB20. Кодований геном білок за функцією належить до фосфопротейнів. Задіяний у таких біологічних процесах, як транскрипція, регуляція транскрипції, убиквітування білків, альтернативний сплайсинг. Білок має сайт для зв'язування з іонами металів, іоном цинку, ДНК	3q13.31	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	Синдром 3q13.31 мікроделеції, Rpmrose синдром
Регулятор перенесення та зв'язування мРНК	FMR1 та їхні шляхи	Розумова відсталість, пов'язана з фрагментарною X-хромосомою	Xq27.3	Рідкісна мутація одного гена, синдромна, генетична асоціація, функціональна	Синдром ламкої X-хромосоми, синдром X-асоційованого тремору / атаксії
Деградація протеїну	UBE3A	Убіквітин протеїніаза E3A	15q11.2	Рідкісна мутація одного гена, синдромна, генетична асоціація	Синдром Ангельмана
Ріст клітин/проліферація	PTEN	Фосфатаза та гомолог тензину (мтовані при запущених формах раку)	10q23.31	Рідкісна мутація одного гена, синдромна, функціональна	Синдром Каудена, синдром макроцефалії / аутизму, пухлинний синдром гамартоми
	TSC1/TSC2	Туберозний склероз	9q34.13	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	-
Модифікація протеїну	CDKL5	Циклін-залежна киназа 5	Xp22.13	Рідкісна мутація одного гена, синдромна	Синдром Ретта, синдром Ангельмана

\*Підготовано автором на основі даних сайту [gene.sfn.org](http://gene.sfn.org). (четвертий квартал 2020 р.).

єдиному епігенетичному регуляторі здатні змінити експресію більшості генів ризику аутизму, розглянемо два ключових гени схильності до РАС: MeCP2 та UBE3A (табл. 2).

MeCP2 – ген-модифікатор хроматину, регулює більшість генів зі синаптичною функцією, зокрема, формування глутаматергічних синапсів під час розвитку, а також виконує посттрансляційні функції. У людей із РАС у лобній частині кори головного мозку активність гена суттєво зменшується внаслідок підвищеного метилювання промотора [33]. Функціональний вплив локус-специфічного метилювання MeCP2 на початок розвитку РАС нещодавно продемонстрований *in vitro* та *in vivo*. Відомо, що ген MeCP2 гіперметилюваний і пригнічений у пацієнтів із РАС. Автори дослідження використали систему редагування метилювання CRISPR-dCas9 для індукції метилювання сайту початку транскрипції MeCP2 у клітинах Neuro-2a модельних мишей, що призвело до пригнічення регуляції MeCP2 та набуття поведінкових змін, характерних для фенотипу РАС у миші [29].

UBE3A (убіквітин-протеїлігаза) є другим за важливістю епігенетичним регулятором, залученим у патологію РАС. Дія його моделюється геном MeCP2, але цей ген може спричинювати РАС-патологію сам по собі [41]. UBE3A міститься у хромосомній ділянці 15q11-13, яка зазвичай дублюється за аутизму. Дозозалежні ефекти гена позитивно корелюють із пригніченням передачі збудження через синапс, затримкою першого слова і психомоторною регресією [61].

Аналіз метилювання всього геному на посмертних зразках тканин різних ділянок мозку, виділених у суб'єктів із РАС і контрольної групи, показав суттєві відмінності в метилюванні та його виражених ефектах у ділянках кори порівняно з мозочком, а також у осіб із дуплікацією 15q11-13 [56]. У осіб із РАС порівняно з контролем ідентифіковано значно метильовані сайти CpG у місцях генома, що контролюють мітохондріальний метаболізм і убіквітинування білка; це вказує на ймовірну роль метилювання ДНК і мітохондріальної дисфункції у розвитку захворювання [48].

В індивідуумів із РАС профілі експресії мікроРНК не регулюються в різних матрицях, включаючи слину, кров і тканини мозку. Пригнічення miR-6126 виявлено також у зразках периферичної крові дорослих людей із РАС. Мішені для цієї мікроРНК належать до нейрональних шляхів і шляхів окситоцину [19]. Аналогічно Ozkul et al. ідентифікували послідовне зменшення шести мікроРНК у сироватці зразків від дітей із РАС і членів їхньої родини порівняно з контролем. Цей результат відтворений у крові, гіпоталамусі та спермі двох моделей мишей із РАС [35].

У клітинному ядрі процесами, залученими в регуляцію експресії генів, є: 1) упаковка хроматину та фактори, що беруть участь у ремоделюванні хроматину; 2) транскрипція генів, регульована факторами транскрипції; 3) метилювання ДНК у промоторній ділянці, що призводить до пригнічення транскрипції генів-мішеней; 4) альтернативний сплайсинг мРНК, який експортується в цитоплазму. У цитоплазмі виявляються такі механізми регуляції активності генів: 5) регуляція трансляції білка комплексом CYFIP1-EIF4E-FMR1; 6) посттранскрипційна регуляція за допомогою мікроРНК; 7) убіквітування і деградація білків протеасомами. Ці ядерні та цитоплазматичні механізми регуляції активності генів у нейронах піддаються епігенетичній трансформації під час формування розладів аутистичного спектру.

#### **Середовищні фактори ризику РАС**

Найбільш вивченими внутрішньосередовищними факторами ризику, потенційно сприяючими виникненню РАС у потомства, є: вік подружжя (особливо батька), фактори перинатального ризику, порушення метаболізму вітамінів і мікроелементів, ожиріння та цукровий діабет матері [5].

Є докази кореляції похилого віку батька з розвитком біполярного розладу, шизофренії, синдрому дефіциту уваги та гіперактивності (СДУГ) і РАС [21]. Метааналіз 27 досліджень наявності зв'язку між похилим батьківським віком і РАС засвідчив, що 10-річне збільшення материного й батькового віку на 20 % збільшує ризик народження дітей із РАС [59]. Похилий вік батька був причиною зменшення товщини кори правої задньої вентральної поясної звивини у чоловічого потомства [25]. Експерименти на мишах підтвердили, що похилий вік батька пов'язаний із розвитком симптомів аутизму в потомства та зміною морфології кори головного мозку у чоловічих особин миші [14]. Поведінку, обумовлену РАС, спостерігали і у мишей другого покоління від більш старих дідусів, що дає підстави припустити успадкованість генетичних і епігенетичних змін, спричинених віком батька [44].

Два комплексних метааналізи завдяки дослідженню 60 акушерських факторів виявили статистично значущі зв'язки між ризиком РАС і травмою або родовою травмою, багатоплідними пологами, материнською кровотечею, низькою масою тіла дитини при народженні, неонатальною анемією, генітальними вадами, несумісністю груп крові системи АВО або резус-фактором, гіпербілірубінемією [17]. Інше дослідження показало зв'язок між підвищеним ризиком аутизму і різними факторами, включаючи кесарів розтин, штучні пологи, термін менше 36 тижнів і дистрес плоду [54].

У дітей із РАС виявлено незбалансований рівень вітамінів, зокрема, дефіцит вітаміну D, причому в них спостерігали позитивні ефекти після їх прийому [39]. У пацієнтів із РАС порівняно з контрольною групою виявлено змінені концентрації кількох мікроелементів у волоссі та/або крові, включаючи хром, магній і цинк [40]. Важливість цинку при РАС підтверджується безліччю доказів, включаючи сильний зв'язок між низьким рівнем цього металу і ризиком РАС, роль дефіциту цинку в нейрональних дефектах і «терапевтичні» ефекти добавок цинку. У дітей із РАС виявлено низькі рівні цинку в складі волосся і в сироватці крові та/або змінене співвідношення Zn / Cu [18]. Нещодавнє дослідження на моделях мишей Shank3 показало, що додавання цинку в раціон матері може запобігти формуванню аутистичної поведінки потомства, спричиненої дефіцитом цього мікроелемента [51]. Мутація гена-регулятора актинового цитоскелету веде до зниження концентрації  $Zn^{2+}$  і рівня експресії синаптичних білків, що, у свою чергу, впливає на формування дендритних шипиків і веде до розвитку аутичної поведінки, здатної усунувати добавками цинку [47].

Ризик РАС у потомства, народженого від матерів із зайвою вагою та ожирінням, зростає на 28 % і 36 % відповідно [53]. Констатується невелика кількість випадків РАС у когорті з недостатньою вагою матері. Когортні дослідження та дослідження випадок-контроль показали, що споживання алкоголю матір'ю не становить жодного ризику виникнення РАС у потомства [16].

Використання під час вагітності антидепресантів, які застосовують як стабілізатори настрою при біполярному розладі, та протисудомних препаратів для лікування епілепсії призводить до вроджених вад, затримки розвитку і когнітивних порушень у майбутньої дитини [50].

Метааналіз, обмежений дослідженнями випадок-контроль, виявив підвищення ризику РАС у матерів із діабетом на 62 % порівняно з матерями, які не страждають на діабет: для прегестаційного діабету на 74 % і на 43 % для гестаційного діабету [52]. Ризик виникнення РАС підвищують вірусні та бактеріальні інфекції матері [22].

Численні публікації вказують на важливість стану материнської імунної системи під час внутрішньоутробного розвитку плода. У кількох дослідженнях повідомляється про

наявність зв'язку між сімейним анамнезом аутоімунних захворювань і РАС [60]. Можна припустити, що цей зв'язок може підтримуватися материнськими рівнями вмісту цинку в організмі. За даними метааналізу, концентрація цинку в сироватці та в плазмі у пацієнтів з аутоімунними проблемами є значно нижчою порівняно з контролем [43]. Відомо, що цинк відіграє важливу роль у регуляції імунної системи та формуванні нервової трубки.

Більшість дослідників проблеми аутизму вважають, що фактори навколишнього середовища мають вирішальне значення, посиляючись на переконливі докази епідемії аутизму в Сполучених Штатах, яка триває приблизно з 1980 р. Визнання того, що фактори навколишнього середовища впливають на експресію генів, призвело до появи концепції «епігенетичної епідемії», спровокованої факторами навколишнього середовища, що змінюють експресію вразливих генів, які викликають характерні для аутизму біохімічні процеси у багатьох матерів і немовлят.

Вплив на матір високих рівнів гліфосату, що входить до складу найпоширенішого гербіциду раундап (Roundup) і використовується на посівах сільськогосподарських культур, може збільшити ризик розладів аутистичного спектру в потомства. Станом на 2016 р. вирощування стійких до гербіцидів культур (в першу чергу стійких до гліфосату) призвело до збільшення обсягів використання гербіцидів у результаті появи стійких до гліфосату бур'янів. У досліді з мишами споживання їжі, що містить гліфосат, материнським організмом під час вагітності та годування призвело до появи розладів поведінки, подібних до РАС, а також аномального складу кишкової мікробіоти у потомстві мишей-самців. Вміст розчинної епоксидгідролази в мозку потомства після впливу материнського гліфосату був вищим, ніж у контролі [37].

Гліфосат (і важкі метали) інгібують ароматазу, яка перетворює андрогени в естрогени. Плацентарні та постнатальні естрогени зумовлюють дегідратацію деяких компонентів мієлінових оболонок переважно в ділянці зрілого мозолистого тіла та лівої півкулі, розширюють кровоносні судини головного мозку, спричиняючи гіперзбудливість, тривожність і недостатність материнського окситоцину при народженні.

У зразках сечі дітей з аутизмом суттєво підвищений вміст дофаміну. Зв'язок між *Clostridia* і підвищеним рівнем дофаміну настільки поширений при аутизмі, що збільшення кількості видів бактерії корелює зі серйозними аномаліями аутистичної поведінки. Причиною наявності в кишечнику дітей з аутизмом великої кількості бактерій *Clostridia*, які порушують нормальну мікрофлору внаслідок заміни корисних пробіотиків, вважають використання гербіциду гліфосату на посівах генетично модифікованих рослин. Клостридія стійка до гліфосату, виробляє токсин (3-гідроксифеніл)-3-гідроксипропіонову кислоту (НРНРА), яка пригнічує перетворення дофаміну в норадреналін за участі ферменту дофамін-бета-гідроксилази (ДВН). Феноли, такі як НРНРА, перешкоджають роботі ДВН. Як наслідок дофамін може накопичуватися до надзвичайно високих аномальних рівнів і перетворюватися на токсичні метаболіти дофаміну, які змінюють структуру і функцію мозку [46].

Нещодавно проведений голландськими вченими порівняльний аналіз набору білків у різних типах тканин людини показав, що мозок і сім'яники мають кілька загальних біохімічних характеристик, які можуть, принаймні частково, відповідати за експресію величезної кількості загальних білків. Мутації у генах, що кодують ці білки, здатні спричинювати порушення нормального функціонування мозку [30]. Подальше дослідження виявленої закономірності може пояснити наявну статеву диференціацію хворих на аутизм людей.

Таким чином, генетичні й епігенетичні фактори розвитку відіграють ключову роль у виникненні розладів аутистичного спектру (РАС). Мутантні білки, кодовані генами-кандидатами РАС, порушують синаптичну архітектуру та правильну синаптичну функцію, регуляцію транскрипції і шляхи ремоделювання хроматину. Вроджена та набута форми РАС обумовлені появою кількох коротких однонуклеотидних поліморфізмів (SNP), ідентифікованих у генах, які є нейрональними рецепторами або кодують білки процесів детоксикації клітин, метаболізму кількох нейротрансмітерів і метаболітів, зокрема, метаболічних ланцюгів метилювання і транссульфурації. В аутичних пацієнтів ідентифіковано також різні варіанти кількості копій генів (CNV), що пояснює формування дуже гетерогенної генетичної архітектури патології. Незважаючи на виявлення безлічі генетичних чинників РАС (близько 800 генів ризику), жоден із них не є причиною більше 1 % усіх випадків захворювання. Найбільш вивченими внутрішньосередовищними факторами ризику, що потенційно сприяють виникненню РАС у потомства, є: вік подружжя (особливо батька), фактори перинатального ризику, порушення метаболізму вітамінів (вітаміну D) і мікроелементів (цинку, хрому, магнію), ожиріння та цукровий діабет матері. У сечі дітей із аутизмом суттєво підвищений вміст дофаміну, а в кишечнику порушена нормальна мікрофлора внаслідок заміни корисних пробіотиків бактеріями *Clostridia*. Нині необхідно здійснювати пошук ефективних методів діагностики та виявляти головні фактори ризику виникнення патології.

*Аналітичний огляд зарубіжних публікацій проведено в рамках виконання вузівської науково-дослідної теми “Роль генетичних факторів в етіології і патогенезі розладів аутистичного спектру” (державний реєстраційний № 0119U103851).*

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Bacchelli E., Loi E., Cameli C. et al. Analysis of a Sardinian Multiplex Family with Autism Spectrum Disorder Points to Post-Synaptic Density Gene Variants and Identifies CAPG as a Functionally Relevant Candidate Gene // J. Clin. Med. 2019. Vol. 8. P. 212.*
2. *Benvenuto A., Moavero R., Alessandrelli R. et al. Syndromic autism: Causes and pathogenetic pathways // World J. Pediatr. 2009. Vol. 5. P. 169–176.*
3. *Berkel S., Marshall C., Weiss B. et al. Mutations in the SHANK2 synaptic scaffolding gene in autism spectrum disorder and mental retardation // Nat. Genet. 2010. Vol. 42. P. 489–491.*
4. *Buescher A., Cidav Z., Knapp M. et al. Costs of Autism Spectrum Disorders in the United Kingdom and the United States // JAMA Pediatr. 2014. Vol. 168(8). P. 721–728.*
5. *Bölte S., Girdler S., Marschik P. B. The contribution of environmental exposure to the etiology of autism spectrum disorder // Cell. Mol. Life Sci. 2019. Vol. 76. P. 1275–1297.*
6. *Casanova E. L., Sharp J. L., Chakraborty H. et al. Genes with high penetrance for syndromic and non-syndromic autism typically function within the nucleus and regulate gene expression // Mol. Autism. 2016. Vol. 7. P. 18.*
7. *Chaste P., Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions // Dialogues Clin. Neurosci. 2012. Vol. 14(3). P. 281–292.*
8. *Chiarotti F., Venerosi A. Epidemiology of autism spectrum disorders: a review of worldwide prevalence estimates since 2014 // Brain Sci. 2020. Vol. 10 (5). P. 274.*
9. *Cohen J., Eyu S., Efu Y., Eli X. Synaptic proteins and receptors defects in autism spectrum disorders // Front. Cell. Neurosci. 2014. Vol. 8. P. 276.*
10. *Colvert E., Tick B., McEwen F. et al. Heritability of Autism Spectrum Disorder in a UK Population-Based Twin Sample // JAMA Psychiatry. 2015. Vol. 72. P. 415–423.*

11. *De Rubeis S., He X., Goldberg A. P.* et al. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism // *Nature*. 2014. Vol. 515. P. 209–215.
12. *Duffney L. J., Valdez P., Tremblay M. W.* et al. Epigenetics and autism spectrum disorder: a report of an autism case with mutation in H1 linker histone HIST1H1E and literature review // *Am. J. Med. Genet.: Neuropsychiatr. Genet.* 2018. Vol. 177. P. 426–433.
13. *Fan Y., Tang X., Vitriol E. A.* et al. Actin capping protein is required for dendritic spine development and synapse formation // *J. Neurosci.* 2011. Vol. 31. P. 10228–11033.
14. *Foldi C. J., Eyles D., McGrath J. J., Burne T. H. J.* Advanced paternal age is associated with alterations in discrete behavioural domains and cortical neuroanatomy of C57BL/6J mice // *Eur. J. Neurosci.* 2010. Vol. 31. P. 556–564.
15. *Elsabbagh M., Mercure E., Hudry K.* et al. Infant Neural Sensitivity to Dynamic Eye Gaze Is Associated with Later Emerging Autism // *Curr. Biol.* 2012. Vol. 22. P. 338–342.
16. *Gallagher C., McCarthy F. P., Ryan R. M., Khashan A. S.* Maternal Alcohol Consumption during Pregnancy and the Risk of Autism Spectrum Disorders in Offspring: A Retrospective Analysis of the Millennium Cohort Study // *J. Autism Dev. Disord.* 2018. Vol. 48. P. 3773–3782.
17. *Gardener H., Spiegelman D., Buka S. L.* Perinatal and Neonatal Risk Factors for Autism: A Comprehensive Meta-analysis // *Pediatrics.* 2011. Vol. 128. P. 344–355.
18. *Goyal D. K., Neil J. R., Simmons S. D.* et al. Zinc Deficiency in Autism: A Controlled Study // *Insights Biomed.* 2019. N 4. P. 4–12.
19. *Hagiwara M., Kimura R., Funabiki Y.* et al. MicroRNA profiling in adults with high-functioning autism spectrum disorder // *Mol. Brain.* 2019. Vol. 12. P. 82–84.
20. *Hu V. W., Devlin C. A., Debski J. J.* ASD Phenotype-Genotype Associations in Concordant and Discordant Monozygotic and Dizygotic Twins Stratified by Severity of Autistic Traits // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. P. 3804.
21. *Janecka M., Mill J., Basson M. A.* et al. Advanced paternal age effects in neurodevelopmental disorders. Review of potential underlying mechanisms // *Transl. Psychiatry.* 2017. N 7. P. 1019.
22. *Jiang H.-Y., Xu L.-L., Shao L.* et al. Maternal infection during pregnancy and risk of autism spectrum disorders: A systematic review and meta-analysis // *Brain Behav. Immun.* 2016. Vol. 58. P. 165–172.
23. *Kaizuka T., Takumi T.* Postsynaptic density proteins and their involvement in neurodevelopmental disorders // *J. Biochem.* 2018. Vol. 163. P. 447–455.
24. *Kana R. K., Uddin L. Q., Ekenet T.* et al. Brain connectivity in autism // *Front. Hum. Neurosci.* 2014. N 8. P. 349.
25. *Kojima M., Yassin W., Owada K.* et al. Neuroanatomical Correlates of Advanced Paternal and Maternal Age at Birth in Autism Spectrum Disorder // *Cereb. Cortex.* 2018. Vol. 29. P. 2524–2532.
26. *Kreienkamp H.-J.* Scaffolding Proteins at the Postsynaptic Density: Shank as the Architectural Framework // *Pharmacol.* 2008. Vol. 186. P. 365–380.
27. *Lahbib S., Leblond C. S., Hamza M.* et al. Homozygous 2p11.2 deletion supports the implication of ELMOD3 in hearing loss and reveals the potential association of CAPG with ASD/ID etiology // *J. Applied Genetics.* 2018. Vol. 60. P. 49–56.
28. *Lai M.-C., Lombardo M. V., Baron-Cohen S.* Autism // *Lancet.* 2014. Vol. 383. P. 896–910.
29. *Lu Z., Liu Z., Mao W.* et al. Locus-specific DNA methylation of Mecp2 promoter leads to autism-like phenotypes in mice // *Cell Death Disease.* 2020. Vol. 11. P. 85.

30. *Matos B., Publicover S. J., Castro L. F. C.* et al. Brain and testis: more alike than previously thought? // *Open biology*. 07 June 2021. P. 1–11.
31. *Marshall C. R., Scherer S. W.* Detection and characterization of copy number variation in autism spectrum disorder // *Methods Mol. Biol.* 2012. Vol. 838. P. 115–135.
32. *Mayer E. A., Tillisch K., Gupta A.* Gut/brain axis and the microbiota // *J. Clin. Invest.* 2015. Vol. 125(3). P. 926–938.
33. *Nagarajan R. P., Patzel K. A., Martin M.* et al. MECP2 promoter methylation and X chromosome inactivation in autism // *Autism Res.* 2008. N 1. P. 169–178.
34. *Napoli E., Russo S., Casula L.* et al. Array-CGH Analysis in a Cohort of Phenotypically Well-Characterized Individuals with “Essential” Autism Spectrum Disorders // *J. Autism Dev. Disord.* 2018. Vol. 48. P. 442–449.
35. *Ozkul Y., Taheri S., Bayram K. K.* et al. A heritable profile of six miRNAs in autistic patients and mouse models // *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10. P. 1–14.
36. *Pizzo L., Jensen M., Polyak A.* et al. Rare variants in the genetic background modulate cognitive and developmental phenotypes in individuals carrying disease-associated variants // *Genet. Med.* 2019. Vol. 21. P. 816–825.
37. *Pu Y., Yang J., Chang L.* et al. Maternal glyphosate exposure causes autism-like behaviors in offspring through increased expression of soluble epoxide hydrolase // *PNAS.* 2020. Vol. 117. N 21. P. 11753–11759.
38. *Rylaarsdam L., Guemez-Gamboa A.* Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder // *Front Cell Neurosci.* 2019. Vol. 13. P. 385.
39. *Robea M., Luca A.-C., Ciobica A.* Relationship between Vitamin Deficiencies and Co-Occurring Symptoms in Autism Spectrum Disorder // *Medicine.* 2020. Vol. 56. P. 245–260.
40. *Saghazadeh A., Ahangari N., Hendi K.* et al. Status of essential elements in autism spectrum disorder: Systematic review and meta-analysis // *Rev. Neurosci.* 2017. Vol. 28. P. 783–809.
41. *Samaco R. C., Hogart A., LaSalle J. M.* Epigenetic overlap in autism-spectrum neurodevelopmental disorders: MECP2 deficiency causes reduced expression of UBE3A and GABRB3 // *Hum. Mol. Genet.* 2005. Vol. 14. P. 483–492.
42. *Sandin S., Lichtenstein P., Kuja-Halkola R.* et al. The Familial Risk of Autism // *JAMA.* 2014. Vol. 311. P. 1770–1777.
43. *Sanna A., Firinu D., Zavattari P., Valera P.* Zinc Status and Autoimmunity: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Nutrients.* 2018. Vol. 10. P. 68.
44. *Sampino S., Juszczak G. R., Zacchini F.* et al. Grand-paternal age and the development of autism-like symptoms in mice progeny // *Transl. Psychiatry.* 2014. Vol. 4. P. 386–390.
45. *Schaaf C. P., Boone P. M., Sampath S.* et al. Phenotypic spectrum and genotype–phenotype correlations of NRXN1 exon deletions // *Eur. J. Hum. Genet.* 2012. Vol. 20. P. 1240–1247.
46. *Shaw W.* Elevated urinary glyphosate and Clostridia metabolites with altered dopamine metabolism in triplets with two of the three having an autistic spectrum disorder and the other a suspected seizure disorder: a case study with potential implications to autism // *Integrative Medicine: Clinical Journal.* 2017. Vol. 16. P. 50–57.
47. *Shih P.-Y., Hsieh B.-Y., Lin M.-H.* et al. CTTNBP2 Controls Synaptic Expression of Zinc-Related Autism-Associated Proteins and Regulates Synapse Formation and Autism-like Behaviors // *Cell Rep.* 2020. Vol. 31. P. 107.
48. *Stathopoulos S., Gaujoux R., Lindeque Z.* et al. DNA Methylation Associated with Mitochondrial Dysfunction in a South African Autism Spectrum Disorder Cohort // *Autism Res.* 2020. Vol. 13. P. 1079–1093.



49. *Tamouza R., Fernell E., Eriksson M. A. et al.* HLA Polymorphism in Regressive and Non-Regressive Autism: A Preliminary Study // *Autism Res.* 2019. Vol. 13. P. 182–186.
50. *Veroniki A. A., Cogo E., Rios P. et al.* Comparative safety of anti-epileptic drugs during pregnancy: A systematic review and network meta-analysis of congenital malformations and prenatal outcomes // *BMC Med.* 2017. Vol. 15. P. 1–20.
51. *Vyas Y., Lee K., Jung Y., Montgomery J. M.* Influence of maternal zinc supplementation on the development of autism-associated behavioural and synaptic deficits in offspring Shank3-knockout mice // *Mol. Brain.* 2020. Vol. 13. P. 1–18.
52. *Wan H., Zhang C., Li H. et al.* Association of maternal diabetes with autism spectrum disorders in offspring // *Medicine.* 2018. Vol. 97. P. 138.
53. *Wang Y., Tang S., Xu S. et al.* Maternal Body Mass Index and Risk of Autism Spectrum Disorders in Offspring: A Meta-analysis // *Sci. Rep.* 2016. N 6. P. 342–348.
54. *Wang C., Geng H., Liu W., Zhang G.* Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism // *Medicine.* 2017. Vol. 96(18). P. 66–76.
55. *Wiśniewiecka-Kowalnik B., Nowakowska B. A.* Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder—Current evidence in the field // *J. Appl. Genet.* 2019. Vol. 60. P. 37–47.
56. *Wong C. C. Y., Smith R. G., Hannon E. et al.* Genome-wide DNA methylation profiling identifies convergent molecular signatures associated with idiopathic and syndromic autism in post-mortem human brain tissue // *Hum. Mol. Genet.* 2019. Vol. 28. P. 2201–2211.
57. *Waye Mary M., Cheng Ho Yu.* Genetics and epigenetics of autism: a review // *Psychiatry and Clinical Neurosciences.* 2018. Vol. 72. P. 228–244.
58. *Woodbury-Smith M., Scherer S. W.* Progress in the genetics of autism spectrum disorder // *Dev. Med. Child Neurol.* 2018. Vol. 60. P. 445–451.
59. *Wu S., Wu F., Ding Y. et al.* Advanced parental age and autism risk in children: A systematic review and meta-analysis // *Acta Psychiatr. Scand.* 2016. Vol. 135. P. 29–41.
60. *Wu S., Ding Y., Wu F. et al.* Family history of autoimmune diseases is associated with an increased risk of autism in children: A systematic review and meta-analysis // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. Vol. 55. P. 322–332.
61. *Xu X., Li C., Gao X. et al.* Excessive UBE3A dosage impairs retinoic acid signaling and synaptic plasticity in autism spectrum disorders // *Cell Res.* 2018. Vol. 28. P. 48–68.

*Стаття надійшла до редакції 7.06.21*

*доопрацьована 29.06.21*

*прийнята до друку 06.07.21*

---

**AUTISTIC SPECTRUM DISORDERS: GENETIC AND EPIGENETIC ASPECTS  
(REVIEW OF MODERN FOREIGN PUBLICATIONS)**

---

**O. Lanovenko**

*Kherson State University  
27, University St., Kherson 73000, Ukraine  
e-mail: lanovenko2708@gmail.com*

Autism spectrum disorders (ASD) are diseases of a complex interaction of heredity and the environment with an estimate of heritability from 40 to 80 %, the etiology of which is multigenic and heterogeneous (people with similar pathogenetic variants have completely different phenotypes). Genetic and epigenetic factors play a key role in the onset of pathology; among them, the most important are gene copy number variations (CNV), single nucleotide polymorphisms (SNP), epigenetic modulators. Different variations in gene copy numbers have been identified in people with autism, which explains the heterogeneous genetic architecture of the disorder. Short single nucleotide polymorphisms have been identified in the genes of neuronal receptors and proteins of cell detoxification, the metabolism of neurotransmitters and metabolites, in particular, the metabolic chains of methylation and transsulfuration. Despite the identification of about 800 risk genes for ASD, none of them is the cause of more than 1 % of all cases of pathology. Among the recently identified 215 candidate genes, 19.5 % are epigenetic regulators. During the formation of autism spectrum disorders, nuclear and cytoplasmic mechanisms regulating gene activity undergo epigenetic transformation: chromatin remodeling, transcription, DNA methylation in the promoter region, alternative mRNA splicing, translation regulation, post-transcriptional regulation using microRNA, protein ubiquitination, protein degradation. Mutant proteins encoded by candidate ASD genes interfere with normal cell proliferation, correct synaptic architecture, and correct synaptic function. Most often, people with autism have inherited changes with incomplete penetrance, variable severity, or both. The most studied environmental risk factors that potentially contribute to the onset of ASD in offspring are: the age of the spouses (especially the father), perinatal risk factors, impaired metabolism of vitamins (in particular, vitamin D) and trace elements (zinc, chromium, magnesium), obesity, and Diabetes mellitus in the mother ... In the urine of children with autism, the content of dopamine is significantly increased, and the normal microflora in the intestine is disrupted as a result of replacing beneficial probiotics with clostridium bacteria. Given the complexity of the etiology of autism and the growing prevalence of new confirmed cases of ASD around the world, there is an urgent need to find effective diagnostic methods and identify the main risk factors for pathology.

*Keywords:* autism spectrum disorders, genetics, epigenetics

## ЛІПІДНИЙ СКЛАД ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЕТИЛТІОСУЛЬФАНІЛАТУ І ХРОМ (VI)-ІНДУКОВАНОЇ ТОКСИЧНОСТІ

**Б. Котик, Р. Іскра**

*Інститут біології тварин НААН  
вул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: kicyniabo@gmail.com*

Етилтіосульфанілат (ЕТС) – це синтетична сульфуроорганічна сполука, що належить до класу речовин тіосульфонатів, які є структурними аналогами природних біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження. Тіосульфонати, в т. ч. ЕТС, впливають на регуляцію про/антиоксидантного статусу, ліпідного та білкового обміну у тканинах щурів. Сполуки Cr(VI) характеризуються потужними прооксидантними властивостями та високою токсичністю щодо клітин живих організмів. Токсична дія Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу супроводжується порушеннями механізмів ліпідного обміну, проте методи корекції цих порушень достатньо не досліджені. Тому метою роботи було дослідити вплив ЕТС на ліпідний склад плазми крові щурів за дії K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-індукованої токсичності. Лабораторних тварин ділили на 7 груп. Тварини I групи отримували внутрішньоочеревинно щоденно 150 мкл фізрозчину протягом 7-ми діб. Дослідним групам III та IV вводили K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> внутрішньоочеревинно щоденно в дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла, протягом 7-ми (III група) та 14-ти діб (IV група). Щури II групи отримували внутрішньошлунково щоденно 1000 мкл соняшникової олії протягом 14-ти діб, після цього внутрішньоочеревинно щоденно їм вводили 150 мкл фізіологічного розчину протягом 7-ми діб. Олійний розчин ЕТС із розрахунку 100 мг/кг маси тіла вводили тваринам V групи внутрішньошлунково щоденно протягом 14-ти діб, після цього внутрішньоочеревинно щоденно вводили 150 мкл фізіологічного розчину протягом 7-ми діб. Тваринам VI та VII груп внутрішньошлунково вводили олійний розчин ЕТС із розрахунку 100 мг/кг маси тіла щоденно протягом 14-ти діб, після цього внутрішньоочеревинно щоденно вводили K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7-ми (VI група) та 14-ти діб (VII група). Тварин декапітували за тіопенталової анестезії, після чого проводили забір крові та розділення її на еритроцити і плазму. Дія Cr(VI) упродовж 7-ми (III група) та 14-ти діб (IV група) призводила до накопичення вмісту загальних ліпідів і триацилгліцеролів у плазмі крові щурів, а відсоток неестерифікованого холестеролу, навпаки, знижувався. ЕТС частково компенсує Cr(VI)-індуковану токсичність за рахунок пригнічення процесів накопичення вмісту загальних ліпідів (VI, VII групи) і триацилгліцеролів (VI група).

*Ключові слова:* ліпідний склад, тіосульфонати, етилтіосульфанілат, біхромат калію

Сполуки Хрому (Cr) широко розповсюджені у навколишньому середовищі й активно використовуються людиною в різних галузях, зокрема, у промислових цілях [20]. Cr є незамінним мікроелементом для людського організму. У природі Cr поширений у трьох основних формах Cr(O), Cr(III) та Cr(VI), серед яких Cr(III) вважається корисним і важливим елементом. Його дефіцит може спровокувати порушення обміну глюкози, ліпідів і серцево-судинні захворювання [8, 14]. Cr(VI), у свою чергу, характеризується високим

рівнем токсичності щодо екосистеми та живих організмів. Cr(VI) є одним із восьми металів, які входять у топ пріоритетності сполук за класифікацією їхньої отруйності [8]. Сполуки хрому Cr(VI) активно використовуються у хімічній промисловості (дублення шкіри, обробка деревини, виробництво барвників і сплавів, нанесення антикорозійного покриття); вони наявні в автомобільних вихлопах і сигаретному димі. Довготривалий вплив Cr(VI) може завдавати серйозної шкоди організму людини, спричиняючи астму, дерматит, хронічний бронхіт, гіпертонію, мутації ДНК, рак і ушкодження яєчок [20].

Cr(VI) за структурою нагадує сульфат, що дає йому змогу без перешкод потрапляти у клітину сульфатними каналами. Усередині клітин Cr(VI) поетапно відновлюється до Cr(III). Процеси відновлення Cr(VI) супроводжуються накопиченням великої кількості активних форм кисню (АФО). Активація процесів генерації АФО є однією із основних причин Cr(VI)-індукованої токсичності. Літературні дані свідчать, що дія біхроматів і сполук Cr(VI) призводить до оксидативного стресу і пероксидного окиснення ліпідів [18]. Довготривалий вплив Cr(VI) супроводжується зростанням рівня глюкози, триацилгліцеролів і холестеролу в сироватці крові [5].

Механізми, які лежать в основі Cr(VI)-індукованого порушення ліпідного обміну, достатньо не описані. Поряд із цим, було висунуто припущення, що оксидативний стрес, індукований дією Cr(VI), може бути основною причиною порушення обміну ліпідів. Згідно з даними літератури, основними потенційними мішенями щодо Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу можуть бути SREBPs і FAS. Ці молекули задіяні у метаболізмі ліпідів, триацилгліцеролів, холестеролу, в синтезі жирних кислот і акумуляції ліпідів у органах та периферичних тканинах. Проте немає чіткого розуміння механізмів негативного впливу Cr(VI) на ліпідний обмін [14].

Останніми роками ведеться активний пошук сполук, переважно з антиоксидантними властивостями, які мали би протекторні властивості щодо Cr(VI)-індукованої токсичності. БАР з антиоксидантними властивостями здатні знижувати інтенсивність Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу [13, 17, 20]. Дія N-ацетилцистеїну стабілізує механізми ліпідного обміну за умов токсичної дії Cr(VI). Проте чисельність літературних джерел стосовно регуляції Cr(VI)-індукованих порушень ліпідного обміну за участі антиоксидантів і БАР є суттєво обмеженою [14].

ЕТС є синтетичною сульфуроорганічною сполукою, яка належить до класу речовин тіосульфонатів. Тіосульфонати – це сполуки, які є синтезованими аналогами природних БАР, виділених із часнику, цибулі, цвітної капусти й броколі. Тіосульфонати є стабільнішими, ніж їхні природні аналоги, виявляють широкий спектр біологічних властивостей і характеризуються низькою токсичністю [15, 19]. Попередні дослідження свідчать, що ЕТС має антиоксидантні властивості й частково компенсує Cr(VI)-індукований оксидативний стрес у крові та печінці щурів [11, 12]. ЕТС бере участь у регуляції ліпідного обміну за рахунок перерозподілу класів ліпідів, а також сприяє зниженню вмісту моно-, ди-, триацилгліцеролів і вільних жирних кислот у тканині печінки щурів [19]. Проте відсутні літературні дані, які описують вплив тіосульфонатів і ЕТС, зокрема, на показники обміну ліпідів за дії Cr(VI)-індукованої токсичності. Тому, зважаючи на антиоксидантні властивості ЕТС і його роль у метаболізмі ліпідів, метою нашої роботи було дослідити вплив цієї сполуки на ліпідний склад у плазмі крові щурів за дії  $K_2Cr_2O_7$ -індукованого оксидативного стресу.

#### Матеріали та методи

Дослідження проведено на базі лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН. Самці-аналоги лабораторних щурів (130–140 г) були

розділені на 7 груп по 5 тварин у кожній. Усім групам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Щурам I групи (інтактний контроль) внутрішньоочеревинно щоденно вводили 150 мкл фізрозчину упродовж 7-ми діб. Щурам II групи внутрішньошлунково щоденно вводили 1000 мкл олії протягом 14-ти діб (олія марки «Олейна», традиційна: рафінована, дезодорована, виморожена; виробник ПрАТ з П «ДООЗ»; сертифіковано згідно зі стандартом ДСТУ 4492: 2017 та відповідає вимогам ISO 14024), після цього внутрішньоочеревинно щоденно вводили 150 мкл фізіологічного розчину протягом 7-ми діб. Щурам III та IV груп внутрішньоочеревинно щоденно вводили калій біхромат ( $K_2Cr_2O_7$ ), розчинений у 150 мкл фізіологічного розчину, в перерахунку 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7-ми діб (III група) і 14-ти діб (IV група). Тваринам V групи внутрішньошлунково щоденно вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС (етилтіосульфат розчинений в олії марки «Олейна», що аналогічна в II групі) з розрахунку 100 мг ЕТС/кг маси тіла протягом 14-ти діб, після цього внутрішньоочеревинно щоденно вводили 150 мкл фізіологічного розчину протягом 7-ми діб. Щурам VI та VII груп внутрішньошлунково щоденно вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС з розрахунку 100 мг ЕТС/кг маси тіла протягом 14-ти діб, після цього внутрішньоочеревинно щоденно вводили  $K_2Cr_2O_7$ , розчинений у 150 мкл фізіологічного розчину, в перерахунку 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7-ми діб (VI група) та 14-ти діб (VII група). У досліді проведено вивчення дії новоствореної синтезованої сполуки етил-4-амінобензентіосульфату (ЕТС) на ліпідний склад плазми крові щурів. ЕТС синтезований на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» відповідно до протоколу, детально описаного в роботах [15, 16]. Кров відбирали після декапітації тварин за тіопенталової анестезії.

Плазму крові використовували як матеріал для проведення досліджень. Екстрагування ліпідів плазми крові (1 см<sup>3</sup>) проводили згідно з методом Фолча за додавання суміші хлороформ-метанолу у співвідношенні 2:1 (об/об) [6]. Для очищення екстракту ліпідів додавали 0,74 М розчин KCl. Визначення вмісту загальних ліпідів проводили гравіметричним методом, зважуючи сухий залишок [9].

Визначення окремих класів ліпідів проводили методом тонкошарової хроматографії на силікагелі за наявності комплексу розчинників гексан – діетиловий ефір – льодяна оцтова кислота (70 : 30 : 1). Проявлення пластинок зі силікагелем проводили за допомогою парів кристалічного йоду [9], окремі класи ліпідів ідентифікували за допомогою величини R<sub>f</sub> [10].

Сканування проявлених пластинок проводили за участі HP Scanjet G2710 (Китай). Проявлені пластинки сканували (HP Scanjet G2710, Китай). Після цього отримували комп'ютерні фореграми (програмне забезпечення TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics Limited, Ньюкасл-апон-Тайн, Великобританія)) та проводили кількісний аналіз і підрахунок вмісту різних класів ліпідів у відсотках від загальної їхньої фракції. У плазмі крові тварин визначали вміст загальних ліпідів, фосfolіпідів, моноацилгліцеролів і діацилгліцеролів, неестерифікованих жирних кислот, неестерифікованого / естерифікованого холестеролу, триацилгліцеролів.

Обробку отриманих результатів проводили за допомогою середнього арифметичного (M) ± стандартної похибки (S.E.M). Оцінку статистично вірогідних відмінностей між групами проводили за допомогою методу one-way ANOVA. Відмінності були статистично значущими при P<0,05. Усі розрахунки проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel.

### Результати і їхнє обговорення

У ході дослідження нами встановлено, що внутрішньоочеревинне введення біхромату калію протягом 7-ми та 14-ти діб призводить до зростання вмісту загальних ліпідів плазми крові щурів на 27 та 45 % відповідно (I група). Згідно з літературними даними, токсична дія важких металів на пряму пов'язана з розвитком гіперліпідемії, хоча механізми порушення ліпідного обміну за впливу Cr(VI) достатньо не досліджені. Експериментальні дослідження свідчать про те, що вплив таких важких металів як As, Hg та Pb супроводжується розвитком гіперліпідемії у тварин [2, 3, 22]. Автори також припускають, що дія Cr(VI) призводить до посилення експресії SREBP-1 з подальшою акумуляцією ліпідів у органах і периферичних тканинах. SREBP-1 активує сигнальні шляхи, задіяні у синтезі вільних жирних кислот із цитрату. SREBP-1-індуковане накопичення вільних жирних кислот, у свою чергу, додатково спричиняє посилення дисліпідемії за рахунок опосередкованої стимуляції синтезу триацилгліцеролів і холестеролу [14].

Показники ліпідного складу плазми крові щурів (M±S.E.M., n=5)

Показники ліпідного складу	Групи тварин						
	I – Control	II – Oil	III – Cr(VI) 7 days	IV – Cr(VI) 14 days	V – ETS	VI – ETS + Cr(VI) 7 days	VII – ETS + Cr(VI) 14 days
Заг. ліпіди, г/л	9,1±0,25	10 ±0,41	11,6±0,23	13,07±0,53	9,9 ±0,17	10,13±0,48	11,87±0,13
		*** #	*** #	*** #	*** #	*** #	*** #
Фосфоліпіди, %	26,35±1,60	25,99±1,55	23,58±1,50	25,93±1,60	25,55±3,99	26,43±0,67	26,55±0,40
Моноацилгліцероли+	17,32±0,56	16,90±1,26	16,55±1,25	16,64±0,36	15,53±0,34	16,03±0,96	15,85±0,73
Діацилгліцероли, %							
Неестерифіковані жирні кислоти, %	8,09±0,27	10,52±0,78	7,07±1,30	9,54±1,68	13,03±0,08	12,18±1,56	9,21±0,20
Неестерифікований холестерол, %	15,01±0,25	15,37±0,39	13,04±0,78	12,54±1,73	14,93±0,35	12,8±0,47	13,82±0,52
	* #	* #	* #	* #	* #	* #	* #
Триацилгліцероли, %	15,05±0,46	14,57±0,63	19,72±0,88	17,83±1,34	13,97±1,91	14,58±1,06	18,57±0,55
	* ##	* ##	* ##	* ##	####	* ####	* ##
Естерифікований холестерол, %	18,19±1,54	16,89±1,54	20,02±1,01	17,53±0,40	16,99±2,41	17,97±0,48	16,01±0,60

**Примітка:** Статистично вірогідна різниця показників II, III, IV, V, VI, VII, VIII груп щодо показників I групи (контролю): \* – \*\*\* (P<0,05 – P<0,001); статистично вірогідна різниця показників V, VI, VII, VIII груп щодо показників II групи: # – ### (P<0,05 – P<0,001)

Внутрішньошлункове 14-добове введення ETS зокрема (V група) та ETS за наступної дії Cr(VI) протягом 7-ми діб (VI група) не призводить до зміни вмісту загальних ліпідів у плазмі крові тварин відповідних дослідних груп щодо показників II групи.

Попередній внутрішньошлунковий вплив ETS за наступної дії Cr(VI) протягом 14-ти діб призводив до збільшення вмісту загальних ліпідів на 19 % у плазмі крові щурів VII групи порівняно з II групою. Проте відсоток зростання вмісту загальних ліпідів плазми крові тварин VII групи (19 %) порівняно з II групою був на 25 % нижчим, ніж відсоток збільшення вмісту загальних ліпідів крові тварин IV групи (44 %) порівняно з I групою.

Згідно з літературними даними, тіосульфати сприяють зниженню вмісту загальних ліпідів у тканині печінки щурів. Природні сульфуроорганічні сполуки часнику та цибулі, які вважаються аналогами тіосульфатів, також мають гіполіпідемічний ефект і сприяють зниженню вмісту загальних ліпідів у крові [19]. Аліцин, природний сірковмісний аналог тіосульфатів, будучи задіяний у механізмах регуляції ліпідного метаболізму, знижує інтенсивність акумуляції ліпідів у HepG2 за рахунок активації сигнальних шляхів PPAR-RA та пригнічення PPARG. Протеїн PPARA є ядерним рецептором-регулятором ліпідного

обміну в печінці. Він активується лігандом у процесі гетеродимеризації з ретиноїдним X-рецептором. Стимуляція експресії PPARA прискорює активацію, транспорт, зв'язування, мітохондріальне  $\beta$ -окиснення жирних кислот у печінці. Пригнічення експресії PPARG, у свою чергу, знижує чутливість до інсуліну, послаблює інтенсивність адипогенезу та накопичення ліпідів [4].

Отже, ефект Cr(VI) протягом 7-ми (III група) та 14-ти (IV група) діб призводить до накопичення вмісту загальних ліпідів у плазмі, проте попередній 14-добовий вплив ETC нівелює гіперліпідемічний ефект, спричинений 7-добовою дією Cr(VI) (VI група). ETC також суттєво знижує інтенсивність зростання вмісту загальних ліпідів у крові тварин за 14-добового впливу Cr(VI) (VII група).

Дія Cr(VI) протягом 7-ми та 14-ти діб супроводжувалася вірогідним зниженням вмісту неестерифікованого холестеролу у плазмі крові щурів III та IV дослідних груп на 13 та 16 % відповідно порівняно з I групою.

Внутрішньошлункове 14-добове ведення ETC за наступної дії Cr(VI) протягом 7-ми (VI група) та 14-ти діб (VII група) також спричиняє вірогідне зниження концентрації неестерифікованого холестеролу у крові щурів дослідних груп на 17 і 10 % відповідно щодо показників II групи.

Проте внутрішньошлункова дія ETC протягом 14-ти діб (V група) не призводить до зміни вмісту неестерифікованого холестеролу у плазмі крові тварин порівняно з показниками II групи.

Можливо, саме потужні прооксидантні властивості Cr(VI) можуть бути причиною зниження вмісту неестерифікованого холестеролу. Важкі метали і Cr(VI) зокрема є ініціаторами процесів генерації АФО. Тривалий вплив Cr(VI) викликає важку форму клітинного оксидативного стресу, що згодом призводить до пероксидного окиснення ліпідів мембрани та холестеролу зокрема [1]. Імовірно, Cr(VI)-індукована активація процесів пероксидного окиснення ліпідів призводить до посилення акумуляції неестерифікованого холестеролу в мембрані клітин, за рахунок чого концентрація неестерифікованого холестеролу у плазмі крові частково знижується. Неестерифікований холестерол переважно локалізується у плазматичній мембрані [7] та є важливим структурним компонентом клітинної мембрани еукаріот. Молекули холестеролу відіграють ключову роль у підтриманні текучості, фізико-хімічних властивостей плазматичної мембрани та стабілізації плазмалемі щодо структурних пошкоджень [21].

Отже, дія Cr(VI) в усіх дослідних групах (III, IV, VI, VII групи) призводить до зниження вмісту неестерифікованого холестеролу у крові щурів. Попередній 14-добовий вплив ETC у дозі 100 мг/кг маси тіла не впливає на Cr(VI)-індуковане зниження вмісту неестерифікованого холестеролу у плазмі крові тварин (VI, VII групи).

Ми спостерігали вірогідне збільшення концентрації триацилгліцеролів після 7-добового (III група) та 14-добового (IV група) впливу Cr(VI) у плазмі крові щурів на 31 та 18 % відповідно порівняно з I групою. Літературні дані свідчать про те, що дія Cr(VI) може призводити до посилення експресії SREBP1. Активація SREBP1, у свою чергу, впливає на метаболізм ліпідів за рахунок підвищення рівня триацилгліцеролів і акумуляції ліпідів у органах та периферичних тканинах [14].

Внутрішньошлункова 14-добова дія ETC зокрема (V група) та ETC за наступної дії Cr(VI) протягом 7-ми діб (VI група) не спричиняла суттєвих зміни концентрації триацилгліцеролів у плазмі крові тварин відповідних дослідних груп щодо показників II групи. Більше того, відсоток зростання концентрації триацилгліцеролів у крові щурів VI

групи (1 %) порівняно з II групою був на 30 % нижчим, ніж відсоток збільшення вмісту триацилгліцеролів крові тварин III групи (31 %) порівняно з I групою.

Відомо, що сульфуроорганічні сполуки часнику та цибулі, аналогами яких є ЕТС, характеризуються гіполіпідемічними властивостями, сприяють зниженню вмісту триацилгліцеролів у крові, а також сповільнюють процеси формування атеросклеротичних бляшок. Вплив тіосульфонатів і ЕТС зокрема теж сприяє зниженню рівня триацилгліцеролів у плазмі крові тварин [19]. Можливо, саме антигіперліпідемічний ефект тіосульфонатів і їхніх природних аналогів може бути причиною пригнічення інтенсивності накопичення триацилгліцеролів у плазмі крові щурів за токсичної дії Cr(VI).

Проте попередня дія ЕТС за наступного впливу Cr(VI) протягом 14-ти діб (VII група) супроводжувалася вірогідним зростанням вмісту триацилгліцеролів у плазмі крові щурів на 27 % щодо показників II групи.

Отже, токсичний вплив Cr(VI) супроводжується зростанням концентрації триацилгліцеролів у крові тварин. ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла запобігає Cr(VI)-індукованій акумуляції триацилгліцеролів після 7-добового введення  $K_2Cr_2O_7$ . Проте аналогічної дози ЕТС недостатньо для регуляції вмісту триацилгліцеролів у плазмі крові щурів за 14-добового впливу  $K_2Cr_2O_7$ .

На сьогодні є дуже мало джерел літератури, які описують вплив тіосульфонатів і Cr(VI) на ліпідний обмін. Також недостатньо даних, які описували би протекторний ефект тіосульфонатів щодо метаболічних порушень, індукованих дією важких металів, та Cr(VI) зокрема. Наші попередні дослідження свідчать про те, що дія ЕТС може бути ефективною у запобіганні Cr(VI)-індукованій прооксидативній токсичності у крові та тканинах щурів. Тому подальші дослідження властивостей ЕТС як зокрема, так і в комбінації з іншими сполуками, є важливими для кращого розуміння ролі тіосульфонатів у механізмах регуляції метаболічних порушень ліпідного обміну, спричинених токсичною дією важких металів.

Узагальнення отриманих результатів свідчить про те, що токсична дія  $K_2Cr_2O_7$  супроводжується гіперліпідемічним ефектом за рахунок накопичення вмісту загальних ліпідів і триацилгліцеролів. Також дисбаланс відсоткового вмісту класів загальних ліпідів за дії Cr(VI) проявляється у зниженні рівня фракції неестерифікованого холестеролу. Попередній вплив ЕТС частково компенсує Cr(VI)-індуковану токсичність за рахунок зниження інтенсивності накопичення вмісту загальних ліпідів за 7-добового та 14-добового впливу  $K_2Cr_2O_7$  і триацилгліцеролів за 7-добового впливу  $K_2Cr_2O_7$  у плазмі крові тварин. Проте дії досліджуваної дози ЕТС недостатньо для запобігання Cr(VI)-індукованому зниженню вмісту фракції неестерифікованого холестеролу у крові щурів.

Отже, отримані нами результати вказують на те, що попередній вплив ЕТС частково стабілізує Cr(VI)-індуковані порушення ліпідного складу плазми крові тварин. Також варто провести додаткові дослідження, щоби поглибити розуміння механізмів впливу досліджуваних сполук на процеси ліпідного обміну. Ми сподіваємося, що результати наших досліджень зможуть стати частиною роботи, пов'язаної з розробкою ефективних методів профілактики та корекції порушень ліпідного обміну за умов Cr(VI)-індукованої токсичності.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Alijagic A., Islamagic E., Focak M., Suljevic D.* Effects of trivalent and hexavalent dietary chromium on blood biochemical profile in Japanese quails // *Bulg. J. Vet. Med.* 2017. Vol. 21. N 4. P. 1–18.



2. *Alya A., Ines D.B., Montassar L. et al.* Oxidative stress, biochemical alterations, and hyperlipidemia in female rats induced by lead chronic toxicity during puberty and post puberty periods // *Iran. J. Basic. Med. Sci.* 2021. Vol. 18. N 10. P. 1034–1043.
3. *Anyanwu B. O., Orish C. N., Ezejiolor A. N. et al.* Protective Effect of Costus afer Aqueous Leaf Extract (CALE) on Low-Dose Heavy Metal Mixture-Induced Alterations in Serum Lipid Profile and Hematological Parameters of Male Wistar Albino Rats // *Hindawi Journal of Toxicology.* 2020. P. 13.
4. *Cheng B., Li T., Li F.* Use of Network Pharmacology to Investigate the Mechanism by Which Allicin Ameliorates Lipid Metabolism Disorder in HepG2 Cells // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2021. P. 11.
5. *Feng H., Ha F., Hu G. et al.* Concentration of chromium in whole blood and erythrocytes showed different relationships with serum apolipoprotein levels in Cr(VI) exposed subjects // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2018. Vol. 50. P. 384–392.
6. *Folch J., Lees M., Stanley G.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226. N 1. P. 497–509.
7. *García-Ruiz C., Ribas V., Baulies A., Fernández-Checa C.* Mitochondrial Cholesterol and the Paradox in Cell Death // *Handb Exp. Pharmacol.* 2017. Vol. 240. P. 189–210.
8. *Hassan M., Abd-Elwahab M., Megahed R., Mohammed A.* An Evaluation of Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, and Genotoxicity Induced by Acute Toxicity of Hexavalent Chromium and Comparison of the Possible Protective Role of Selenium and Vitamin E on These Effects // *Ain Shams J. Forensic Med. Clin. Toxicol.* 2019. Vol. 33. N 2. P. 48–58.
9. *Kates M.* Techniques of lipidology. Amsterdam // Elsevier. 1986. Vol. 451. P. 13.
10. *Kondrakhin I. P., Kurilov N. V., Malakhov A. G.* Clinical laboratory diagnostics in veterinary science. M: Agropromizdat, 1985. P. 287.
11. *Kotyk B. I., Iskra R. Ya., Slivinska O. M. et al.* Effect of ethylthiosulfanylate and chrome(VI) on the pro/antioxidant system in rats blood // *The Animal Biology.* 2019. Vol. 21. N 4. P. 38–45.
12. *Kotyk B. I., Iskra R. Ya., Slivinska O. M. et al.* Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver // *The Ukrainian Biochemical Journal.* 2020. Vol. 92. N 5. P. 78–86.
13. *Li J., Zheng X., Ma X. et al.* Melatonin protects against chromium(VI)-induced cardiac injury via activating the AMPK/Nrf2 pathway // *J. Inorg. Bioch.* 2019. Vol. 197. P. 1–10.
14. *Li X., He S., Zhou J. et al.* Cr(VI) induces abnormalities in glucose and lipid metabolism through ROS/Nrf2 signaling // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021. Vol. 219. P. 123–131.
15. *Lubenets V. I., Havryliak V. V., Pylypets A. Z., Nakonechna A. V.* Changes in the spectrum of proteins and phospholipids in tissues of rats exposed to thiosulfonates // *Regul. Mech. Biosyst.* 2018. Vol. 9. N 4. P. 495–500.
16. *Lubenets V., Karpenko O., Ponomarenko M. et al.* Development of new antimicrobial compositions of thiosulfonate structure // *Chem. Chem. Technol.* 2013. Vol. 7. P. 119–124.
17. *Lv Y., Jiang H., Li S. et al.* Sulforaphane prevents chromium-induced lung injury in rats via activation of the Akt/GSK-3 $\beta$ /Fyn pathway // *Environ. Pollut.* 2020. Vol. 259. P. 1–11.
18. *Machado A.B., Caprara J.F., Diehl de Franceschi I. et al.* Effects of chronic exposure to hexavalent chromium in water on oxidative stress parameters in Wistar rats // *Acta Sci. Biol. Sci.* 2019. Vol. 41. N 1. P. 1–10.
19. *Pylypets A. Z., Iskra R. Ya., Havryliak V. V. et al.* Effects of thiosulfonates on the lipid composition of rat tissues // *The Ukrainian Biochemical Journal.* 2017. Vol. 89. N 6. P. 56–62.

20. Sahar H. O., Sherif M. S. Ameliorative effects of grape seed oil on chromium-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats // *Slov. Vet. Res.* 2020. Vol. 53. N 3. P. 1–13.
21. Saptarshi C., Doktorova M., Molugu T. et al. How cholesterol stiffens unsaturated lipid membranes // *PNAS.* 2020. Vol. 117. N 36. P. 21896–21905.
22. Shun C-H., Yuan T-H., Hung S-H. et al. Assessment of the hyperlipidemia risk for residents exposed to potential emitted metals in the vicinity of a petrochemical complex // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2021. Vol. 28. N 22. P. 27966–27975.

*Стаття надійшла до редакції 15.11.21*

*доопрацьована 13.12.21*

*прийнята до друку 16.12.21*

## INDICATORS OF THE LIPID COMPOSITION OF RAT BLOOD PLASMA UNDER THE ACTION OF ETHYLTHIOSULFANYLATE AND CHROME (VI) -INDUCED TOXICITY

**B. Kotyk, R. Iskra**

*Institute of Animal Biology NAAS  
38, Vasyl Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: kicyniabo@gmail.com*

Ethylthiosulfanylate (ETS) is synthetic organosulfur compound and belongs to the class of thiosulfonates, which are the structural analogues of natural BACs of plant origin. Thiosulfonates and ETS in particular affect the regulation of pro/antioxidant status, lipid and protein metabolism in the tissues of laboratory rats. Cr(VI) compounds are characterized by potent prooxidant properties and high toxicity for cells of living organisms. The toxic effect of Cr(VI)-induced oxidative stress is accompanied by lipid metabolism disorders and the correction methods have not been sufficiently studied. The aim of our study was to investigate the effect of ETS on some indicators of lipid metabolism in blood plasma of rats under the action of  $K_2Cr_2O_7$ -induced toxicity. Animals were divided into 7 groups. Animals of group I injected daily intraperitoneally with 150  $\mu$ l of physiological solution for 7 days. Experimental groups III and IV were administered daily intraperitoneally with  $K_2Cr_2O_7$  in a dose of 2.5 mg Cr(VI)/kg body weight, for 7 (group III) and 14 days (group IV). Rats of group II received intragastric injection of 1000  $\mu$ l of oil daily for 14 days, than animals were injected daily intraperitoneally with 150  $\mu$ l of physiological solution for 7 days. Experimental group V was intragastrically injected with ETS oily solution at a rate of 100 mg/kg of body weight daily for 14 days, than animals were injected intraperitoneally 150  $\mu$ l of physiological solution daily for 7 days. Animals of groups VI and VII were intragastrically administered with ETS oily solution at a rate of 100 mg/kg of body weight daily for 14 days, than animals were injected intraperitoneally daily  $K_2Cr_2O_7$  in a dose of 2.5 mg Cr(VI)/kg body weight, for 7 (group VI) and 14 days (group VII). Rats were decapitated under thiopental anesthesia, after which blood was taken and divided into erythrocytes and plasma. The Cr(VI) action for 7 (group III) and 14 days (group IV) led to an increase in the content of total lipids and triglycerides in the blood plasma of rats, but the percentage of nonesterified cholesterol decreased. ETS partially compensates the Cr(VI)-induced toxicity by reducing the intensity of total lipids (groups VI, VII) and triglycerides (group VI) accumulation.

*Keywords:* lipid composition, thiosulfonates, ethylthiosulfanylate, potassium dichromate

**A DATABASE OF SEQUENCED GENOMES OF DIFFERENT  
STREPTOMYCES ALBUS J1074 STRAINS AND USES THEREOF**

**B. Dolya<sup>1</sup>, T. Busche<sup>2</sup>, T. S. Jørgensen<sup>4</sup>, K. Ochi<sup>3</sup>, T. Gren<sup>4</sup>, T. Weber<sup>4</sup>,  
J. Kalinowski<sup>2</sup>, A. Luzhetskyy<sup>5</sup>, B. Ostash<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
\*e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua

<sup>2</sup>CeBiTec, Bielefeld University  
25, Universitatstrasse, Bielefeld 33615, Germany

<sup>3</sup>Department of Life Sciences, Hiroshima Institute of Technology  
Miyake 2-1-1, Saeki-ku, Hiroshima 731-5193, Japan

<sup>4</sup>The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University  
of Denmark Kemitorvet, Build. 220, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark

<sup>5</sup>Department of Pharmacy, Saarland University  
Campus C2.3, Saarbrücken 66123, Germany

*Streptomyces albus* J1074 has recently emerged as a powerful chassis strain for natural product research and discovery, as well as model to investigate various aspects of actinobacterial biology. A number of genetic tools have been developed to facilitate the use of this strain for the aforementioned purposes. One of the promising approaches is to introduce into J1074 genome mutations that would improve the antibiotic-producing capacity of J1074. Particularly, we reported a collection of spontaneous and genomically engineered J1074 mutants carrying mutation in genes for ribosomal protein S12, RNA polymerase beta subunit etc. We took advantage of this collection to build an in-house database which would host (both current and future) the primary and curated sequencing data for these mutants. The database is available at <https://biotools.online/media/>. The main benefits of the database lie in the known pedigree of the strains, which allows deep interpretation of the data. For example, there is lively – and unresolved – debate on the origins and consequences of the GC composition in actinobacteria. A better understanding of this issue should improve our knowledge of genome evolution in bacteria and will have a number of biotechnological ramifications. We used our *Streptomyces albus* J1074 dataset as an experimental model to reveal genome-wide spectrum of mutation, which appears to be biased towards elevated GC content. We also included the high-quality genomes of the other streptomycetes into our database for comparative purposes. The genomic GC content in streptomycetes varies from 75 % to 66.5 %, with median value being 72 %. The GC content of secondary metabolic genes of *S. coelicolor* is less variable than that of primary metabolic genes, an indicative of different selection pressure on these gene groups. Along with selective constraints, the peculiarities of *Streptomyces* DNA mismatch repair might contribute to the skewed GC content of their genomes. Further uses of the database may include the development of a more precise knowledge of the mutation rate as well as population genetic processes within this species and genus.

**Keywords:** *Streptomyces albus*, genome sequencing, mutation spectra

Streptomycetes are Gram-positive bacteria of the phylum *Actinobacteria* known in first place for their ability to produce an impressive array of bioactive small molecules [1]. Linear

genomes and high GC content (around 73 %) are the defining traits of *Streptomyces* genomics. The reasons for GC-rich DNA in streptomycetes are unclear. In a larger context of bacterial genomics, the GC nucleotide content is within 25 %–75 % range [2]; this puts *Streptomyces* at one extreme of variation of GC content within entire *Bacteria* kingdom. Given that actinobacteria are among the most deeply branching lineages in bacterial phylogenetic tree [3, 4], elucidation of the reasons for and potential advantages of high GC content in *Streptomyces* may help better understand the factors that shape nucleotide composition of bacterial genomes. This issue is far from being settled. Biased mutation process was an initial assumption about differential GC content, although more recent studies questioned this view by providing the evidence for universal tendency of accumulation of AT bases [2]. The other studies pointed to relationship between GC content and aerobic versus anaerobic lifestyles [5]. As most of a bacterial genome is allocated to protein-coding sequences, the GC content could be tightly linked to selective processes acting on codon level [6, 7]. All above mentioned works based their theories about GC content from comparison of limited datasets collected across different species. Both factors undermine the validity of respective conjectures for following reasons. First, one cannot guarantee that trends observed for selected sets of genes will be true for the entire genomes. Second, when inferring mutational biases or rates from different species, it is impossible to know all factors that shaped their genomes; these factors could be different for different species and even different populations of the same species. High-throughput sequencing approaches offer potential remedy for these issues through the analysis of genomes of many lineages of the same species that were cultivated under fully controlled conditions over a number of generations [8, 9]. Through comparison of an ancestral genome and of evolved lineages, one will arrive at an evidence-based model of mutational rate and biases for this species. This kind of experimental setup so far provides the strongest possible evidence for the absence of unaccounted factors that would undermine the proposed mechanisms. Indeed, application of such an approach to genomes of *Burkholderia cenopacia* and *Mycobacterium smegmatis* portrayed a compelling mechanistic picture that explains why these organisms possess a particular GC content [10, 11]. We find these works especially interesting in the context of *Streptomyces* genomics, because both aforementioned species have GC-rich genomes and they were shown to have biased accumulation of spontaneous mutations. The predominant accumulation of GC nucleotides in *M. smegmatis* is thought to be associated with a deficient DNA repair system, although the exact mechanism remains debatable [12]. We decided to re-visit the issue of GC content of *Streptomyces* genomes. To this end, we identified types of mutations accumulated by a set of *S. albus* J1074 derivatives, taking advantage of nine in-house sequenced genomes of this species. We also compared the GC content of *Streptomyces* genomes on a larger dataset than in previous studies. Results of our findings are given below.

#### Materials and Methods

All strains analyzed in this work are derivatives of *S. albus* SAM2, which is a derivative of J1074 with deletion of pseudo-*attB*<sup>φC31</sup> [13]. The strain pedigree is summarized in Fig. 1. Briefly, 10<sup>9</sup> spores/200 μL of SAM2 were plated onto GYM agar [14] supplemented with 100 μg/mL streptomycin to select for spontaneous streptomycin-resistant (Str<sup>r</sup>) mutants KO-1296, KO-1297, KO-1298 and KO-1300. Strain R94G is a genomically engineered *rpsL* mutant described in [15]. This strain served as a platform for sequential introduction of spontaneous mutations conferring the resistance to streptomycin (KO-1295), lincomycin (KO-1304), erythromycin (KO-1305) and rifampicin (KO-1408). All aforementioned spontaneous mutants were generated in a single selection campaign and underwent no more than five passages prior to genome sequencing. Description of all aforementioned KO strains will be subject of separate publications.

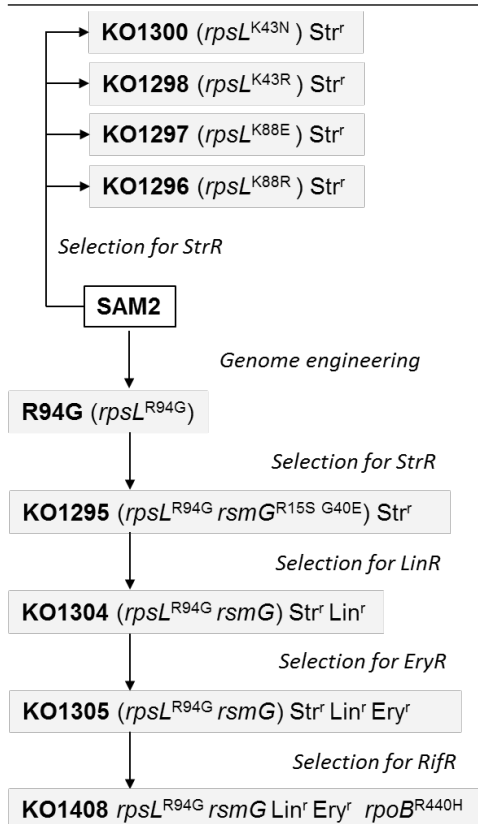


Fig. 1. Scheme that summarizes the generation of *S. albus* strains used in this work. Strain names are shown in bold; type of their generation is written in italic. SAM2 (boxed) is the initial strain, all derivatives are shown in grey background. Antibiotic resistance phenotype (Str<sup>r</sup>, Lin<sup>r</sup>, Ery<sup>r</sup>, Rif<sup>r</sup> – resistance to streptomycin, linkomycin, erythromycin and rifampicin, respectively) and mutations known prior to genome sequencing follow the strain name. See main text for more details

Genomic DNA isolation and Illumina sequencing were performed according to standard protocols. All identified mutations were verified via Sanger sequencing of PCR-amplified fragments. Raw data of *S. albus* strains, reference sequence of J1074 as well Excel table with called variants and supplementary materials can be found at the in-house *S. albus* genomics database maintained by Lviv University research group: <https://biotools.online/media/>. At the quality control stage, the sequence reads were examined for overall quality and presence of Illumina adapters with FastQC [18]. In order to omit poor quality data from further analysis we trimmed low quality read ends and filtered low quality reads by using Trimmomatic version 0.36 [19]. Sequencing reads were aligned to reference J1074 genome (accession number CP004370) with Bowtie2 version 2.2.5 [20]. SNP and DIP detection was performed with ReadXplorer [21]. Illumina coverage was 55-165X for all strains (detailed list with average coverage for assembled genomes one can find at the aforementioned webpage: [Supplementary\\_data\\_\(avg\\_coverage\).xlsx?](#) as well as in xlsx files in SNP folder for coverage in variant calling). In order to identify putative MutS and MutL orthologs within *Streptomyces* proteomes we used reciprocal best BLASTP hit strategy [22] and in-house scripts based on NCBI Datasets tools. JavaScript application Mutations Needle Plot v0.8.0 was used for visualization of mutation distributions along the genome [23].

### Results and Discussion

**Genomes of *Streptomyces albus* J1074 strains reveal biased accumulation of point mutations.** Our collection of J1074 strains has simple and traceable genealogy; mutants carry certain mutations they were selected for [15], and also might carry additional spontaneous

mutations. We reasoned that this collection would be suitable to better understand mutational processes within *Streptomyces*. Nine strains and their parent SAM2 were selected for Illumina sequencing. The same approach was used to pre-process raw data and map the mutations in order to avoid artifacts arising from using different tools. Some portions (less than 1%) of *S. albus* genomes remained ambiguous due to low coverage or other sequencing artifacts. However, these regions (of, for instance, genome of KO-1305) were correctly represented in their derivatives (KO-1408), which ruled out the presence of unaccounted mutations. Our final estimates of the mutations accumulated in nine *S. albus* strains since their immediate ancestor (e.g., SAM2 → R94G; KO-1305 → KO-1408 etc) are summarized in Table.

Mutation spectra revealed by whole genome sequencing in nine *S. albus* SAM2 mutants

Mutations		Strains									Total
		1300	1298	1297	1296	R94G	1295	1304	1305	1408	
Transitions	A:T → G:C	1	7	3	1	1	1		1		15
	G:C → A:T		1	1			1			1	4
Transversions	A:T → T:A										0
	G:C → T:A	1									1
	A:T → C:G					1					1
	G:C → C:G			1			1				2
Coding		1	4	4	3	2	3	1		1	19
Intergenic		1	5	2			1		1		10
Synonymous			1								1
Nonsynonymous		1	2	4	1	2	2			1	13
Insertion					1						1
Deletion			1	1	1		1	1			5

Strain R94G carried two mutations in addition to the engineered *rpsL* substitution [15]. Hence, unanticipated rearrangements within genetically modified strain may contribute to the observed phenotypes [15]. The other eight strains (except for KO-1304; *vide infra*) that underwent selection for antibiotic resistance, carried mutations in expected targets (e.g., *rpsL*, *rpoB*) as well as the other genomic loci. The mutant KO-1304 was the only strain that carried a single deletion (within *xnr\_2147*) and no single nucleotide variants (SNVs). Out of 29 mutations detected in total, there were six single-nucleotide indels (5 deletions and 1 insertion) and 23 SNVs. Two-thirds of the mutations (19) are located within coding sequences. Out of 23 transitions and transversions 16 (70 %) lead to replacement of AT with GC nucleotides. Almost all mutations were clustered within the core genome region spanning 2.0 – 6.2 Mbp segment of 6.8-Mbp *S. albus* genome (Fig. 2).

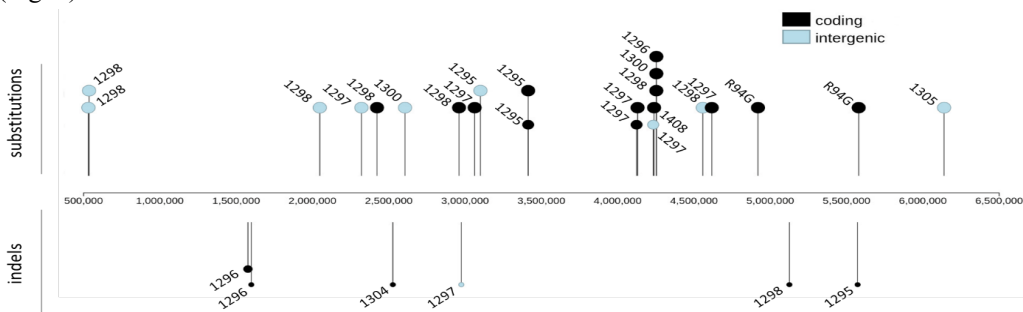


Fig. 2. Distribution of the identified mutations along *S. albus* chromosome. Strains are marked with numbers, e.g. *S. albus* KO-1296 is denoted as 1296

**GC content across Streptomyces genomes.** What would be the plausible reasons for the biased accumulation of mutations in *S. albus* J1074? We decided to approach this issue by taking

a closer look on the GC content of the available *Streptomyces* genomes. Although the general notion of high GC content for this genus is valid, there is no detailed analysis of this genomic parameter, despite significant growth of current databases. We undertook such analysis for several different datasets. The first dataset consisted of 200 high-quality complete *Streptomyces* genomes selected from the NCBI Genome database. The second one featured 1500 *Streptomyces* genomes, including the complete genomes as well as draft chromosomes having no more than 5 % ambiguities (see lists of the genomes at <https://biotools.online/media/>). The mean GC% value for both datasets was near 72 % (Fig. 3), although a number of notable outliers was revealed. Particularly, the genome of the strain *Streptomyces* sp. NP160 showed the highest GC content (74.93 %), while *Streptomyces* sp. SID10244 – at 66.53 % had the lowest GC content. The chromosome of the latter strain is in the draft stage, but the assembly quality permits to conclude that the computed GC% was not caused by sequencing artifacts. Hence, it can be concluded that noticeable variation in GC content can be observed for this genus. Finally, we explored the possibility that GC content of *Streptomyces* genes may depend on their essentiality. Namely, primary metabolism genes could be under more stringent selection against the biased accumulation of GC base pairs. At the same time, secondary metabolism genes, being less constrained than essential genes imposed on essential genes, could accumulate more AT → GC replacements. Using extensively validated annotation of the genome of model species *S. coelicolor* A3(2) [24], we compared the GC% for the primary and secondary metabolic datasets of this species. The distribution of GC% values for primary metabolic genes had a mean value similar to that observed for the entire genome, with a long tail into low GC part of the plot. The GC% values for secondary metabolic genes were more clustered, and the mean value for the entire dataset was slightly above that for primary metabolic genes or the entire genome (data not shown).

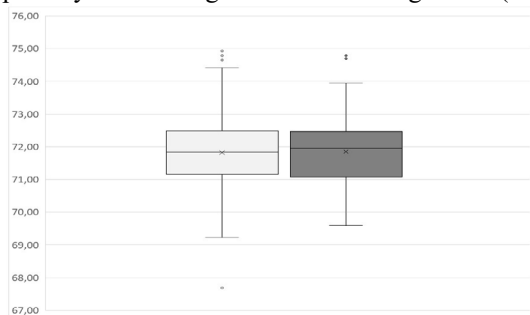


Fig. 3. The range of GC content in *Streptomyces* genomes. Box plot charts summarize the distribution of GC% values for 200 *Streptomyces* complete genomes (light grey boxplot), and complete plus draft genomes (dark grey one). Error bars indicate confidence interval for the mean value (95 %)

**Genomic portrait of DNA mismatch repair systems in *Streptomyces*.** Recent work [12] has demonstrated that actinobacterial genomes invariably lack orthologues of MutLS DNA mismatch repair system, featuring instead NucS homologues, likely of archaeal origin. The conclusion about the universal absence of MutLS-encoding genes within Actinobacteria has been supported by analysis of 300 genomes encompassing different genera (including several dozens of *Streptomyces*) of this huge taxon. Availability of the larger *Streptomyces* datasets (see above) have prompted us to re-visit the distribution of NucS orthologues within this single actinobacterial genus. Our analysis supports the conclusion made by Castaneda-Garcia et al. and shows little level of diversity of gene content around NucS homologues. Only at the fourth and fifth rightmost position did we observe a presence of different genes in different species (Fig. 4). We have not found any *Streptomyces* genome encoding MutL or MutS orthologues, despite the use of the query sequences of different origin and different search strategies.

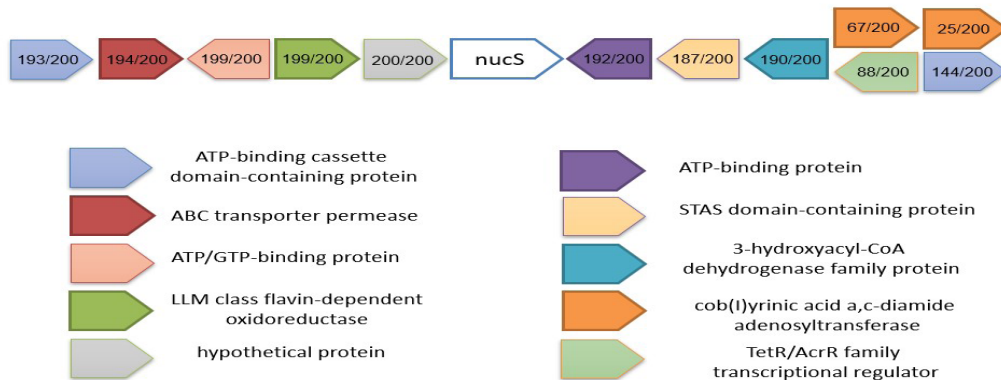


Fig. 4. Summary of genetic organization of homologous segments of 201 *Streptomyces* genomes carrying NucS orthologue (*SCO5388* in *S. coelicolor* M145). Numbers on gene symbols (arrows) denote the number of genomes carrying certain gene in that position. The leftmost gene is found in 193 out of 201 analyzed genomes (193/201). See graphical legend for predicted gene functions.

*Streptomyces* bacteria are notable for large linear genomes possessing high proportion of GC base pairs. Numerous explanations have been put forward about the mechanisms behind variable GC content across bacterial taxa (see Introduction). These explanations most often take the shape of revealing new correlations between the GC content and various genomic and/or physiological aspects [25]. In this work we took advantage of in-house *S. albus* J1074 genomic database to find the evidence of GC-biased mutagenesis in *Streptomyces*, which will serve as a stepping stone to understand the mechanisms behind this phenomenon. We show, on a limited experimental dataset, that in *S. albus* J1074 genome mutations towards GC nucleotides are prevalent. This biased accumulation of GC bases may be caused by the function of NucS-based DNA mismatch repair in all streptomycetes. In related actinobacterial genus *Corynebacterium* NucS showed preference for certain mismatch types, thus mitigating the asymmetric accumulation of replication errors [26]; the specificity of a *Streptomyces* NucS protein awaits experimental scrutiny. We believe that analysis of more expertly annotated *Streptomyces* genomes will yield valuable insights into the role of selection in shaping the GC content of this exciting group of bacteria.

**Acknowledgements.** B.O. thanks for grant support of the Ministry of Education and Science of Ukraine (BG-80F). T.W., T.G., T.S.J thank for grant support of the Novo Nordisk Foundation (NNF16OC0021746, NNF20CC0035580).

#### REFERENCES

1. Barka E., Vatsa P., Sanchez L. et al. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2015. Vol. 80. P. 1–43. doi.org/10.1128/MMBR.00019-15.
2. Hershberg R., Petrov D. Evidence that mutation is universally biased towards AT in bacteria // *PLoS Genet.* 2010. Vol. 6(9). P. e1001115. doi.org/10.1371/journal.pgen.1001115.
3. Segata N., Börnigen D., Morgan X., Huttenhower C. PhyloPhlAn is a new method for improved phylogenetic and taxonomic placement of microbes // *Nat. Commun.* 2013. Vol. 4. P. 2304. doi.org/10.1038/ncomms3304.
4. Hug L., Baker B., Anantharaman K., et al. A new view of the tree of life // *Nat. Microbiol.* 2016. Vol. 1. P. 16048. doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48.



5. *Aslam S., Lan X., Zhang B.* et al. Aerobic prokaryotes do not have higher GC contents than anaerobic prokaryotes, but obligate aerobic prokaryotes have // *BMC Evol. Biol.* 2019. Vol. 19. P. 35. doi.org/10.1186/s12862-019-1365-8.
6. *Vetsigian K., Goldenfeld N.* Genome rhetoric and the emergence of compositional bias // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106. P. 215–220. doi.org/10.1073/pnas.0810122106.
7. *Rokytskyy I., Kulaha S., Mutenko H.* et al. Peculiarities of codon context and substitution within streptomycete genomes // *Visn. Lviv Univ. Ser. Biol.* 2017. Vol. 75. P. 66–74. dx.doi.org/10.30970/vlubs.2017.75.07.
8. *Good B., McDonald M., Barrick J.* et al. The dynamics of molecular evolution over 60,000 generations // *Nature.* 2017. Vol. 551. P. 45–50. doi.org/10.1038/nature24287.
9. *Lenski R.* Experimental evolution and the dynamics of adaptation and genome evolution in microbial populations // *ISME J.* 2017. Vol. 11. P. 2181–2194. doi.org/10.1038/ismej.2017.69.
10. *Kucukyildirim S., Long H., Sung W.* et al. The rate and spectrum of spontaneous mutations in *Mycobacterium smegmatis*, a bacterium naturally devoid of the postreplicative mismatch repair pathway // *G3 Genes|Genomes|Genetics.* 2016. Vol. 6. P. 2157–2163. doi.org/10.1534/g3.116.030130.
11. *Dillon M., Sung W., Lynch M., Cooper V.* The Rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in the GC-rich multichromosome genome of *Burkholderia cenocepacia* // *Genetics.* 2015. Vol. 200. P. 935–946. doi.org/10.1534/genetics.115.176834.
12. *Castañeda-García A., Prieto A., Rodríguez-Beltrán J.* et al. A non-canonical mismatch repair pathway in prokaryotes // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. P. 14246. doi.org/10.1038/ncomms14246.
13. *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.
14. *Shima J., Hesketh A., Okamoto S.* et al. Induction of actinorhodin production by *rpsL* (encoding ribosomal protein S12) mutations that confer streptomycin resistance in *Streptomyces lividans* and *Streptomyces coelicolor* A3(2) // *J. Bacteriol.* 1996. Vol. 178. P. 7276–7284. doi.org/10.1128/jb.178.24.7276-7284.1996.
15. *Lopatniuk M., Myronovskyi M., Nottebrock A.* et al. Effect of «ribosome engineering» on the transcription level and production of *S. albus* indigenous secondary metabolites // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019. Vol. 103. P. 7097–7110. doi.org/10.1007/s00253-019-10005-y.
16. *Kieser T., Bibb M., Buttner M.* et al. Practical *Streptomyces* genetics. Norwich: John Innes Foundation. 2000. 634 p.
17. *Bekiesch P., Zehl M., Domingo-Contreras E., Martín J.* et al. Viennamycins: lipopeptides produced by a *Streptomyces* sp. // *J. Nat. Prod.* 2020. Vol. 83. P. 2381–2389. doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00152.
18. *Andrews S.* FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data / 2010. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
19. *Bolger A., Lohse M., Usadel B.* Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // *Bioinformatics.* 2014. Vol. 30. P. 2114–2120. doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170.
20. *Langmead B., Salzberg S.* Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 // *Nat. Methods.* 2012. Vol. 9. P. 357–359. doi.org/10.1038/nmeth.1923.
21. *Hilker R., Stadermann K., Doppmeier D.* et al. ReadXplorer-visualization and analysis of mapped sequences // *Bioinformatics.* 2014. Vol. 30. P. 2247–2254. doi.org/10.1093/bioinformatics/btu205.

22. Kuzniar A., van Ham R.C., Pongor S., Leunissen J. A. The quest for orthologs: finding the corresponding gene across genomes // Trends Genet. 2008. Vol. 24. P. 539–551. doi.org/10.1016/j.tig.2008.08.009.
23. Schroeder M. P. muts-needle-plot: Mutations Needle Plot v0.8.0 / 2015. Available from: doi.org/10.5281/zenodo.14561.
24. Jeong Y., Kim J. N., Kim M. W. et al. The dynamic transcriptional and translational landscape of the model antibiotic producer *Streptomyces coelicolor* A3(2) // Nat. Commun. 2016. Vol. 7. P. 11605. doi.org/10.1038/ncomms11605.
25. Almpanis A., Swain M., Gatherer D., McEwan N. Correlation between bacterial G+C content, genome size and the G+C content of associated plasmids and bacteriophages // Microb. Genom. 2018. Vol. 4. P. e000168. doi.org/10.1099/mgen.0.000168.
26. Takemoto N., Numata I., Su'etsugu M., Miyoshi-Akiyama T. Bacterial EndoMS/NucS acts as a clamp-mediated mismatch endonuclease to prevent asymmetric accumulation of replication errors // Nucleic Acids Res. 2018. Vol. 46. P. 6152–6165. doi.org/10.1093/nar/gky481.

Стаття надійшла до редакції 11.10.21

прийнята до друку 19.10.21

## БАЗА СЕКВЕНОВАНИХ ГЕНОМІВ РІЗНИХ ШТАМІВ *STREPTOMES ALBUS* J1074 ТА ЇЇ ВИКОРИСТАННЯ

Б. Доля<sup>1</sup>, Т. Буше<sup>2</sup>, Т. Ш. Йоргенсен<sup>4</sup>, К. Очі<sup>3</sup>, Т. Грень<sup>4</sup>, Т. Вебер<sup>4</sup>,  
Й. Каліновскі<sup>2</sup>, А. Лужецький<sup>5</sup>, Б. Осташ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
\*e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua

<sup>2</sup>CeBiTec (ЦеБіТек), Білефельдський університет  
вул. Universitatstrasse, 25, Білефельд 33615, Німеччина

<sup>3</sup>Відділ природничих наук, Хіросімаський технологічний інститут  
Міяке 2-1-1, Саекі-ку, Хіросіма 731-5193, Японія

<sup>4</sup>Центр Біосталості компанії Ново Нордіск,  
Технологічний університет Данії  
Кеміторвет, буд. 220, Лундбю 2800, Данія

<sup>5</sup>Відділ фармакології, Саарландський університет  
Кампус C2.3, Саарбрюкен 66123, Німеччина

*Streptomyces albus* J1074 – модельний об'єкт-шасі для дослідження різних аспектів біології актинобактерій, який, хоч і з'явився відносно недавно, широко застосовують і для дослідження наявних, і для відкриття нових природних сполук. Створено велику кількість генетичних знарядь, покликаних полегшити використання штаму для названих потреб. Одним із перспективних підходів є введення в геном J1074 мутацій, які покращили би його здатність продукувати антибіотики. Зокрема, нами попередньо описано колекцію спонтанних і генно-інженерних мутантів J1074, які містять мутації в генах рибосомного білка S12, бета-субодиниці РНК-полімерази тощо. На основі цієї колекції ми створили власну базу даних, яка містить первинні та куровані дані геномних послідовностей спонтанних і генетично сконструйованих мутантів J1074. База даних доступна за адресою <https://biotools.online/media/>. Основні переваги бази даних полягають у відомому родоводі штамів, що дає змогу поглиблено

аналізувати й інтерпретувати отримані дані. Наприклад, ведуться жваві та досі не завершені дискусії щодо походження і впливу ГЦ складу в актинобактерій. Краще розуміння цього питання покращить наші знання про еволюцію геномів у бактерій, а також, як наслідок, матиме низку практичних застосувань у біотехнології. Ми використали наш набір даних *Streptomyces albus* J1074 як експериментальну модель для виявлення загальногеномного спектру мутацій, котрі, як бачимо, зміщені у бік підвищеного ГЦ вмісту. Для порівняння ми включили до нашої бази і високоякісні геноми інших стрептоміцетів. ГЦ відсоток у геномах стрептоміцетів коливається від 75 % до 66,5 %, зі середнім значенням 72 %. Вміст ГЦ у генах вторинного метаболізму *S. coelicolor* менш мінливий порівняно з генами первинного метаболізму, що може свідчити про різний тиск добору на ці групи генів. Поряд зі селективними обмеженнями, особливості системи репарації ДНК у *Streptomyces* можуть сприяти зміщенню ГЦ вмісту в їхніх геномах. Подальше використання бази даних може забезпечити розвиток більш точних знань про швидкість появи мутацій, а також про популяційні генетичні процеси у межах цього виду та роду загалом.

*Ключові слова:* *Streptomyces albus*, секвенування геному, спектр мутацій

## ОКСИДОРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ ҐРУНТІВ В УМОВАХ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ТА ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ

М. Мекіч\*, Л. Буньо, О. Терек

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: Horon.Marta@gmail.com; olha.terek@lnu.edu.ua

Досліджено вплив нафтового забруднення і фіторемедіації за участю рослин кукурудзи (*Zea mays* L.) та бобу (*Vicia faba* var. Minor) на оксидоредуктазну активність ґрунтів. Дрібноділянковий дослід проведено в польових умовах. Нафту вносили у ґрунт у кількості 50 мл на 1 кг ґрунту (4,2 %). Ферментативну активність ґрунту визначали на першому етапі дослідження – до висаджування рослин і появи сходів (10-та, 22-га і 30-та доба) та другому етапі з вегетацією фіторемедіантів (65-та і 95-та доба). Показано, що каталазна активність (КА) ґрунту знижувалася на початковому етапі забруднення та зростала на другому за дії нафтового забруднення ґрунту порівняно з контролем. Зниження ферментативної активності ґрунту може свідчити про пригнічення активності мікрофлори ґрунту внаслідок токсичного впливу нафтових вуглеводнів для мікрофлори ґрунту, відновлення ферментативної активності – про зменшення токсичного впливу нафти зі зростанням тривалості забруднення. Встановлено головний ефект впливу рослин, тобто КА була більшою для ґрунтів із рослинами, ніж без рослин. Ефект впливу рослин кукурудзи на КА для нафтозабрудненого ґрунту був більший, ніж для ґрунту без рослин (достовірний ефект взаємодії  $p < 0,01$ ). Дегідрогеназна активність (ДА) нафтозабрудненого ґрунту знижувалася протягом усього досліджуваного періоду порівняно з контрольним ґрунтом. Головний ефект впливу рослин на ДА ґрунту був статистично значущим ( $p < 0,05$ ). Для нафтозабрудненого ґрунту стимулюючий вплив рослин бобу був більший, ніж для ґрунту без нафти (достовірний ефект взаємодії  $p < 0,05$ ). Ефект взаємодії між нафтою та рослинами може бути пов'язаний із оптимізацією умов ґрунтового середовища у кореневій зоні рослин для життєдіяльності мікроорганізмів, що інтенсифікує використання останніми нафтових вуглеводнів як субстрату для живлення.

Поліфенолоксидазна активність ґрунту (ПФО) знижувалася на 95-ту добу за дії нафтового забруднення ґрунту порівняно з контролем. У ґрунті без нафти стимулювальний вплив на активність даного ферменту мали рослини *Z. mays* та *V. faba* порівняно з ґрунтом без рослин, для нафтозабрудненого ґрунту – лише рослини *Z. mays* порівняно із забрудненим ґрунтом з рослинами. Збільшення ферментативної активності ґрунту за участю рослин свідчить про практичну доцільність використання їх для ремедіації нафтозабруднених ґрунтів.

*Ключові слова:* фіторемедіація, нафтове забруднення ґрунту, каталаза, дегідрогеназа, поліфенолоксидаз

Нафта, потрапляючи у ґрунт, включається в такі процеси, як вимивання у нижні горизонти ґрунту, сорбція органічною речовиною ґрунту, біотична деградація [20]. В основі біотичної деградації лежить здатність мікроорганізмів включати нафтові вуглеводні у свій метаболізм. Вона проходить через дві фази: початкова швидка фаза та наступна

повільна фаза. Швидку фазу деградації нафти лімітує рівень утилізації мікроорганізмами легкодоступних і вільних вуглеводнів нафти, тоді як повільну фазу – десорбція вуглеводнів із ґрунту і їхня біодоступність [22, 24]. Біотична деградація, в основному, відбувається за участю бактерій і грибів. Стверджують, що змішані популяції мікроорганізмів із широким ензиматичним спектром є необхідними, щоб розкласти складну суміш нафтових вуглеводнів [22]. У процесі деградації нафти відбуваються зміни у мікробному угрупованні (чисельність, видовий склад), що позначається на ферментному пулі ґрунту [24].

Початковим етапом деструкції органічних забруднювачів є окисдатовний процес, який каталізують ферменти класу оксидоредуктаз. Загальний шлях деградації вуглеводнів нафти мікроорганізмами відбувається через послідовне окислення до спиртів, альдегідів, а потім кислот. Подальші процеси можуть проходити різними шляхами: деградація з утворенням метаболічних прекурсорів (ацетил-СоА тощо) або деградація до вуглекислого газу та води [21, 22]. Ключовими ґрунтовими оксидоредуктазами є каталаза, дегідрогеназа, поліфенолоксидаза [17].

Одним зі способів стимулювання біоремедіаційних процесів є використання рослин, стійких до нафтового забруднення, – фіторемедіантів. Зростання рівня біодеградації нафти за участю рослин показано кількома дослідниками. Фіторемедіаційний ефект пов'язаний зі створенням сприятливих умов для функціонування мікрофлори в кореневій зоні рослин [5, 23, 28]. Вплив рослин на ґрунтову екосистему має континуальний характер і розширюється за рахунок мікоризи. Мікоризосфера включає в себе ризосферу як зону впливу коріння та асоційованих мікроорганізмів і гіфосферу як зону впливу міцелію. Відомо, що ґрунтові бактерії здатні колонізувати міцелій і утворювати біоплівки [1, 22].

З метою ремедіації нафтозабрудненого ґрунту ми використовували рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубоподібна та бобу кормового (*Vicia faba* var. Minor). Відомо, що ці види рослин толерантні до дії нафтового забруднення і сприяють зростанню чисельності мікроорганізмів-деградаторів нафти й інтенсифікації деградації нафтових вуглеводнів у ризосфері [5, 6, 23, 28, 31, 32].

Завдання нашого дослідження - оцінити вплив нафти і фіторемедіації на оксидоредуктазну активність ґрунтів – каталазну, дегідрогеназну, поліфенолоксидазну.

#### Матеріали та методи

Нами було закладено дрібноділянковий дослід у польових умовах (м. Судова Вишня). Розмір ділянки  $1 \times 0,5 \times 0,25$  м<sup>3</sup> у 3 повторностях. Дно ділянки вистеляли поліетиленовою плівкою з прорізами. Яму засипали ґрунтом (вологість 13,4 %) і перемішували з нафтою (густина нафти 0,87 г/см<sup>3</sup>) у кількості 50 мл на кг ґрунту (4,2 %). Контролем слугував ґрунт без внесення нафти. На 22-гу добу після внесення нафти (цей термін необхідний для вивітрювання найбільш токсичних вуглеводнів нафти) [15] висівали насіння рослин кукурудзи та бобу. Проби ґрунту відбирали на 10-ту, 22-гу, 30-ту добу (перший етап досліду до появи сходів рослин) і на 65-ту (4 тижні вегетації рослин) та 95-ту (8 тижнів вегетації рослин) добу після внесення нафти (другий етап із вегетацією фіторемедіантів).

Варіанти: 1 – контроль, ґрунт без нафти і без рослин; 2 – ґрунт без нафти з рослинами *Z. mays*; 3 – ґрунт без нафти з рослинами *V. faba*; 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин; 5 – нафтозабруднений ґрунт з рослинами *Z. mays*; 6 – нафтозабруднений ґрунт з рослинами *V. faba*.

Розміщення ділянок із нафтою у шаховому порядку – для того, щоб забезпечити рівномірний вплив нафтового забруднення (випаровування токсичних вуглеводнів, вимивання) на варіанти без нафти; розміщення ділянок із рослинами – рендомізоване [7].

Проби ґрунту відбирали на глибині 3–7 см із кореневмісного шару ґрунту і на відповідній глибині у варіантах без рослин. На кожній ділянці досліду брали одну змішану пробу, яку готували із 5 індивідуальних проб, відібраних методом конверта. Зразки ґрунту готували відповідно до методики аналізу [9].

Ферментативну активність визначали у ґрунтах, висушених до повітряно-сухого стану. Каталазну активність визначали газометричним методом за кількістю виділеного  $O_2$  при розкладанні  $H_2O_2$ , дегідрогеназну активність – фотоколориметрично за концентрацією утвореного трифеніл формазону (ТФФ) [16], поліфенолоксидазну активність – титруванням залишку аскорбінової кислоти йодометричним методом [4].

*Статистичні методи.* Отримані дані опрацьовано за допомогою серій дисперсійного аналізу:

Досліджували вплив таких факторів як нафтове забруднення та фіторемедіація. Під фактором “нафтове забруднення” розуміємо комплекс умов (фізико-механічних і хімічних), які формуються у ґрунті за потрапляння нафти (порушення водних властивостей ґрунту й повітряного режиму, дефіцит елементів живлення тощо).

Під фактором “фіторемедіація” розуміємо технологію, яка застосовується для елімінації забруднення з ґрунту за допомогою різних механізмів [18].

1) однофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу нафтового забруднення ґрунту на показники оксидоредуктазної активності ґрунту за експериментальними даними для 10-ї, 22-ї, 30-ї доби досліджень;

2) двофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу нафтового забруднення ґрунту і фіторемедіації на досліджувані показники для 65-ї та 95-ї доби досліджень;

3) однофакторний дисперсійний аналіз для оцінки ефекту впливу фіторемедіації на оксидоредуктазну активність ґрунту;

4) ефект взаємодії факторів нафтове забруднення та фіторемедіація: як вплив рослин на досліджувані показники ґрунту залежить від наявності нафти (за результатами двофакторного й однофакторного дисперсійного аналізу).

Для опрацювання даних використовували мову програмування R, створену спеціально для статистичного аналізу даних [29]. Оцінку достовірності впливу фокусного фактора й ефекту взаємодії проводили за критерієм F-Фішера. Обчислювали розмір ефекту ( $\eta^2$ ) – показник частки мінливості результативної ознаки, зумовленої досліджуваним фактором на фоні впливу всіх факторів (контрольованих і неконтрольованих) [19]. Simple effect  $\eta^2$  – простий ефект впливу (для кожного рівня фактора) та partial  $\eta^2$  – частковий ефект, або частка впливу (враховуючи вплив фокусного фактора і неконтрольованих факторів) за даними дисперсійного аналізу за формулами:

$$\eta_{simple}^2 = \frac{SS_{treatment}}{SS_{total}}$$

де  $SS_{treatment}$  – міжгрупова сума квадратів відхилень (мінливість зумовлена досліджуваним фактором),  $SS_{total}$  – загальна сума квадратів відхилень.

$$\eta_{partial}^2 = \frac{SS_{effect}}{SS_{effect} + SS_{residuals}}$$

де  $SS_{effect}$  – міжгрупова сума квадратів відхилень для фокусного фактора,  $SS_{residuals}$  – внутрішньогрупова сума квадратів відхилень. Для порівняння середніх значень варіантів проведено тест Tukey’s HSD [29].

### Результати і їхнє обговорення

Деградація вуглеводнів нафти у ґрунті пов'язана з активністю окисно-відновних ферментів. Активність цих ферментів може бути одним із індикаторів процесу деградації нафти й очищення ґрунту. КА залежить від дози забруднення, типу нафти, властивостей ґрунту [13, 16].

За результатами двофакторного дисперсійного аналізу для першого етапу дослідження встановлено достовірний вплив нафти ( $p < 0,05$ ), а вплив рослин (всіяного насіння) – недостовірний. Ця умова дає змогу обчислити вплив нафти як головного фактора за функцією дисперсійного аналізу (main effect). Відповідно подано середні значення для незабрудненого ґрунту (варіанти 1, 2, 3) і нафтозабрудненого ґрунту (4, 5, 6) (див. таблицю).

Активність оксидоредуктаз нафтозабруднених ґрунтів (початковий етап дослідження)

Варіант	Активність каталази, мл $O_2$ /хв×г ґрунту		Активність дегідрогенази, мг ТФФ/ 10 г ґрунту		Активність поліфенолоксидази, мл 0,01 $KJO_3$ / 100 г ґрунту	
	ґрунт	ґрунт	ґрунт	ґрунт	ґрунт	ґрунт
	без нафти*	з нафтою**	без нафти*	з нафтою**	без нафти*	з нафтою**
10-та доба	6,31±0,45a	5±0,45a	0,25±0,04a	0,09±0,01b	4±0,6a	3,9±0,5a
22-га доба	4,25±0,55b	1,37±0,25c	0,23±0,02a	0,07±0,008b	3,3±0,9a	4,6±0,6a
30-та доба	3,25±0,55b	1,62±0,39c	0,22±0,02a	0,05±0,005b	3,6±0,7a	3,1±0,7a

**Примітки:** Результати обчислені за функцією дисперсійного аналізу “головний ефект” (main effect) для фактора нафта.

\* середнє значення для варіантів 1, 2 і 3

\*\* середнє значення для варіантів 4, 5 і 6

Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються,  $p < 0,05$ .

**Comments:** Data are product of function “main effect” for factor oil

\*average mean for treatments 1, 2 and 3

\*\*average mean for treatments 4, 5 and 6

Data marked by the same letter do not differ significantly,  $p < 0,05$ .

Нами встановлено, що на 10-ту добу дослідження каталазна активність ґрунту не змінювалася порівняно з контролем. Однак на 22-гу добу КА ґрунту становила 34 % від контролю, на 30-ту добу – 50 % (див. таблицю). Зниження КА свідчить про токсичний вплив нафти на ґрунтову біоту. Зниження каталазної активності у ґрунті пов'язують із наявністю фенолу в нафті, важких металів, надлишком органічної речовини нафти, збагаченої сіркою, сірководнем, меркаптанами, які є інгібіторами цього ферменту, а також зі зменшенням концентрації кисню і зниженням кількості аеробних груп мікроорганізмів у результаті закупорення повітряних пор і порожнин ґрунту [10]. Встановлено зниження КА за дії нафти, кореляцію КА із рівнем деградації нафтових вуглеводнів [3, 30, 34].

Проте пізніше КА ґрунту зростала: на 65-ту добу – на 160 %, на 95-ту добу – на 151 % порівняно з контролем (рис. 1).

Зростання каталазної активності може бути пов'язане зі зменшенням токсичного ефекту нафти і стимулюючим впливом вуглеводнів на життєдіяльність мікроорганізмів [2], зокрема, піридину, гідрохінону й альфа-нафтолу [13]. Зростання каталазної активності ґрунту за дії нафти спостерігали у низці досліджень: за 1 % і 5 % для чорнозему та для сірого лісового ґрунту [2], за 3 % і 6 % для чорнозему [8], за 10 л/м<sup>2</sup> для сірого лісового ґрунту [11]. Висока каталазна активність ґрунту важлива для підтримання оптимальних умов життєдіяльності мікроорганізмів у ґрунті, зокрема, для знешкодження токсичних сполук пероксиду водню. Кисень, що утворюється за участю каталази, можуть використовувати ґрунтові мікроорганізми, які є деструкторами нафти [14].

Вплив рослин на КА ґрунту на 65-ту добу був недостовірним, на 95-ту – вплив рослин кукурудзи залежав від нафтового забруднення ( $p < 0,01$ ) – ефект впливу кукурудзи

зростає, вплив рослин бобу – недовірливий. КА зростала у ґрунті без нафти за дії кукурудзи на 11 % порівняно із ґрунтом без рослин (варіант 1 щодо варіанта 3),  $\eta^2=0,12$ ; за дії нафти – на 37 % щодо нафтозабрудненого ґрунту без рослин (варіант 4 щодо варіанта 6),  $\eta^2=0,35$ . Зростання ефекту впливу кукурудзи на активність каталази за дії нафти свідчить про інтенсифікацію оксидоредуктазної активності мікробіоти в кореневій зоні рослин.

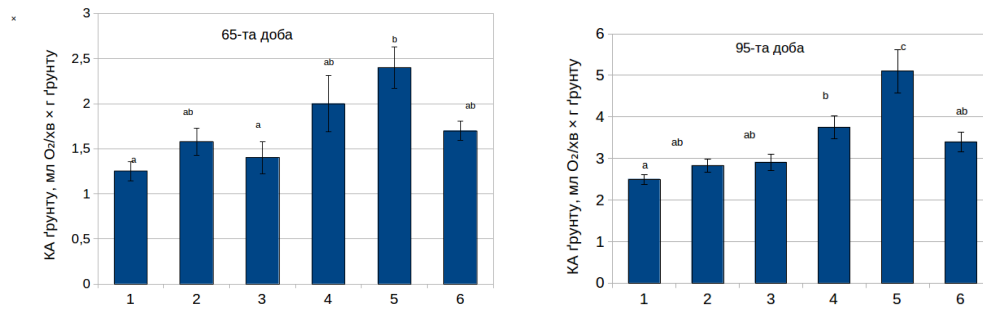


Рис. 1. Каталазна активність ґрунту за умов нафтового забруднення та фітореMediaції.

Варіанти: 1 – ґрунт без нафти (контроль), 2 – ґрунт без нафти + рослини *Z. mays*, 3 – ґрунт без нафти + рослини *V. faba*, 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин (4,2 %), 5 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *Z. mays*, 6 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *V. faba*. Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються,  $p < 0,05$

Fig. 1. Soil catalase activity in the oil-polluted soil during phytoremediation.

Effect of oil contamination and phytoremediation on dehydrogenas soil activity. Treatments: 1 – soil without oil (control), 2 – soil planted with *Z. mays*, 3 – soil planted with *V. faba*, 4 – oil contaminated soil, 5 – oil contaminated soil planted with *Z. mays*, 6 – oil contaminated soil planted with *V. faba*. Data market by the same letter do not differ significantly,  $p < 0,05$

Стимулюючий вплив на КА ґрунту за дії нафти показано для рослин *Carex hirta* L. [3], кукурудзи [12]. Корені рослин виділяють оксидоредуктази, які можуть брати участь у деградації забрудників ґрунту [18].

Дегідрогенази є ключовими ферментами дихального циклу мікроорганізмів; їх використовують як індикатор оксидативної активності мікроорганізмів у ґрунті [27]. Ці ферменти локалізовані лише в інтактних клітинах, тому можуть відображати лише активну мікробну біомасу [36]. Є дані, що дегідрогенази беруть участь у біодеградації нафтових вуглеводнів [10].

Нами встановлено, що протягом початкового періоду нафтового забруднення ДА ґрунту була зниженою: середнє значення активності ферменту за 10-ту, 22-ту і 30-ту доби становило 30 % щодо контролю (див. таблицю). Інгібуючий вплив нафти на 65-ту добу – зниження ДА на 57 %, на 95-ту – на 22 % порівняно з контролем (рис. 2). Встановлено позитивний ефект взаємодії між нафтою і рослинами бобу на 65-ту добу ( $p < 0,05$ ). Встановлено стимулювання ДА для незабрудненого ґрунту з рослинами кукурудзи удвічі (варіант 1 щодо варіанта 3) ( $\eta^2=0,71$ ), із рослинами бобу – в 1,8 разу (варіант 1 щодо варіанта 3) ( $\eta^2= 0,66$ ). За дії нафти вплив рослин кукурудзи на ДА був недовірливим ( $p < 0,54$ ,  $\eta^2=0,43$ ), за дії нафти і бобу – ферментативна активність зростала у 2,8 разу порівняно з нафтозабрудненим ґрунтом без рослин ( $\eta^2=0,73$ ).

На 95-ту добу ефект взаємодії між факторами нафта і фітореMediaція недовірливий ( $P < 0,2$ ). У ґрунті без нафти з рослинами кукурудзи ДА зростала удвічі ( $\eta^2= 0,41$ ), з рослинами бобу – в 2,4 разу ( $\eta^2= 0,68$ ). За дії нафти і рослин кукурудзи ДА ґрунту не змінювалася ( $\eta^2=$



0,44), за дії нафти і бобу – зростала на 78 % порівняно з нафтозабрудненим ґрунтом без рослин ( $\eta^2=0,73$ ).

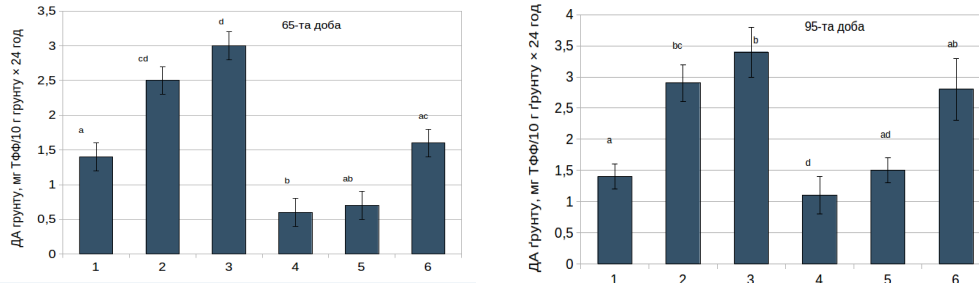


Рис. 2. Дегідрогеназна активність ґрунту за умов нафтового забруднення та фітореMediaції. Варіанти: 1 – ґрунт без нафти (контроль), 2 – ґрунт без нафти + рослини *Z. mays*, 3 – ґрунт без нафти + рослини *V. faba*, 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин (4,2 %), 5 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *Z. mays*, 6 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *V. faba*. Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються,  $p < 0,05$

Fig.2. Soil dehydrogenase activity in the oil-polluted soil during phytoremediation

Effect of oil contamination and phytoremediation on dehydrogenase soil activity. Treatments: 1 – soil without oil (control), 2 – soil planted with *Z. mays*, 3 – soil planted with *V. faba*, 4 – oil contaminated soil, 5 – oil contaminated soil planted with *Z. mays*, 6 – oil contaminated soil planted with *V. faba*. Data market by the same letter do not differ significantly,  $p < 0,05$

Інгібуючий вплив нафтозабрудненого ґрунту, очевидно, пов'язаний із токсичною дією нафтових вуглеводнів на мікроорганізми. Виявлено негативний зв'язок між активністю дегідрогенази і наявністю деяких токсичних сполук, наприклад, фенолів, ароматичних вуглеводнів, органічних кислот (бензойна, пальмітинова, саліцилова кислоти) у концентрації 1 % [27]. Показано зниження ДА за забруднення ґрунту 50 г/кг ґрунту як у міжрядді, так і в ризосфері рослин *Carex hirta* [3].

Деякі дослідження вказують на позитивну кореляцію між ДА ґрунту, рівнем деградації вуглеводнів і дихальною активністю мікроорганізмів [26, 27]. Зростання ДА на нафтозабруднених ґрунтах пов'язують з адаптацією і розмноженням деструкторів. Встановлено, що сира нафта, н-гексадекан та л-гексадеканол, очищені нафтопродукти стимулювали активність дегідрогенази [34].

Активність дегідрогенази зростала у нафтозабрудненому ґрунті через рік вегетації рослин *Bromus biebersteinii* Rohman і Schult та *Medicago sativa* L. порівняно з контрольним ґрунтом без рослин [33]. В умовах нафтового забруднення ДА ґрунту була більшою в ризосфері представників роду *Panicum*, рослин *Eleusine indica* (L.) Gaerth, *Festuca arundinacea* Schreb порівняно з варіантом без рослин, тоді як КА відповідно була нижчою [36]. Стимулювання ДА ґрунту за умов фітореMediaції пов'язане зі збільшенням активності ґрунтової мікрофлори у прикореневому шарі рослин. Відомо, що коренева система рослин покращує фізичні властивості ґрунту (щільність, аерованість); кореневі виділення мікроорганізми використовують як додаткове джерело поживних речовин [18, 25].

ґрунтового фенолоксидази відіграють важливу роль у розкладанні різних ксенобіотиків. Ферменти поліфенолоксидази (ПФО) і пероксидази беруть участь в окисленні ароматичних сполук фенолів до хінонів і в подальшій їхній трансформації - в молекули гумусових речовин [10].

За умов нафтового забруднення ПФО активність ґрунту була така ж, як у контролі, протягом початкового періоду від внесення нафти і на 65-ту добу (див. таблицю, рис. 3). На 95-ту добу нафта мала інгібуючий вплив на активність ПФО: зниження ПФО активності у 3 рази порівняно з контрольним ґрунтом.

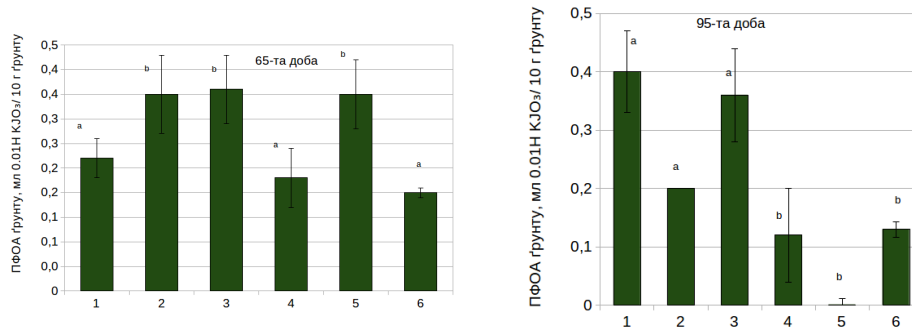


Рис. 3. Поліфенолоксидазна активність ґрунту за умов нафтового забруднення та фітореMediaції.

Варіанти: 1 – ґрунт без нафти (контроль), 2 – ґрунт без нафти + рослини *Z. mays*, 3 – ґрунт без нафти + рослини *V. faba*, 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин (4,2 %), 5 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *Z. mays*, 6 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *V. faba*. Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються,  $p < 0,05$

Fig. 3. The soil polyphenol oxidase enzyme activity in the oil-polluted soil during phytoremediation

Treatments: 1 – soil without oil (control), 2 – soil planted with *Z. mays*, 3 – soil planted with *V. faba*, 4 – oil contaminated soil, 5 – oil contaminated soil planted with *Z. mays*, 6 – oil contaminated soil planted with *V. faba*. Data market by the same letter do not differ significantly,  $p < 0,05$

Рослини стимулювали ПФО активність ґрунту на 65-ту добу в 1,5 разу порівняно із ґрунтом без рослин, за умов нафтового забруднення стимулюючий вплив мали тільки рослини кукурудзи – в 1,7 разу (варіант 5 щодо варіанта 4). Ефект взаємодії між нафтою і рослинами не встановлено. На 95-ту добу вплив рослин був статистично незначний.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антоняк Г. Л., Калинець-Мамчур З. І., Дудка І. О. та ін. Екологія грибів: монографія. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2013. 628 с.
2. Бородулина Т. С. Влияние нефтезагрязнения окружающей среды на ростовые и физиологические характеристики опытных живых организмов // Проблемы современной аграрной науки: Материалы Междунар. заочной науч. конф. Красноярск, 2010. С. 39–41.
3. Буньо Л. В. Ферментативна активність нафтозабрудненого ґрунту в кореневій зоні рослин *Carex hirta* L. // Gruntoznavstvo. 2013. Vol. 14. № 3–4. С. 43–51.
4. Грицаєнко З. М., Грицаєнко А. О., Карпенко В. П. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунтів. К.: Нічлава, 2003. 320 с.
5. Джура Н. М., Романюк О. І., Гонсьор Ян та ін. Використання рослин для рекультиватії ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами // Екологія та ноосферологія. 2006. Т. 17. № 1–2. С. 55–60.
6. Джура Н. М., Мороз О. М., Русин І. Б. та ін. Вплив рослин бобу кормового (*Vicia faba* var. minor) на функціонування мікробних асоціацій метаболізму азоту в забрудненому нафтою ґрунті // Ґрунтознавство. 2010. Т. 11. № 3–4. С. 105–112.

7. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
8. Ермакова О. Ю., Шорина И. А., Мисетов И. А. и др. Оценка фитотоксичности чернозема южного Оренбургской области в условиях разных доз нефтяного загрязнения // Вестн. Оренбургск. гос. ун-та. 2011. Вып. 20. № 12. С. 399–403.
9. Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. Ростов н/Д: Изд-во Рост. ун-та, 2003. 204 с.
10. Киреева Н. А., Водолятов В. В., Мифтахова А. М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв. Уфа: Гилем, 2001. 376 с.
11. Мекіч М., Джура Н., Терек О. Ферментативна активність нафтозабруднених ґрунтів у процесі фіторекультивациі рослинами кукурудзи (*Zea mays* L.) // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2015. Вип. 69. С. 140–147.
12. Мекіч М., Карпін О., Цвілинюк О. та ін. Каталазна активність нафтозабруднених ґрунтів у процесі фіторекультивациі // Молодь та поступ біології: Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2013. Т. IX. С. 214–215.
13. Новоселова Е. И. Экологические аспекты трансформации ферментного пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Воронеж, 2001. 334 с.
14. Новоселова Е. И., Киреева Н. А. Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и её биодиагностическое значение // Теоретическая и прикладная экология. 2009. № 2. <http://envjournal.ru/ari/v2009/v2/09201.pdf>
15. Пиковский Ю. И. Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. С. 7–22.
16. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
17. Хазиев Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.: Наука, 1982. 203 с.
18. Alkorta I., Garbisa C. Phytoremediation of organic contaminants in soils // Bioresource Technology. 2001. Vol. 79. P. 273–276.
19. Brown J. D. Effect size and eta squared // Shiken: JALT Testing & Evaluation. SIG Newsletter. 2008. Vol. 12 (2). P. 38–43.
20. Chaîneau C. H., Yepremian C., Vidalie J. F. et al. Bioremediation of a crude oil-polluted soil: biodegradation, leaching and toxicity assessments // Water Air Soil Pollut. 2003. Vol. 144. P. 419–440.
21. Chi-Yuan Fan, Krishnamurthy S. Enzymes for enhancing bioremediation of petroleum-contaminated soils: a brief review // J. Air Waste Manag. Assoc. 1995. Vol. 45. N 6. P. 453–460.
22. Das N., Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview // Biotechnol Res Int. 2010. Vol. 2011. P. 13.
23. Diab E. Phytoremediation of oil contaminated desert soil using the rhizosphere effects // Global J. Environ. Res. 2008. Vol. 2. N 2. P. 66–73.
24. Kaplan Ch. W., Kitts Ch. L. Bacterial succession in a petroleum land treatment unit // Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70. No. 3. P. 1777–1786.
25. Kirk J. L., Klironomos J. N., Hung Lee, Trevors J. T. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil // Environ. Pollut. 2005. Vol. 133. P. 455–465.

26. *Maila M. P., Cloete T. E.* The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review // *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 2005. Vol. 55. P. 1–8.
27. *Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F.* Monitoring of bioremediation by soil biological activities // *Chemosphere*. 2000. Vol. 40. P. 339–346.
28. *Marinescu M., Dumitru M., Lăcătușu A.* et al. The evolution of maize biomass in a crude oil polluted soil according to applied treatment // *Scientific Papers Series. Agronomy*. 2011. Vol. LIV. P. 287–293.
29. *McDonald J. H.* Handbook of Biological Statistics (3rd ed.). Sparky House Publishing: Baltimore, Maryland, 2014. <http://www.biostathandbook.com/index.html>
30. *Onwosi C. O., Odimba J. N., Igbokwe V. C.* et al. Principal component analysis reveals microbial biomass carbon as an effective bioindicator of health status of petroleum-polluted agricultural soil // *Environ. Technol.* 2020. Vol. 41. P. 3178–3190.
31. *Qianxin Lin, Mendelssohn I. A.* The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum contaminated wetlands // *Ecological Engineering*. 1998. Vol. 10. P. 263–274.
32. *Telysheva G., Jashina L., Lebedeva G.* et al. Use of plants to remediate soil polluted with oil // *Environment. Technology. Resources. Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference*. 2011. Vol. 1. P. 38–45.
33. *Timmernan L. G., Fuller, Burton D. L.* The effects of a crude oil spill on microbiological indices of soil biological quality // *Can. J. Soil. Sci.* 2003. Vol. 83. P. 173–181.
34. *Sang-Hwan Lee, Bang-Il Oh, Jeong-Gyu Kim.* Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity // *Bioresour. Technol.* 2007. Vol. 99. P. 2578–2587.
35. *Xin Lin, Xiao Jun, Sun Peiju T.* et al. Changes in Microbial Populations and Enzyme Activities During the Bioremediation of Oil-Contaminated Soil // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2009. Vol. 83. P. 542–547.
36. *Wang Jing, Zhang Zhongzhi, Su Youming* et al. Phytoremediation of petroleum polluted soil // *Petroleum Science*. 2008. Vol. 5. P. 167–171.
37. *Wolińska A., Stepniewska Z.* Dehydrogenase activity in the soil environment/ In: *Dehydrogenases*. 2012. P. 183–210. <https://www.intechopen.com/books/dehydrogenases/dehydrogenase-activity-in-the-soil-environment>

Стаття надійшла до редакції 23.08.21

доопрацьована 25.10.21

прийнята до друку 29.10.21

**SOIL OXIDOREDUCTASE ACTIVITY IN CONDITIONS OF OIL  
CONTAMINATION AND PHYTOREMEDIATION****M. Mekich, L. Bunyo, O. Terek***Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine**e-mail: Horon.Marta@gmail.com; olha.terek@lnu.edu.ua*

The effect of oil pollution and phytoremediation with *Zea mays* L. and *Vicia faba* var. Minor on soil oxidoreductase activity was investigated. The experiment was carried out under field conditions. Soil was artificially contaminated by oil at rate 4.2 % (50 ml of oil per 1 kg of soil). Soil sampling was performed at 10th, 22th, 30th days (the first experiment stage) before sowing plants and seedlings emergence and at 65th, 95th days (second experiment stage) with plants vegetation. Results showed that soil catalase activity (CA) was reduced during the first experiment stage and increased later under oil contamination conditions compared to control. The reduction of soil enzyme activity can be related to inhibition of soil microbial activity by hydrocarbons toxic influence. On the other hand recovery of enzyme activity can be due to decrease of toxicity of soil conditions over time. A two-way analysis of variance yielded a main effect for the phytoremediation ( $p < 0,01$ ), such that the average CA was significantly higher for soil with plants than for unplanted soil. The interaction effect was significant between oil contamination and phytoremediation with *Z. mays* ( $p < 0,01$ ), indicating that the plants' effect was greater in the oil contamination condition than without oil contamination. Soil dehydrogenase activity (DA) in oil contamination conditions decreased during all experiment compared to control. A main effect of phytoremediation on DA was significant ( $p < 0,05$ ), the interaction effect between oil contamination and phytoremediation was significant too ( $p < 0,05$ ). Interaction effect between oil contamination and phytoremediation can indicate improving conditions for microbial activity in the rooting zone. The plant's exudates may create more feasible conditions for utilisation of carbohydrates by microorganisms.

Polyphenol oxidase (PPOA) activity decreased on the 95th day in oil contaminated soil compared to control. PPOA was stimulated by *Z. mays* and *V. faba* plants in soil without oil, and only by *Z. mays* in oil contaminated soil. Soil phytoremediation treatment was related to the increase of enzyme activity. Such plants can be feasible for oil contaminated soil remediation.

*Keywords:* phytoremediation, oil contaminated soil, catalase, dehydrogenase, polyphenol oxidase

**ВПЛИВ КАМ'ЯНОВУГІЛЬНОГО ПОПЕЛУ ТА ГУМАТУ КАЛІЮ НА ВМІСТ  
НІТРОГЕНУ І КАРБОНУ В СУБСТРАТІ ВІДВАЛУ ВУГЛЕПРОМИСЛОВОСТІ  
Й ОРГАНАХ *SORGHUM DRUMMONDII* (NEES EX STEUD.) MILLSP. & CHASE**

**С. Бешлей<sup>1</sup>, В. Баранов<sup>2</sup>, Я. Шпак<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: dr.yaroslav.shpak@gmail.com; volodymyr.baranov@lnu.edu.ua

Досліджено вміст амонійного, нітритного і нітратного нітрогену й органічного карбону в субстраті сіро-чорної неперегорілої породи з відвалу вугільної промисловості ЦЗФ (Центральної збагачувальної фабрики) ПАТ «Львівська вугільна компанія» (Львівська обл.), а також вміст органічного карбону і валовий вміст нітрогену в органах *Sorghum drummondii* (Nees ex Steud.) Millsp. & Chase за впливу кам'яновугільного попелу з Добротвірської теплоелектростанції (Львівська обл.) та гумату калію «ГКВ-45» (виробництва ТЗОВ «ПАРК», Львівська обл.). У субстраті породного відвалу знайдено підвищений вміст органічного карбону й амонійного нітрогену на фоні низького вмісту нітритного і нітратного нітрогену щодо умовно оптимальної ґрунтосуміші еталону. В органах *S. drummondii* за росту на субстраті породного відвалу виявлено низький вміст органічного карбону та валового нітрогену, а також значно підвищене С/Н-співвідношення (в цій роботі відношення вмісту органічного карбону до валового вмісту нітрогену) порівняно з рослинами еталону. Додавання в субстрат породного відвалу кам'яновугільного попелу знизило вміст амонійного нітрогену й органічного карбону на фоні підвищення нітритного та нітратного нітрогену, а також органічного карбону й валового нітрогену в коренях, стеблах і листках досліджуваних рослин. Внесення гумату калію збільшило вміст нітритного та нітратного нітрогену в субстраті породного відвалу і вміст органічного карбону й валовий вміст нітрогену в органах *S. drummondii*. Зміна вмісту обох досліджуваних макроелементів у рослинах за впливу меліорантів зумовила зниження С/Н-співвідношення в бік значень еталону. Вирощування *S. drummondii* протягом 95 діб збільшило вміст органічного карбону в усіх варіантах субстратів, за винятком породи з додаванням гумату калію, та зменшило вміст амонійного, нітритного й нітратного нітрогену в усіх досліджених варіантах субстратів без винятку. Відмічено, що спільний вплив кам'яновугільного попелу Добротвірської теплоелектростанції й гумату калію «ГКВ-45» на вміст карбону і нітрогену в субстратах породного відвалу ЦЗФ та рослинах *S. drummondii* сильніший, ніж тільки одного з цих меліорантів.

*Ключові слова:* С/Н-співвідношення, породний відвал, кам'яновугільний попіл, гумат калію, *Sorghum*

Породний відвал ЦЗФ «Червоноградська» забруднює довкілля значною кількістю токсичних хімічних елементів і сполук [3]. Фітомеліорація знижує рухомість поллютантів у відвалах вуглепромисловості, але її проведення ускладнене значним дефіцитом рухомих форм макроелементів для живлення рослин [16]. Також відомо, що дефіцит нітрогену знижує продуктивність рослин [9], а співвідношення карбону до нітрогену важливе для оцінки стану екосистем [13]. Тому актуально досліджувати вміст і співвідношення цих макроелементів у субстратах і рослинах у процесі моделювання та проведення меліорації

породних відвалів вуглепромисловості. Породні відвали вуглепромисловості містять невеликі кількості органічного карбону [23], сульфатів і хлоридів амонію [12]. Вміст органічного карбону в них може варіювати від 1,21 до 14,60 %, а валового нітрогену - від 0,023 до 0,291 % [7]. Меліорація відвалів кам'яновугільним попелом стимулює акумуляцію органічного карбону [17] та підвищує вміст рухомих форм макроелементів, зокрема, й нітрогену [20]. Внесення гумату калію позитивно впливає на вміст органічного карбону в процесі рекультиваци відвалів вуглепромисловості [21], покращує доступність нітрогену для рослин у сільському господарстві [9] та під час ревіталізації засолених ґрунтів [15]. Дослідження вмісту карбону й нітрогену в пагонах після 112 діб вирощування на умовно чистому субстраті показало C/N-співвідношення 31,4 [14]. Однак у літературі не знайдено досліджень сумісного впливу кам'яновугільного попелу та гуматів калію на вміст карбону й нітрогену в субстратах породних відвалів вуглепромисловості.

### Матеріали та методи

Сіро-чорну неперегорілу породу відбирали з підніжжя південного схилу відвалу ЦЗФ (с. Сілець, Червоноградський р-н, Львівська обл.), а кам'яновугільний попіл з відвалу Добровірівської теплоелектростанції (смт Добровір того ж району й області). Як умовно оптимальний субстрат для онтогенезу рослин, котрий для зручності назвали еталоном, використовували ґрунтосуміш торфу, листового перегною та піску зі співвідношенням складових 1:2:1. Субстрати контролю готували з породи відвалу, додавши в неї 1/10 ґрунтосуміші еталону, щоб уникнути швидкої загибелі рослин. У ролі дослідних варіантів були субстрати контролю з домішкою одного чи обох вищезгаданих дослідних меліорантів. Вплив попелу Добровірівської теплоелектростанції досліджували в концентрації 5 % від маси субстрату породного відвалу, а вплив гуматів - шляхом одноразового першого поливу субстратів 150 мл 0,5 % розчину гумату калію «ГКВ-45» виробництва ТЗОВ «ПАРК» (с. Великополе, Яворівський р-н, Львівська обл.), який, за даними інструкції, містив 16,6 % валового карбону та 0,24 % валового нітрогену. Насіння *S. drummondii* 4 доби пророщували в термостаті за температури 23 °С. Потім у горщики об'ємом 2 л висаджували по 15 проростків, які з липня до жовтня вирощували під відкритим небом на території біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка протягом 95 діб. Вміст амонійного нітрогену в субстратах визначали за реакцією з реактивом Неслера [4], нітритного з реактивом Грісса [2], а нітратного – згідно з методом Грандвальд-Ляжу [5]. Валовий вміст нітрогену в коренях, стеблах і листках визначали фотоколориметрично за реакцією з реактивом Неслера після мокрого озолення згідно з методом Піневич у модифікації Куркаєвої [4]. Органічний карбон у субстратах і вищевказаних органах *S. drummondii* визначали методом Нікітіна в модифікації Антонової та співавторів [1]. Середнє арифметичне, стандартне відхилення та статистичну достовірність одержаних результатів згідно з t-критерієм Стьюдента обчислювали за допомогою програми MS Excel 2007, а кореляційний аналіз проводили у програмі STATISTICA 10.

### Результати і їхнє обговорення

У субстраті відвалу ми виявили нижчий вміст нітритного й нітратного нітрогену, ніж у субстраті еталону. Додавання попелу підвищило їхній вміст у субстраті відвалу, що можна пояснити наявністю в ньому калію і кальцію [6], які збільшують рухомість нітритів і нітратів [19]. Внесення гумату теж підвищило вміст цих форм нітрогену в субстраті, що можна пояснити здатністю гумату калію покращувати доступність макроелементів для рослин [11]. Слід зазначити, що внесення попелу й гумату разом збільшує концентрацію нітритного й нітратного нітрогену в субстраті відвалу сильніше, ніж внесення тільки одного з цих меліорантів (табл. 1). Вирощування рослин *S. drummondii* протягом 95 діб знизило вміст цих двох форм нітрогену в субстраті більшості дослідних варіантів (рис. 1),

що, вочевидь, зумовлено поглинанням нітритів і нітратів коренями рослин [10], оскільки виявлено позитивну кореляцію їхнього вмісту з валовим вмістом нітрогену в рослинах (табл. 2). У субстраті відвалу знайдено високий вміст амонійного нітрогену. Додавання попелу його знизило (табл. 1), що можна пояснити взаємодією лужних металів попелу [6] з амонійними сполуками з утворенням леткого аміаку [22]. Вирощування рослин *S. drummondii* зменшило вміст амонійного нітрогену в субстратах усіх дослідних варіантів (рис. 1), що можна пояснити поглинанням цієї рухомої форми нітрогену рослинами [10]. Таке поглинання підтверджує позитивна кореляція вмісту амонійного нітрогену в субстраті з валовим вмістом нітрогену в органах *S. drummondii* (табл. 2).

Таблиця 1

Вплив попелу й гумату на вміст нітритного, нітратного й амонійного нітрогену в субстраті відвалу до і після вирощування *S. drummondii* (n=5)

Вміст нітрогену в сухій масі	Субстрат	Вирощування <i>S. drummondii</i>	
		До	Після
Нітритний, мг/кг	Еталон	10,7±0,3	5,05±0,24
	Порода	2,95±0,24	1,90±0,24
	Порода+Попіл	5,14±0,36*	3,19±0,23*
	Порода+Гумат	6,51±0,29*	3,91±0,31*
	Порода+Попіл+Гумат	7,53±0,36*	4,45±0,24*
Нітратний, мг/кг	Еталон	12,1±0,3	8,24±0,37
	Порода	3,98±0,29	2,10±0,22
	Порода+Попіл	7,08±0,22*	3,07±0,22*
	Порода+Гумат	5,86±0,27*	3,98±0,29*
	Порода+Попіл+Гумат	8,32±0,31*	5,20±0,29*
Амонійний, г/кг	Еталон	1,19±0,08	0,92±0,06
	Порода	2,34±0,07	1,89±0,08
	Порода+Попіл	1,83±0,06*	1,49±0,07*
	Порода+Гумат	2,43±0,04	1,97±0,07
	Порода+Попіл+Гумат	1,94±0,07*	1,33±0,07*

**Примітка:** \* - достовірна різниця значень дослідів (з додаванням попелу й гумату) щодо контролю (без додавання попелу й гумату) за  $p \leq 0,05$

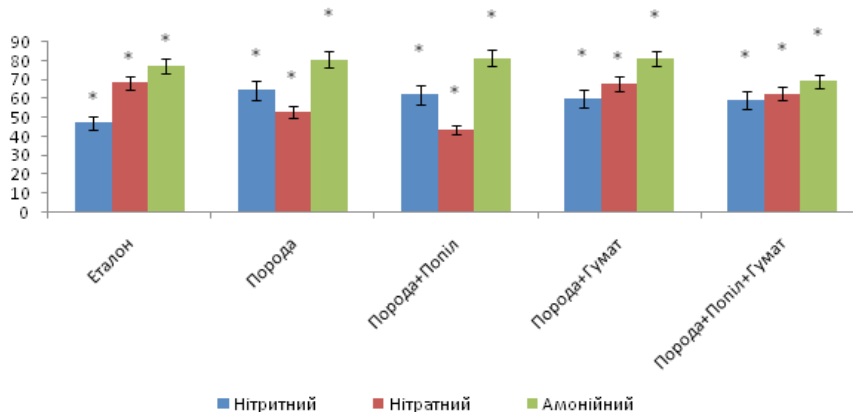


Рис. 1. Вміст нітритного, нітратного й амонійного нітрогену в субстраті відвалу за впливу вирощування *S. drummondii* (n=5), %. Примітка: \* - достовірна різниця значень після вирощування *S. drummondii* щодо субстрату до нього (100 %) за  $p \leq 0,05$



Також з'ясовано, що попіл і гумат у субстраті відвалу збільшують валовий вміст нітрогену в коренях, стеблах і листках рослин *S. drummondii*, що можна пояснити зниженням фітотоксичності завдяки впливу цих дослідних меліорантів. Внесення попелу й гумату разом сильніше збільшило вміст цього макроелементу в органах рослин, ніж внесення тільки одного з них (рис. 2).

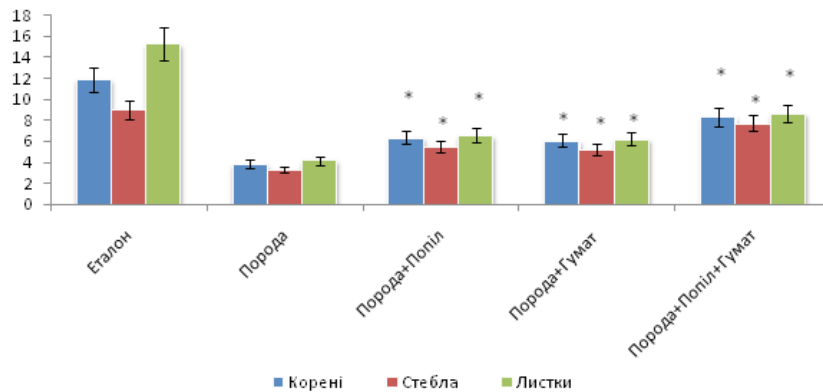


Рис. 2. Валовий вміст нітрогену в органах *S. drummondii* після росту на субстраті відвалу (n=5), г/кг сухої маси. **Примітка:** \* - достовірна різниця значень дослідів (з додаванням попелу й гумату) щодо контролю (без додавання попелу й гумату) за  $p \leq 0,05$

Таблиця 2

Коефіцієнти кореляції валового вмісту нітрогену (N) в органах рослин із вмістом амонійного ( $\text{NH}_4$ ), нітритного ( $\text{NO}_2$ ) й нітратного ( $\text{NO}_3$ ) нітрогену в субстраті відвалу до і після вирощування *S. drummondii* (n=20)

	$\text{NH}_4$ До	$\text{NH}_4$ Після	$\text{NO}_2$ До	$\text{NO}_2$ Після	$\text{NO}_3$ До	$\text{NO}_3$ Після	N Корені	N Стебла	N Листки
$\text{NH}_4$ До		0,89#	-0,27	-0,30	-0,74#	-0,29	-0,57#	-0,57#	-0,60#
$\text{NH}_4$ Після	0,89#		-0,45#	-0,44	-0,83#	-0,51#	-0,71#	-0,75#	-0,73#
$\text{NO}_2$ До	-0,27	-0,45#		0,96#	0,82#	0,94#	0,88#	0,88#	0,87#
$\text{NO}_2$ Після	-0,30	-0,44	0,96#		0,80#	0,90#	0,85#	0,88#	0,86#
$\text{NO}_3$ До	-0,74#	-0,83#	0,82#	0,80#		0,82#	0,94#	0,92#	0,92#
$\text{NO}_3$ Після	-0,29	-0,51#	0,94#	0,90#	0,82#		0,88#	0,89#	0,86#
N Корені	-0,57#	-0,71#	0,88#	0,85#	0,94#	0,88#		0,91#	0,96#
N Стебла	-0,57#	-0,75#	0,88#	0,88#	0,92#	0,89#	0,91#		0,92#
N Листки	-0,60#	-0,73#	0,87#	0,86#	0,92#	0,86#	0,96#	0,92#	

**Примітка:** # – тут і далі наявність достовірної кореляції за  $p \leq 0,05$

У субстраті відвалу знайдено більше органічного карбону, ніж у субстраті еталону (табл. 3). Вирощування рослин *S. drummondii* підвищило його вміст у субстратах із попелом і обома меліорантами разом (рис. 3), що можна пояснити виділенням органічних сполук коренями рослин [8]. У свою чергу, в коренях, стеблах і листках *S. drummondii*, яке вирощували на субстраті відвалу, виявлено менше органічного карбону, ніж у рослинах еталону, що можна пояснити його фітотоксичністю. Додавання в субстрат попелу й гумату збільшило вміст цього макроелементу в органах *S. drummondii*.

Таблиця 3

Вплив попелу й гумату на вміст органічного карбону в органах рослин і субстраті відвалу до і після вирощування *S. drummondii* (n=5), г/кг сухої маси

Субстрат	Вирощування <i>S. drummondii</i>		Орган <i>S. drummondii</i>		
	До	Після	Листок	Стебло	Корінь
Еталон	81,4±2,1	94,5±1,9	451±6	381±4	352±3
Порода	121±3	130±3	324±4	262±3	211±3
Порода+Попіл	104±2*	118±2*	379±4*	304±3*	269±3*
Порода+Гумат	122±3	131±3	352±4*	298±3*	248±3*
Порода+Попіл+Гумат	104±2*	114±2*	417±5*	336±4*	329±3*

**Примітка:** \* - достовірна різниця значень дослідів (з додаванням попелу й гумату) щодо контролю (без додавання попелу й гумату) за  $p \leq 0,05$

Відмічено, що внесення обох меліорантів підвищує вміст органічного карбону в рослинах сильніше, ніж внесення тільки одного з них (табл. 3). Також виявлено негативну кореляцію вмісту карбону в органах *S. drummondii* з його вмістом у субстраті відвалу (табл. 4), що можна пояснити ймовірною взаємодією корневих виділень і хімічних сполук неперегорілої породи, яка потребує додаткового вивчення. У субстраті відвалу з попелом знайдено менше карбону, ніж у субстраті без нього, що можна пояснити незольністю цього макроелементу [18, с.169].

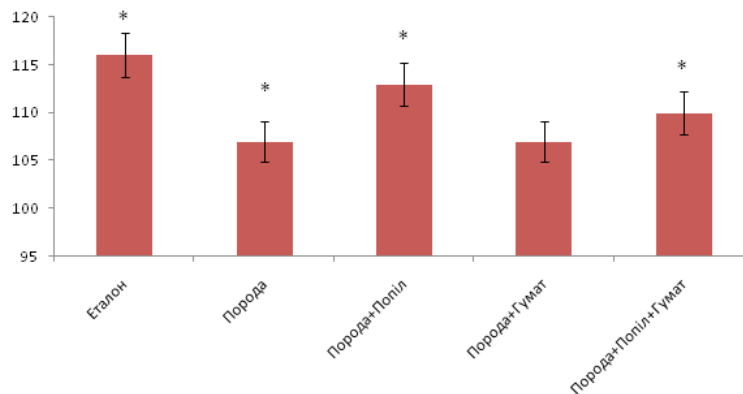


Рис. 3. Вміст органічного карбону в субстраті відвалу за впливу вирощування *S. drummondii* (n=5), %.

**Примітка:** \* - достовірна різниця значень після вирощування *S. drummondii* щодо субстрату до нього (100 %) за  $p \leq 0,05$

Натомість, гумат не вплинув на вміст органічного карбону в субстраті. У рослинах, які вирощували на субстраті відвалу, виявлено значне підвищення C/N-співвідношення щодо еталону. Додавання попелу знизило його в коренях і листках, а гумату - в коренях, стеблах і листках *S. drummondii*. З'ясовано, що внесення обох меліорантів сильніше

впливає на C/N-співвідношення в органах рослин, ніж внесення тільки одного з них (рис. 4). Зниження співвідношення органічного карбону до валового нітрогену в рослинах можна пояснити зниженням фітотоксичності субстрату відвалу завдяки впливові попелу й гумату.

Таблиця 4

Коефіцієнти кореляції вмісту органічного карбону в органах рослин із його вмістом у субстраті відвалу до і після вирощування *S. drummondii* (n=20)

	До	Після	Корінь	Стебло	Листок
До		0,95#	-0,78#	-0,71#	-0,84#
Після	0,95#		-0,83#	-0,76#	-0,88#
Корінь	-0,78#	-0,83#		0,98#	0,99#
Стебло	-0,71#	-0,76#	0,98#		0,96#
Листок	-0,84#	-0,88#	0,99#	0,96#	

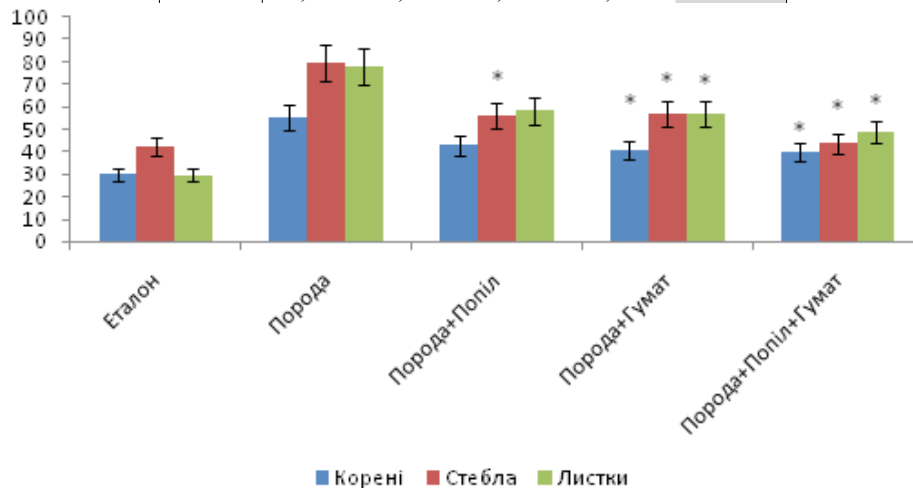


Рис. 4. Вплив попелу й гумату на C/N-співвідношення в органах *S. drummondii* після вирощування на субстраті породного відвалу (n=5). Примітка: \* - достовірна різниця значень дослідів (з додаванням попелу й гумату) щодо контролю (без додавання попелу й гумату) за  $p \leq 0,05$

Отже, сіро-чорна неперегоріла порода відвалу ЦЗФ «Червоноградська» характеризується підвищеним вмістом амонійного нітрогену й органічного карбону. Внесення кам'яновугільного попелу Добротвірської ТЕС і гумату калію «ГКВ-45» спричиняє наближення вмісту обох досліджених макроелементів у субстраті відвалу й органах *S. drummondii* в бік значень умовно оптимального субстрату еталону, що свідчить про ефективність досліджених меліорантів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонова Э. П., Скалабан В. Д., Сучилкина Л. Г. Определение содержания в почвах гумуса // Почвоведение. 1984. № 11. С. 130–133.
2. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. 2-е изд. М.: МГУ, 1970. 488 с.

3. Баранов В. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як суб'єкта озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
4. Практикум по агрохімії: уч. посіб. 2-е изд., перераб. и доп. / под ред. акад. РАСХН В. Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
5. Популярні методи аналізу ґрунтів: метод. рекомендації до курсових і кваліфікаційних робіт / укл. С. М. Польчина. Чернівці: Рута, 2006. 88 с.
6. Шпак Я. В. Фітостресорність породних відвалів кам'яновугільних шахт за впливу попелу ТЕС і гумату калію: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Львів, 2020. 168 с.
7. Abramowicz A., Rahmonov O., Fabiańska M. et al. Changes in soil chemical composition caused by self-heating of a coal-waste dump // Land Degrad Dev. 2021. P. 1–10.
8. Dijkstra F., Zhu B., Cheng W. Root effects on soil organic carbon: a double-edged sword // New Phytologist. 2021. Vol. 230. N 1. P. 60–65.
9. Espie P., Ridgway H. Bioactive carbon improves nitrogen fertiliser efficiency and ecological sustainability // Sci. Rep. 2020. Vol. 3227. N 10. P. 1–10.
10. Gojon A. Nitrogen nutrition in plants: rapid progress and new challenges // J. Exp. Bot. 2017. Vol. 68. N 10. P. 2457–2462.
11. Ibrahim S., Ali A. Effect of Potassium Humate Application on Yield and Nutrient Uptake of Maize Grown In a Calcareous Soil // Alex. Sci. Exch. J. 2018. N 39. P. 412–418.
12. Kříbek B., Šýkorová I., Veselovský F. et al. Trace element geochemistry of self-burning and weathering of a mineralized coal waste dump: The Novátor mine, Czech Republic // Int. J. Coal Geol. 2017. Vol. 173. P. 158–175.
13. Luo W., Li M., Sardans J. et al. Carbon and nitrogen allocation shifts in plants and soils along aridity and fertility gradients in grasslands of China // Ecol. Evol. 2017. Vol. 7. N 17. P. 6927–6934.
14. Lynch M., Mulvaney M., Hodges S. et al. Decomposition, nitrogen and carbon mineralization from food and cover crop residues in the central plateau of Haiti // SpringerPlus. 2016. Vol. 973. N 5. P. 1–9.
15. Mahdi A., Badawy S., Latef A. et al. Integrated Effects of Potassium Humate and Planting Density on Growth, Physiological Traits and Yield of Vicia faba L. Grown in Newly Reclaimed Soil // Agronomy. 2021. Vol. 461. N 11. P. 1–12.
16. Maiti S., Ahirwal J. Chapter 3 – Ecological Restoration of Coal Mine Degraded Lands: Topsoil Management, Pedogenesis, Carbon Sequestration, and Mine Pit Limnology / Editors: Pandey V., Baudhh K. // Phytomanagement of Polluted Sites. Elsevier, 2019. P. 83–11.
17. Mukhopadhyay S., Mastro R. Effect of fly ash on carbon mineralization of biochar and organic manures added to mine spoil // SN Appl. Sci. 2019. Vol. 1119. N 1. P. 1–10.
18. Pandey V. Phytomanagement of Fly Ash. Elsevier, 2020. 352 p.
19. Roebuck C. Excel HSC chemistry. Glebe: Pascal Press, 2003. 294 p.
20. Tsadilas C., Hu Z., Bi Y. et al. Utilization of coal fly ash and municipal sewage sludge in agriculture and for reconstruction of soils in disturbed lands: results of case studies from Greece and China // Int. J. Coal. Sci. Technol. 2018. N 5. P. 64–69.
21. Velan M., Prasad M. Chapter 20 – Neyveli Lignite Mine Waste Rehabilitation for Sustainable Development / Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation. Elsevier, 2018. P. 347–370.
22. Watt G., Barnett G., Vaska L. Interaction of Alkali Metals and Liquid Ammonia // Ind. Eng. Chem. 1954. Vol. 46. N 5. P. 1022–1024.

23. *Welcha C., Barbourb S., Hendrya M.* The geochemistry and hydrology of coal waste rock dumps: A systematic global review // *Sci. Total Environ.* 2021. Vol. 148798. N 795. P. 1–19.

Стаття надійшла до редакції 06.10.21

доопрацьована 19.11.21

прийнята до друку 29.11.21

## EFFECT OF COAL FLY ASH AND POTASSIUM HUMATE ON NITROGEN AND CARBON CONTENTS IN COAL INDUSTRY DUMP SUBSTRATE AND ORGANS OF *SORGHUM DRUMMONDII* (NEES EX STEUD.) MILLSP. & CHASE

S. Beshley<sup>1</sup>, V. Baranov<sup>2</sup>, Y. Shpak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Ecology of the Carpathian  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine*

<sup>2</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine*

*e-mail: dr.yaroslav.shpak@gmail.com; volodymyr.baranov@lnu.edu.ua*

Researched ammonium, nitrite and nitrate nitrogen and organic carbon contents in gray-black unburned rock substrate from coal industry waste rock dump of Central Enrichment Factory (CEF) owned by PJSC “Lviv Coal Company” (Lviv Oblast, Ukraine) and total nitrogen and organic carbon contents in organs of *Sorghum drummondii* (Nees ex Steud.) Millsp. & Chase under effect of coal fly ash from the Dobrotvir thermal power plant (Lviv Oblast, Ukraine) and potassium humate “ГКБ-45” (made by LLC “PARK”, Lviv Oblast, Ukraine). Found high content of organic carbon and ammonium nitrogen in waste rock dump substrate with contrast to low content of nitrite and nitrate nitrogen compare to relatively optimal soil mixture of the standard. Detected low carbon and nitrogen contents in organs of *S. drummondii* which grew on the waste rock dump substrate, as well as a significantly increased carbon/nitrogen-ratio (in this research the ratio of organic carbon content to total nitrogen content) compare to plants of the standard. Addition of coal fly ash in waste rock dump substrate decreased ammonium nitrogen and organic carbon contents with contrast to nitrite and nitrate nitrogen increasing, as well as organic carbon and total nitrogen in roots, stalks and leaves of researched plants. Introduction of potassium humate increased nitrite and nitrate nitrogen contents in waste rock dump substrate, organic carbon and total nitrogen contents in organs of *S. drummondii*. Changing of both studied macronutrients contents in plants under the effect of ameliorants caused decreasing carbon/nitrogen-ratio to the direction of the standard values. Growing of *S. drummondii* grass for 95 days increased organic carbon content in all options of substrates except the rock with potassium humate addition and decreased ammonium, nitrite and nitrate nitrogen contents in all researched options of substrates without exceptions. Noted that combined effect of coal fly ash and potassium humate on carbon and nitrogen contents in waste rock dump substrate and organs of *S. drummondii* is stronger than just one of both above mentioned researched ameliorants.

*Keywords:* carbon/nitrogen-ratio, waste rock dump, coal fly ash, potassium humate, *Sorghum*

## ЕФЕКТ ДІЇ ІНДОЛІЛМАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ І ГЛИНУВАННЯ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ ТА СОСНИ ЖОРСТКОЇ В УМОВАХ РОСТУ НА ТЕХНОГЕННИХ СУБСТРАТАХ

**В. Баранов, С. Ващук, Л. Карпінєць, І. Микієвич**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: baranovlwiv@gmail.com; volodymyr.baranov@lnu.edu.ua*

Вивчено вплив різних концентрацій індолілмасляної кислоти (ІМК) за глинування кореневої системи на морфометричні показники саджанців сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) на породному відвалі вугільних шахт і сосни жорсткої (*Pinus rigida* Mill.) в умовах росту на техногенних субстратах відвалу в модельних дослідах. Виявлено, що застосування методу глинування кореневої системи сосни за одночасного додавання ІМК сприяє значному збільшенню ростових параметрів надземної фітомаси та розвитку кореневої системи як у модельних, так і в польових дослідах. Найбільшу кількість коренів у сосни жорсткої (лабораторні умови) стимулювали концентрації ІМК – 100 та 200 мг/кг глини на чорному субстраті (296 %), а масу коренів цих же концентрацій – на червоному субстраті (795 % та 788 % відповідно). На чорному субстраті усі концентрації індолілмасляної кислоти (50, 100, 200 мг/кг глини) значно краще стимулювали довжину пагона, зокрема, ІМК 100 мг/кг глини (244 %). На червоному субстраті за дії усіх співвідношень ІМК до глини ріст пагона був повільнішим, ніж на чорному. Проте спостерігали значне нагромадження його біомаси, зокрема, за концентрації ІМК 100 мг/кг глини – 554 %.

Досліджено, що саджанці сосни звичайної, які росли на породному відвалі Центральної збагачувальної фабрики впродовж 2 і 3 років, за використання глинування й індолілмасляної кислоти у різних концентраціях також збільшували свої морфометричні параметри.

Виявлено, що у 2-річних саджанців хвойного дерева максимальну фітомуся пагона (438 %) встановлено за співвідношення ІМК до глини – 100 мг/кг глини. Індолілмасляна кислота у концентраціях 100 та 200 мг/кг глини суттєво вплинула на формування біомаси коренів у рослин – 748 % та 690 % відповідно.

На 3-й рік росту сосни звичайної на техногенних субстратах спостерігали значне нагромадження маси кореня за концентрації індолілмасляної кислоти 100 та 200 мг/кг глини (1168–1189 % відповідно). Надземна фітомаса була найбільшою (777 %) за концентрації ІМК 100 мг/кг глини. Встановлено, що оптимальною концентрацією для онтогенезу рослин є індолілмасляна кислота у співвідношенні 100 мг/кг глини як у модельних, так і в польових дослідах.

*Ключові слова:* породний відвал, глинування, індолілмасляна кислота, сосна звичайна, сосна жорстка

Проблема адаптації і стійкості рослин унаслідок забруднення навколишнього середовища є одним із актуальних питань під час вивчення фізіології та екології рослин [11, 14, 16, 22]. Особливо це стосується трансформованих територій, утворених у результаті активної вугледобувної діяльності. При цьому із надр землі виноситься нехарактерна за фізико-хімічним і механічним складом для поверхні літосфери материнська порода, з якої формують відвали – насипи різної форми й висоти, що потребують рекультиватії. Фіторекультиватія є найбільш економічно та екологічно вигідним способом відновлення

модифікованих територій [7]. Це, зокрема, стосується і породного відвалу Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ), який розташований поблизу с. Сілець Сокальського р-ну Львівської обл. Умови відвалу є несприятливими для росту рослин – значний вміст важких металів, висока кислотність, вітрова ерозія, майже повна відсутність органічної маси [1]. Тому слід підбирати для фіторекультивациі рослини, стійкі до екстремальних умов середовища існування. Таким представником флори на породному відвалі є сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) – одна із піонерних деревних рослин, яка трапляється окремими екземплярами на різних експозиціях і положеннях відвалу. Однак унаслідок сукупної дії стресових абіотичних чинників на трансформованій території ріст сосни сповільнений.

На сьогодні активно проводяться дослідження з використанням регуляторів росту рослин (РРР), і хоча пріоритетними у цьому напрямі є препарати, виготовлені на основі природної сировини [10, 13, 20], досить широко використовуються і синтетичні препарати. Їх розглядають як екзогенні засоби, що дають змогу нейтралізувати негативний вплив чинників зовнішнього середовища на рослинні організми. Накопичений досвід свідчить про позитивну дію стимуляторів росту на фізіологічні та біохімічні процеси рослин [15].

У практиці рослинництва для активації коренеутворення у живців і регенерації їхньої кореневої системи досить часто використовують ауксин – індолілоцтову кислоту (ІОК) [17]. Одним із синтетичних гомологів ауксину є індолілмасляна кислота (ІМК), яка має більшу здатність стимулювати утворення коренів, ніж ауксин [18]. Відомо, що ІМК активує поділ клітин паренхіми, а це сприяє диференціації корневих зачатків у базальній частині тканини [2, 23]. На основі результатів досліджень встановлено, що ІМК індукувала ризогенез у рослин, проявляла у них високу регенераційну здатність і зменшувала період вкорінювання [6, 19].

Із літературних джерел відомо також про проведення глинування коріння деревних рослин із використанням регуляторів росту [5, 8, 12, 21]. Роботи В. Верзілова та інших [3, 4] показали, що регулятори сприяли росту кореневої системи живців рослин як у перший, так і в подальші роки їхнього онтогенезу. У дорослих пересаджених дерев за обробки стимуляторами швидко регенерувалася коренева система і збільшувався приріст надземних частин рослин упродовж років. Водночас актуальним є вивчення регуляції росту і розвитку рослин на порушених територіях, зокрема, на породних відвалах вугільних шахт.

Мета даної роботи - застосувати методику глинування кореневої системи з використанням ІМК у саджанців сосни звичайної та сосни жорсткої для аналізу морфометричних показників рослин у лабораторних умовах і за росту на техногенних субстратах породного відвалу ЦЗФ, а також встановити оптимальну концентрацію ІМК.

#### Матеріали та методи

У модельних дослідах використовували саджанці сосни жорсткої, які пересаджували у горщики з червоним (перегорілим) і чорним (неперегорілим) субстратами відвалу. Попередньо кореневу систему рослин поміщали у глиняну суміш з ІМК різних концентрацій. За контроль приймали саджанці, які вирощували на суміші торф+пісок (1:1).

Для визначення оптимальної концентрації ІМК брали такі її співвідношення: 50, 100 та 200 мг регулятора росту / кг сухої глини, додаючи воду до утворення сметаноподібного стану. Після цього саджанці умочували в цю суміш. Контролем слугували рослини без використання глинування та додавання ІМК.

Також саджанці сосни звичайної висаджували навесні на території породного відвалу ЦЗФ за попередньо описаною схемою (модельний дослід). Вимірювали ростові показники та біомасу коренів і пагонів рослин у жовтні-листопаді на 2-й і 3-й роки росту на техногенному субстраті. Отримані результати опрацьовували методами статистичного аналізу в пакеті програм “Excell” і “Statistica” [9].

**Результати і їхнє обговорення**

За проведеним аналізом встановлено, що індолілмасляна кислота чинила позитивний ефект на морфометричні показники сосен (жорсткої та звичайної) як у модельних, так і в польових дослідах за всіх концентрацій, і, що важливо, краще саме на субстратах відвалу (табл. 1, 2).

Найбільшу кількість коренів у сосни жорсткої (лабораторні умови) стимулювали концентрації ІМК – 100 та 200 мг/кг глини на чорному субстраті (296 %), а масу коренів цих же концентрацій – на червоному субстраті (795 % та 788 % відповідно) (табл. 1). Окрім того, на чорному та червоному субстратах за дії ІМК у співвідношенні 100 та 200 мг/кг глини довжина кореня сосни зменшувалась, порівняно з контролем (торф+пісок 1:1), але була вищою, ніж довжина кореня рослин на обох породах без додавання глини та ІМК. У проростків, які росли на варіанті торф+пісок (1:1), за дії різних концентрацій ІМК різниці між ростовими параметрами пагона щодо контролю не спостерігали. Однак на чорному субстраті всі концентрації ІМК у комбінації з глиною значно краще стимулювали довжину надземної частини рослин, зокрема, ІМК 100 мг/кг глини (244 %). На червоному субстраті за дії усіх співвідношень ІМК до глини ріст пагона був повільнішим, ніж на чорному, зате спостерігали значне нагромадження його біомаси, зокрема, за концентрації ІМК 100 мг/кг глини – 554 %. У варіанті торф+пісок (1:1) за цієї ж концентрації ІМК накопичення надземної частини рослин становило 169 %.

Таблиця 1

Морфометричні показники сосни жорсткої на різних типах субстратів

Варіант/ (ІМК мг/кг глини)	Довжина пагона, см		Маса пагона, мг		Довжина кореня, см		Маса кореня, мг		Кількість коренів, шт.	
	M±m	%	M±m	%	M±m	%	M±m	%	M±m	%
Торф+пісок (1:1)										
Контроль	11,76±0,73	100	0,45±0,05	100	9,22±1,08	100	0,22±0,01	100	7,00±0,80	100
50	11,94±0,23	102	0,74 ±0,10	128	11,82±1,60	164	0,40 ±0,03	191	7,20± 0,37	103
100	11,72±0,98	100	0,96 ±0,14	169	15,60±1,17	213	0,49±0,06	223	7,80 ± 0,70	111
200	11,84±0,98	101	0,95±0,13	170	15,64±1,17	211	0,48±0,06	218	8,00 ± 0,45	114
Чорний субстрат										
Контроль	7,42±0,54	100	0,40±0,04	100	14,42±1,24	100	0,40±0,04	100	5,40±0,75	100
50	12,54±1,04	169	0,82±0,12	205	15,36±0,95	107	0,86±0,12	215	10,00±0,89	185
100	18,10±0,90	244	1,39±0,16	348	20,80±1,38	144	1,64±0,16	410	16,00±0,71	296
200	17,80±1,07	240	1,41±0,16	353	20,08±1,92	139	1,64±0,16	410	16,00±1,30	296
Червоний субстрат										
Контроль	10,28±1,19	100	0,57±0,08	100	8,80±1,01	100	0,43±0,05	100	7,60±0,87	100
50	12,96±1,01	126	0,89±0,11	156	17,82±0,60	203	1,07±0,09	249	11,20±1,07	147
100	14,26±1,27	139	3,16±0,14	554	18,10±2,09	206	3,42±0,39	795	13,20±1,16	174
200	13,70±1,05	133	3,13±0,12	549	17,98±1,36	204	3,39±0,27	788	13,40±1,21	176



Результати аналізу свідчать, що саджанці сосни звичайної, які росли на породному відвалі ЦЗФ упродовж 2 і 3 років, за використання глинування та ІМК у різних концентраціях, також збільшували свої морфометричні параметри (табл. 2).

Виявлено, що у 2-річних саджанців сосни звичайної морфометричні показники були вищими у всіх варіантах, порівняно з контролем. Довжина пагона збільшувалася з підвищенням концентрації ІМК від 108 % до 140 %, його максимальну масу (438 %) встановлено за співвідношення ІМК до глини 100 мг/кг глини. Індолілмасляна кислота у концентраціях 100 та 200 мг/кг глини суттєво вплинула на формування біомаси кореня у рослин – 748 % і 690 % відповідно та менше (168 % за дії обох концентрацій) – на довжину кореня.

На 3-й рік росту сосни у модифікованому середовищі надземна фітомаса була найбільшою (777 %) за концентрації ІМК 100 мг/кг глини. Слід зазначити, що ІМК найменше стимулювала ростові параметри пагона, зате суттєво впливала на формування підземної частини рослини. Так, значне нагромадження маси кореня спостерігали за концентрації ІМК 100 та 200 мг/кг глини – 1168–1189 % відповідно.

Таблиця 2

Морфометричні показники саджанців сосни звичайної  
за умов росту на породному відвалі ЦЗФ

Варіант (ІМК мг/кг глини)	Довжина пагона, см		Маса пагона, мг		Довжина кореня, см		Маса кореня, мг	
	M±m	%	M±m	%	M±m	%	M±m	%
2-й рік росту на відвалі								
Контроль	12,08±0,93	100	3,67±0,51	100	19,98±1,18	100	0,80±0,05	100
50	13,08±0,56	108	5,56±0,62	151	22,96±0,23	115	1,64±0,18	205
100	16,70±0,67	138	16,06±1,80	438	33,50±1,66	168	5,98±0,72	748
200	16,86±0,95	140	15,67±1,49	427	33,52±2,40	168	5,52±0,55	690
3-й рік росту на відвалі								
Контроль	15,0±1,07	100	8,25±0,49	100	26,68±1,24	100	2,76±0,25	100
50	18,58±0,62	124	11,13±0,82	135	28,68±1,54	107	5,24±0,64	190
100	17,90±0,30	119	64,10±3,42	777	36,44±1,67	137	32,25±1,26	1168
200	17,98±0,87	120	62,23±4,06	754	36,80±1,58	138	32,83±1,19	1189

Таким чином, застосування методу глинування кореневої системи сосни за одночасного додавання ІМК сприяє збільшенню ростових показників надземної фітомаси та розвитку кореневої системи як у модельних, так і в польових дослідках, причому цей показник краще виражений на субстратах відвалу. Значний приріст спостерігали за масою кореня, що підтверджує літературні дані стосовно позитивного впливу ІМК на процес ризогенезу. Із використаних нами концентрацій ІМК оптимальною є 100 мг/кг глини.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
2. Бутенко Р. Г. Культура клеток растений и биотехнология. М.: Наука, 1986. 236 с.
3. Верзилов В. Ф. Стимуляторы роста в зеленом строительстве. М., 1955. 96 с.
4. Верзилов В. Ф., Рункова Л. В. Влияние условий среды на интенсивность дыхания

- черенков, обработанных гетероауксином // ДАН СССР. 1959. Т. 124. № 2. С. 36–40.
5. Гамбург К. З., Кулаева О. Н., Муромцев Г. С. и др. Регуляторы роста растений / под ред. Г. С. Муромцева. М.: Колос, 1979. 246 с.
  6. Глухов О., Довбиш Н. Збереження сортової та формової різноманітності малопоширених деревних листяних рослин шляхом штучної репродукції // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 36. С. 160–164.
  7. Гуральчук Ж. З., Гудков І. М. ФітореMediaція та її роль в очищенні ґрунтів від важких металів та радіонуклідів // Физиология и биохимия культ. растений. 2005. Т. 37. № 5. С. 371–383.
  8. Кочерженко И. Е. Использование синтетических ростовых веществ в питомничьем хозяйстве // Бюлл. по культурам влажных субтропиков. 1943. № 10. С. 48–59.
  9. Лакин Г. Ф. Биометрия: уч. пособ. для биол. спец. вузов: 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
  10. Моргун В. В., Яворська В. К., Драгозов І. В. Проблема регуляторів росту у світі та її вирішення в Україні // Физиология и биохимия культ. растений. 2002. № 5. С. 371–376.
  11. Мусієнко М. М. Екологія. Охорона природи. К.: Знання, 2002. 550 с.
  12. Поликарпова Ф. Я. Размножение плодовых и ягодных культур зелеными черенками, 2-е изд. М.: Агропромиздат, 1990. С. 96.
  13. Пономаренко С. П. Регулятори росту рослин – вагомий резерв урожаю 2009 // Посібник українського хлібороба. 2009. С. 102–104.
  14. Ситник К. М. Ботаніка. Порядок денний на ХХІ століття. Фізіологія // Укр. ботан. журнал. 2000. Т. 57. № 2. С. 113–118.
  15. Тараненко Ю. М. Вплив регуляторів росту рослин на посівну якість насіння сосни звичайної // Наук. вісн. НУБіП України. 2011. 164 (3). С. 213–220.
  16. Терек О. І. Механізми адаптації та стійкості рослин до несприятливих факторів довкілля // Журнал агробіології та екології. 2004. Т. 1. № 1–2. С. 41–56.
  17. Терек О. І. Ріст і розвиток рослин: навч. посіб. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2007. 248 с.
  18. Турецкая Р. Х. Физиология корнеобразования у черенков и стимуляторы роста. М., 1961. 318 с.
  19. Худолєєва Л. В., Куцоконь Н. К., Нестеренко О. Г. та ін. Введення в культуру *in vitro* клонів тополь та верб, перспективних для відновлюваної енергетики // Біол. системи. 2017. Т. 9. Вип. 1. С. 18–22.
  20. Яворська В. К., Драгозов І. В., Крючкова Л. О. та ін. Регулятори росту на основі природної сировини та їх застосування в рослинництві / Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. К.: Логос, 2006. 177 с.
  21. Plank D. K. Rooting response of slash pine seedlings to indolebutyric acid // Journal Forestry. 1939. 37. P. 497–498.
  22. Schultz E. D., Mooney H. A. Biodiversity and Ecosystem Function. Berlin: Springer-Verlag, 1993. P. 228–245.
  23. Skoog F., Miller C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures *in vitro* // 11-th. Symp. Soc. Exp. Biol. 1957. Vol. 2. P. 118–131.

Стаття надійшла до редакції 11.10.21

доопрацьована 04.12.21

прийнята до друку 06.12.21

**EFFECT OF THE INDOLEBUTYRIC ACID AND THE CLAYING ACTIVITY ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE SCOTCH PINE AND THE PITCH PINE IN GROWTH CONDITIONS ON TECHNOGENIC SUBSTRATES****V. Baranov, S. Vashchuk, L. Karpinets, M. Mykiyevich**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: baranovlwiw@gmail.com; volodymyr.baranov@lnu.edu.ua*

The influence of different concentrations of the indolebutyric acid (IBA) during the claying of the root system on morphometric rates of the scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings on the waste heap of coal mines and the pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) in the conditions of growth on technogenic substrates of a dump in model experiments was studied.

It was found that the application of the claying method of the pine root system with the simultaneous addition of the IBA contributes to a significant increase of the growth parameters of aboveground phytomass and development of the root system both model and field experiments.

The largest number of roots in the pitch pine (laboratory conditions) was stimulated concentrations of the IBA – 100 and 200 mg / kg of clay on a black substrate (296 %), and of the roots mass of the same concentrations – on the red substrate (795 % and 788 %, respectively). On the black substrate all concentrations of the indolebutyric acid (50, 100, 200 mg / kg of clay) much better stimulated shoot length, in particular the IBA of 100 mg / kg of clay (244 %).

On the red substrate under the action of the IBA all the ratios to clay shoot growth was slower than on the black. However, a significant accumulation of his biomass was observed, in particular at a concentration of the IBA 100 mg / kg of clay – 554 %.

It was studied that of the scotch pine seedlings, which grew on the waste heap of the Central Concentrating Factory during 2 and 3 years, also increased their morphometric parameters with using of clay and the indolebutyric acid in different concentrations.

It was found that in 2-year-old spruce seedlings the maximum phytomass of the shoot (438 %) was set at the ratio of IBA to clay – 100 mg / kg of clay. Indolebutyric acid at concentrations of 100 and 200 mg / kg of clay significantly affected on formation of root biomass in plants – 748 % and 690 %, respectively. In the 3-rd year of growth of the scotch pine on technogenic substrates, a significant accumulation of the root mass was observed at concentrations of indolebutyric acid of 100 and 200 mg / kg of clay – 1168–1189 %, respectively.

Aboveground phytomass was the largest (777 %) at a concentration 100 mg / kg of clay. It is established that the optimal concentration for plant ontogenesis is the indolebutyric acid at the ratio of 100 mg / kg of clay in both model and field experiments.

*Keywords:* waste heap, claying, indolebutyric acid, scotch pine, pitch pine

## ТРАНСФОРМАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ В АЛЬПІЙСЬКИХ ФІТОЦЕНОЗАХ УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ ЗА УМОВ ЗАПОВІДАННЯ ТА КЛІМАТИЧНИХ ЗМІН

В. Княк<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: vlodkokujak@ukr.net; volodymyr.kujak@lnu.edu.ua

Досліджено типові альпійські фітоценози Українських Карпат: лежачекостричники, зігнутоосочники, трироздільноситничники, лохинники, рододендронники і сеслерієвники, а також відкриті хіонофільні угруповання. Унаслідок порівняльних досліджень протягом 1982–2021 рр. серед альпійських фітоценозів найменші зміни структури, рясності й ценозоутворюючих позицій видів встановлено в угрупованнях із домінуванням *Juncus trifidus*, *Vaccinium uliginosum*, *Rhododendron myrtifolium* і *Sesleria coerulans*, зокрема, в угрупованнях *Juncetum cetrario-myrtillosum*, *Uliginetum cetrariosum*, *Rhodoretum calamagrostiosum* і *Seslerietum cariceto-festucosum*. Водночас у лежачекостричниках і зігнутоосочниках значно знизилася позиція домінантів. Лежачекостричники зазнають розпаду і заміни іншими фітоценозами з домінуванням *Juniperus communis* subsp. *alpina*, *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* і *Calamagrostis villosa*. Протягом останнього десятиліття відбуваються кардинальні перебування зігнутоосочників. На відміну від вирішального впливу постпасторальних демураційних процесів на деградацію лежачекостричників, зміни фітоценозів осоки зігнутої зумовлені передусім кліматогенно.

Встановлено, що в альпійському поясі лежачекостричники не належать до корінних первинних фітоценозів, а є вторинними пасторально зумовленими похідними сукцесійними стадіями первинних угруповань інших асоціацій.

Швидка позитивна динаміка протягом останніх десяти років таких мезохіонофільних видів, як *Veronica alpina*, *Gnaphalium supinum*, *Soldanella hungarica*, *Luzula spadicata* і, водночас, негативні зміни популяцій облігатних хіонофілів *Cerastium cerastoides* і *Saxifraga carpatica* вказують на трансформаційні процеси всередині угруповань, приурочених до площ під тривалим і глибоким сніговим покривом. Ці процеси свідчать про швидкі сукцесійні зміни під впливом збільшення вегетаційного періоду внаслідок скорочення тривалості залягання снігового покриву на території хіонофільних фітоценозів, що зумовлене сучасними змінами клімату, насамперед потеплінням.

**Ключові слова:** кліматичні зміни, фітоценоз, популяції рослин, високогір'я, Українські Карпати

Завдяки попереднім дослідженням встановлено, що на заповідних територіях демураційні постпасторальні сукцесії, які тривають понад 30–40 років, зумовлюють істотну загрозу для численних рідкісних видів і фітоценозів альпійського поясу Українських Карпат унаслідок колонізації чагарниками і віолентними видами трав. Ці процеси підсилюються кліматогенними змінами [5]. Таку динаміку проілюстровано на численних прикладах раритетної фітобіоти [5, 6, 11]. Однак є потреба дослідити зміни, які відбуваються у найбільш поширених альпійських угрупованнях.

Рослинність високогір'я Українських Карпат, зокрема, альпійські асоціації й угруповання, їхню фітоценотичну, екологічну і географічну характеристики найґрунтовніше дослідив К. А. Малиновський [12, 13]. У 80-х роках ХХ ст. вивчення охоплено структуру і динаміку ценопопуляцій рослин у найбільш поширених фітоценозах альпійського поясу в діапазоні висот 1750–2000 м н. р. м. з домінуванням *Rhododendron myrtifolium* Schott et Kotschy, *Vaccinium uliginosum* L., *Festuca airoides* Lam., *Juncus trifidus* L., *Carex curvula* All. і *Sesleria coerulans* Friv. за умов заповідання і під впливом антропогенних чинників [2, 3, 8].

Проводили вивчення впливу режиму заповідності на відновлення корінної рослинності й суцесійної трансформації корінних трав'яних фітоценоз у високогір'ї Карпат [7, 9].

Відтак, на популяційному рівні було досліджено вплив заповідання і кліматичних змін на окремі, здебільшого рідкісні види у різних ценозах [1, 4, 11, 14–19]. Детальні дослідження проведено у хіонофільних угрупованнях, які приурочені до місць тривалого залягання снігу і розташовані у діапазоні висот 1700–2000 м н. р. м., тобто у межах альпійського поясу [20].

Вплив кліматичних змін на хіонофільні угруповання вивчали у багатьох європейських країнах. Дослідження в Альпах [25] вказують на важливість впливу тривалості залягання снігу на рослинні угруповання і дають змогу прогнозувати вплив кліматичних змін на поширення окремих видів. Зазначається, що через втрату сприятливого середовища існування внаслідок зменшення тривалості залягання снігу найбільшого негативного впливу будуть зазнавати облігатні хіонофіли. А завдяки більш ранньому початку вегетації та підвищенню температури повітря відбудеться зміна хіонофільних угруповань на угруповання з домінуванням видів альпійських лук. Так, у Піренеях [22] дослідження вказують на тенденцію до зменшення частоти трапляння облігатних хіонофілів (*Cerastium cerastoides* (L.) Britton, *Veronica alpina* L., *Gnaphalium supinum* L. тощо) і до появи в їхньому складі та збільшення частоти трапляння видів високогірних лук (*Poa alpina* L., *Nardus stricta* L., *Carex curvula* тощо). Ці зміни пов'язують із помітним порушенням теплового та дощового режимів у цей період. Схожу ситуацію спостерігаємо і в Карпатах [23, 24], де відзначено зменшення частоти трапляння видів-хіонофілів, а натомість – збільшення участі чагарників і трав'яних видів-конкурентів із навколишніх угруповань.

Метою статті є проаналізувати сучасні трансформаційні процеси в альпійських фітоценозах Українських Карпат за умов заповідання та кліматичних змін.

#### Матеріали та методи

Досліджено типові альпійські фітоценози: лежачекостричники, зігнутоосочники, трироздільноситничники, лохинники, рододендронники і сеслерієвники, а також відкриті хіонофільні угруповання з перевагою *Poa deyllii* Chrtek I. Jirásek, *Luzula spadicea* (All.) DC. і *Cerastium cerastoides*. У типових фітоценозах порівняльні дослідження проведено на основі 40-річних спостережень (1982–2001 рр.), у хіонофільних – протягом 2008–2019 рр.

Унаслідок запровадження заповідного режиму у 80-ті роки ХХ ст. повністю припинено випасання в усіх угрупованнях, окрім *Seslerietum cariceto-festucosum*, де триває невеликої інтенсивності випасання корів і коней, з навантаженням менше 0,5 голів/га.

Дослідження проективного покриття і щільності ценопопуляцій проводили на стаціонарних ділянках, розділених на 40 квадратів  $0,5 \times 0,5$  м, загальною площею  $10 \text{ м}^2$ , закладених більш-менш рівномірно по всій досліджуваній території. Проективне покриття визначали за допомогою методики квадрат-сітки [21] розміром  $0,5 \times 0,5$  м, розділеної на дрібніші квадрати  $10 \times 10$  см. Щільність визначали за чисельністю особин на квадратний метр у межах дослідних ділянок. Вікову структуру і життєвість визначали традиційними методами [17].

Для тривалого порівняльного аналізу динаміки ценопопуляцій у найбільш поширених альпійських фітоценозах використано постійні трансекти розміром  $20 \times 0,5$  м, закладені у 1982 р.

Назви видів подано за Ю.Й. Кобівим [10].

### Результати і їхнє обговорення

Рясність видів у фітоценозах протягом початкового періоду досліджень (1982–88 рр.) змінювалася неістотно. Однак унаслідок порівняльних досліджень встановлено, що протягом останнього часу відбувся значний перерозподіл їхніх ценозоутворюючих позицій (табл. 1). Найменших змін зазнали трироздільноситничники, лохинники, рододендронники і сеслерієвники. Водночас у лежачекостричниках і зігнутоосочниках значно знизилася позиція домінантів. Найбільш лабільними виявилися лежачекостричники, які зазнають розпаду і заміни іншими фітоценозами.

Унаслідок порівняння змін рясності видів у різних фітоценозах встановлено неоднороззначну динаміку – як позитивну, так і негативну лише у *Campanula alpina* Jacq., *Potentilla aurea* L., *Vaccinium myrtillus* L. Односпрямована виразна негативна динаміка притаманна видам *Festuca airoides*, *Carex curvula*, *Helictotrichon versicolor* (Vill.) Pilger, *Homogyne alpina* (L.) Cass., *Soldanella hungarica* Simonk. Натомість істотно збільшилася рясність видів *Calamagrostis villosa* (Chaix) J.F. Gmelin, *Rhododendron myrtifolium*, *Loiseleuria procumbens* (L.) Desv. У фітоценозах нижньої частини альпійського поясу з'явилася низка нових видів, які не траплялися тут у 1982–85 рр.: *Alnus viridis* (Chaix) DC., *Juniperus communis* L. subsp. *alpina* (Suter) Čelak., *Picea abies* (L.) Karsten, *Pulsatilla alba* Reichenb.

Серед ценозоутворюючих видів найбільш позитивні зміни, які виявляються у збільшенні не лише рясності, але й щільності та життєвості популяцій, притаманні лохині, чорниці, брусниці й рододендрону миртолистому, тобто чагарничковим видам. На заповідних територіях для лохини й рододендрона миртолистого це зумовлене передусім припиненням випасу. У лохинниках і рододендронниках відбувається позитивна динаміка цих популяцій завдяки збільшенню чисельності віргінільних і генеративних особин, загального омолодження популяцій і зменшення чисельності постгенеративних вікових груп. У генеративній частині вікових спектрів зростає частка молодих і середньовікових особин. Останніми роками відзначається стабільно висока насіннева продуктивність популяцій.

Висхідна висотна позитивна динаміка властива чорниці та брусниці. Якщо у чорниці в період 1982–87 рр. у лежачекостричниках, сеслерієвниках і зігнутоосочниках плоди не зав'язувались або не визрівали, то в останні роки в цих угрупованнях щороку формується урожай плодів, які досягають і дають життєздатне насіння. У брусниці урожай у дослідних альпійських угрупованнях був нерегулярним, становив максимально кілька десятків плодів із розрахунку на квадратний метр, які переважно не досягали стиглості, а в 2018–21 рр. на висотах 1770–1820 м н. р. м. урожай сягав 0,2 тис. зрілих плодів на квадратний метр у трироздільноситничниках і 1,6 тис. у лохинниках.

Загалом найменші зміни рясності й ценозоутворюючих позицій видів встановлено в угрупованнях *Juncetum cetrario-myrtillosum*, *Uliginetum cetrariosum*, *Rhodoretum calamagrostiosum* і *Seslerietum cariceto-festucosum* (табл. 1). Площа і конфігурація угруповань за тридцятирічний період не змінилася. Така висока стабільність структури фітоценозів за мінливих умов середовища пояснюється їхньою первинністю і виробленістю протягом тривалого історичного розвитку. Сучасну загрозу для них становить прогресуюче поширення та проникнення у фітоценози чагарників – *Alnus viridis* і *Juniperus communis* subsp. *alpina*.

Таблиця 1

## Зміни рясності ценозоутворюючих видів у фітоценозах альпійського поясу

Назва виду	Назва фітоценозу, оселище											
	Juncetum cetrario-myrtillosum, Пожижевська, 1770 м, пн.		Uliginetum cetrariosum, Пожижевська, 1800 м, сх.		Festucetum airoidi, Пожижевська-Данцер, 1740 м		Rhodoretum calamagrostiosum, Пожижевська, 1750 м, сх.		Seslerietum caricetofestucosum, Ребра, 1950 м, пд.		Curvuletum cetrariosum, Бербенеска, 1970 м, зх.	
	Роки		Роки		Роки		Роки		Роки		Роки	
	1985	2021	1985	2021	1985	2021	1985	2021	1985	2021	1985	2021
<i>Calamagrostis villosa</i>	-	1	-	2	-	2	3	4	-	-	-	-
<i>Campanula alpina</i>	2	1	2	1	-	+	+	+	-	-	2	+
<i>Carex curvula</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	4	3
<i>Carex sempervirens</i>	+	1	1	1	-	1	-	-	-	-	-	+
<i>Deschampsia caespitosa</i>	+	+	-	-	-	-	3	1	2	1	-	-
<i>Festuca airoides</i>	3	2	3	1	4	2	1	1	3	2	3	2
<i>Helictotrichon versicolor</i>	2	1	2	1	3	2	2	1	3	2	2	1
<i>Hieracium alpinum</i>	3	2	3	3	3	2	+	+	3	3	3	3
<i>Homogyne alpina</i>	3	2	3	1	3	2	3	2	3	2	2	+
<i>Juncus trifidus</i>	4	4	3	2	2	2	1	+	1	1	3	3
<i>Ligusticum mutellina</i>	-	-	1	1	-	-	3	3	3	1	-	-
<i>Loiseleuria procumbens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	4
<i>Potentilla aurea</i>	-	1	-	+	-	-	3	1	3	1	-	-
<i>Rhododendron myrtifolium</i>	-	1	+	2	-	-	4	3	-	-	-	-
<i>Sesleria coerulans</i>	-	-	-	-	-	-	1	+	4	4	3	2
<i>Soldanella hungarica</i>	2	+	-	-	-	-	3	1	3	1	-	-
<i>Vaccinium myrtillus</i>	3	4	3	2	3	4	3	3	3	2	1	1
<i>Vaccinium uliginosum</i>	3	3	4	4	2	4	2	2	-	-	-	-
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	3	3	3	4	3	4	-	-	-	-	3	2
<b>Види, які не траплялися в фітоценозах у 1983-88 рр.</b>												
<i>Alnus viridis</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Juniperus communis</i> subsp. <i>alpina</i>	-	1	-	2	-	3	-	+	-	+	-	-
<i>Picea abies</i>	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Pulsatilla alba</i>	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-

**Примітка.** Шкала рясності видів: + – вид трапляється поодиноким на площі фітоценозу; 1 – рідко; 2 – досить часто; 3 – рясно; 4 – дуже рясно

Найістотніші зміни, які зумовлені постпасторальною демураційною сукцесією, відбулися в угрупованні *Festucetum airoidi*. Дослідне угруповання розташоване у центральній частині сідла між г. Пожижевська і Данцер на вирівняній горизонтальній ділянці хребта на висоті 1740 м н. р. м. У 80–90-ті роки площа фітоценозу становила більше 1 га. Різні внутрішньопопуляційні структури – просторова, вікова, віталітетна, – були достатньо вирівняні по всій площі угруповання з виразним домінуванням *Festuca airoides*. Унаслідок запровадження заповідного режиму початкові темпи демураційних змін мали невелику швидкість, що виявлялося передусім у стабільності чисельності й вікової структури ценопопуляції протягом щорічних досліджень у 1983–87 рр. [3]. Динаміка популяції ценозоутворюючих видів у цей період мала переважно флукуаційний характер. Однак із початком 2000-х років спостерігали виразні односпрямовані сукцесійні зміни фітоценозу, головною причиною яких було припинення випасання на початку 80-х років. Характерною ознакою того періоду був перехід від монодомінантної структури фітоценозу до його фрагментації

та формування мозаїки популяційних локусів із локальним домінуванням колишніх асектаторів – *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea* L., *V. uliginosum* і *Calamagrostis villosa*. Однак на більшій частині площі фітоценозу домінують *Festuca airoides* ще зберігається. Прискорення розпаду фітоценозу відбувається в останнє десятиліття, що зумовлене підсиленням демуаційних процесів кліматогенними змінами. Особливо швидка трансформація фітоценозу почалася зі збільшенням проєктивного покриття, щільності й життєвості *Juniperus communis* subsp. *alpina*, для якого характерна щорічна позитивна динаміка. Посилення позицій цього чагарника спричинює збільшення щільності й життєвості чагарників і конкурентного виду *Calamagrostis villosa*. Водночас витісняються менш конкурентні трави. В останні роки периферійна частина колишнього лежачекостричника уже повністю замінена мікрогрупованнями з домінуванням *Juniperus communis* subsp. *alpina*, *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* і *Calamagrostis villosa*. Лише у центральній частині на площі менше 0,1 га ще зберігається фрагмент лежачекостричника, у якому тривають процеси розпаду.

Дослідний лежачекостричник належав до найбільших за площею монодомінантних угруповань *Festuca airoides* на Чорногорі. Менші за площею типові угруповання *Festucetum airoidis* деградує швидше. Загалом угруповання костриці лежачої були панівною формацією в альпійському поясі та займали понад половину його площі [12]. На даний час на тих заповідних територіях, де припинено випасання 30–40 років тому, внаслідок тривалих демуаційних змін лишилися тільки фрагменти типових лежачекостричників. Більшість монодомінантних лежачекостричників трансформувалася в мозаїчні комплекси угруповань з іншими домінуваннями або менші за площею полідомінантні лежачекостричники, у яких роль субдомінантів належить *Juncus trifidus*, *Calamagrostis villosa*, *Juniperus communis* subsp. *alpina*, *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum*, *Rhododendron myrtifolium*.

У численних альпійських фітоценозах, де *Festuca airoides* займала субедифікаторні позиції, її роль знижується до асектаторної. Наприклад, на місці угруповання ситничника лежачекострицевого біля вершини г. Пожижевська на західному схилі [8] сформувалися фітоценози ситничника чорницево-брусничного та чорничника лохиново-брусничного.

Таким чином, можна зробити висновок, що в альпійському поясі типові монодомінантні лежачекостричники не належать до корінних первинних фітоценозів, а є вторинними пасторально зумовленими похідними сукцесійними стадіями полідомінантних лежачекостричників або трироздільноситничників, лохинників, рододендронників, сеслерієвників, куничників і чорничників.

Зважаючи на те, що *Festuca airoides* має достатньо широкий діапазон екологічної толерантності й що лежачекостричники поширені в Українських Карпатах у всіх високогірних масивах у субальпійському й альпійському поясах у широких висотних межах (від 1400–1500 до 2000 м н. р. м.) [12, 13], причиною їхньої сучасної деградації на заповідних територіях вирішальним є демуаційний чинник, а не кліматогенний. Адже сучасне кліматично зумовлене зміщення фітоценологічного оптимуму для фітоценозу, розташованого на висоті 1740 м, не призвело до його виходу за рамки екологічної валентності *Festuca airoides*.

Протягом останнього десятиліття тривають кардинальні перебудови зігнутоосочників. На відміну від вирішального впливу постпасторальних демуаційних процесів, що спричиняють деградацію лежачекостричників, зміни фітоценозів осоки зігнутої зумовлені передусім кліматогенно. Підтвердженням цього є найшвидша негативна динаміка популяції *Carex curvula* на нижній висотній межі свого поширення. Нами проведено багаторічні спостереження за динамікою популяції *C. curvula* в Українських Карпатах. Це високогірний вид, який поширений у Карпатах лише в альпійському поясі, а на висотах вище



1950 м н. р. м. належить до головних ценозоутворюючих видів. Фітоценози з домінуванням *C. curvula* поширені лише на Чорногорі, з найвищою концентрацією на найхолоднішому її масиві в центральній частині хребта на вершині та схилах г. Бербенеска у діапазоні висот 1950–2030 м. Саме ці площі за сукупністю чинників абіотичного середовища належать до найекстремальніших у межах Українських Карпат. Тут характерні низькі температури повітря і ґрунту, а середньорічна температура повітря (згідно з висотним температурним коефіцієнтом) становить від 1 до 1,5 градуса нижче 0. Висока хмарність зумовлює велику кількість опадів – близько 1500 мм на рік.

Колишній фітоценоз *Curvuletum cetrariosum* на г. Бербенеска, 1970 м, зх. на даний час зазнає суцесійного розвитку в бік домінування *Loiseleuria procumbens*. Він трансформувалася вже в угруповання *Curvuletum loiseleuriosum*, у якому по всій площі йде заміщення наскельницею лежачою передусім *Carex curvula* і *Festuca airoides*. Відбувається зниження ценотичних позицій ценопопуляцій таких видів, як: *Helictotrichon versicolor*, *Campanula alpina*, *Homogyne alpina*, *Vaccinium vitis-idaea*.

Прикметною особливістю динаміки вікової структури альпійських ценопопуляцій *Rhododendron myrtifolium*, *Loiseleuria procumbens*, *Vaccinium myrtillus*, *V. uliginosum* і *V. vitis-idaea* є збільшення відсоткової участі генеративних особин у їхніх вікових спектрах. У *Rhododendron myrtifolium* і *Vaccinium myrtillus* збільшується чисельність і життєвість популяцій на схилах різної експозиції та стрімкості. В субальпійському й альпійському поясі на висотах 1600–1900 м на опуклих ділянках, які обдуваються інтенсивними вітрами та мають мілкий сніговий покрив узимку, збільшується щільність і чисельність популяцій *Vaccinium uliginosum* і *V. vitis-idaea*. На вершинних ділянках хребтів на висотах 1900–2000 м н. р. м. збільшується площа, щільність і життєвість популяцій *Loiseleuria procumbens*.

В альпійському поясі Карпат найменш толерантними до випасу і витоптування є угруповання з домінуванням чагарничків *Rhododendron myrtifolium* і *Vaccinium uliginosum*. За регулярного випасу і витоптування вони деградували та замінювалися фітоценозами з переважанням щільнодернинних видів, зокрема, *Festuca airoides*. Протягом 40-річного періоду заповідності такі порушені вторинні угруповання відновились у лохинники й рододендронники.

На даний час у високогір'ї Українських Карпат продовжує збільшуватися площа популяцій *Picea abies*, *Pinus mugo* Turta, *Alnus viridis*, *Juniperus communis* subsp. *alpina*. У межах альпійського поясу ці процеси відбуваються особливо швидко в його нижній частині. Типові субальпійські угруповання ялівечників поширилися на південних схилах до висоти 1900 м н. р. м. і активно колонізують території в межах 1800–1850 м на схилах інших експозицій.

В останній період істотних змін зазнають хіонофільні угруповання. Глобальні кліматичні зміни, що полягають у підвищенні температури повітря, істотному збільшенні суми ефективних температур, збільшенні тривалості вегетаційного періоду, зменшенні тривалості залягання снігового покриву та кількості опадів протягом вегетаційного періоду [6], позначаються як на загальному проєктивному покритті рослинного покриву, так і на окремих видах. У ході спостережень на пн.-сх. схилі г. Бербенеска на висоті 1930 м н. р. м. за останнє десятиріччя спостерігаємо істотні зміни в оселищах хіонофільних видів рослин, які приурочені до місць тривалого залягання снігового покриву – довгосніжних улоговин або сніжників. Унаслідок поступового танення снігу цей вплив виявляється неоднорідно, тому оселище, в якому проводили дослідження, було поділене на три частини: периферійну – на якій сніг танув найшвидше (червень); центральну – в якій снігонакопичення було найбільше, а остаточне танення снігу припадало на серпень; середню – проміжну між периферійною і центральною частинами.

За результатами досліджень встановлено, що зменшення проєктивного покриття таких видів Червоної книги, як *Cerastium cerastoides*, відбулося на всій площі, а *Saxifraga carpatica* Sternb. – в середній частині та на периферії (табл. 2). Незначне збільшення проєктивного покриття *S. carpatica* відбулося тільки в центральній частині оселища. Для цих видів характерне зниження показників життєвості (розміру особин, площі листової пластинки тощо), проте у популяції *S. carpatica* майже втричі зростає щільність особин з 2008 р. (21,7 ос/м<sup>2</sup>) до 2017 р. (57,3 ос/м<sup>2</sup>) і знижується до 42,7 ос/м<sup>2</sup> у 2019 р. (рис. 1) на фоні неістотного зростання його проєктивного покриття у центральній частині оселища з 1,4 % у 2009 р. до 1,7 % у 2019 р.

Таблиця 2

Проєктивне покриття видів в оселищі хіонофільних угруповань  
на пн.-сх. схилі г. Бербенеска, 1930 м н. р. м.

Вид	Рік	Частина оселища			Загалом
		Центральна	Середня	Периферія	
<i>Cerastium cerastoides</i>	2009	10,1	+	1,1	5,6
	2011	15,0	+	1,2	8,2
	2013	16,8	+	0,9	9,1
	2015	11,4	+	0,4	6,1
	2017	8,2	+	0,1	4,3
	2019	6,3	+	+	3,3
<i>Saxifraga carpatica</i>	2009	1,4	3,9	0,4	1,7
	2011	2,0	1,9	0,2	1,5
	2013	1,4	0,7	0,1	1,0
	2015	1,6	0,6	+	1,0
	2017	1,7	0,3	+	1,0
	2019	1,7	0,2	+	0,9
<i>Poa deyllii</i>	2009	11,0	18,6	24,8	16,1
	2011	18,2	30,9	29,3	23,8
	2013	18,3	39,9	33,9	27,1
	2015	26,3	52,1	36,8	34,8
	2017	34,0	54,4	37,3	39,4
	2019	41,0	51,8	32,3	41,3
<i>Veronica alpina</i>	2009	-	0,2	3,6	1,0
	2011	-	0,1	4,4	1,1
	2013	-	+	2,6	0,7
	2015	-	0,6	2,2	0,7
	2017	-	1,0	2,4	0,8
	2019	-	3,4	2,1	1,3
<i>Luzula spadicea</i>	2009	-	+	13,5	3,4
	2011	+	0,8	15,7	4,1
	2013	+	0,3	17,5	4,5
	2015	+	0,8	15,9	4,2
	2017	0,2	1,2	18,1	4,8
	2019	0,7	2,1	18,2	5,4
<i>Soldanella hungarica</i>	2009	-	+	0,1	+
	2011	-	+	0,1	+
	2013	-	+	0,3	0,1
	2015	+	0,1	0,6	0,2
	2017	+	0,1	1,0	0,3
	2019	0,4	0,4	2,3	0,9
<i>Gnaphalium supinum</i>	2009	-	-	+	+
	2011	-	-	+	+
	2013	+	+	0,1	+
	2015	+	+	0,1	+
	2017	+	0,3	0,2	0,1
	2019	0,2	1,1	0,4	0,5

Примітки: + – незначний відсоток (< 0.1 %); - – особини виду відсутні

Відзначено постійне збільшення проєктивного покриття *Poa deyllii* у центральній частині оселища та загалом і водночас зменшення його в середній частині й на периферії в останній рік спостереження (табл. 2). У дернинах *P. deyllii* з'являються прогалини, які займають інші види рослин: *Luzula spadicica*, *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv., *Soldanella hungarica* тощо. Схожа ситуація притаманна популяції *Veronica alpina* – загальне збільшення проєктивного покриття супроводжується його поступовим зменшенням на периферії та стрімким зростанням у середній частині оселища. У центральній частині цей вид не трапляється взагалі.

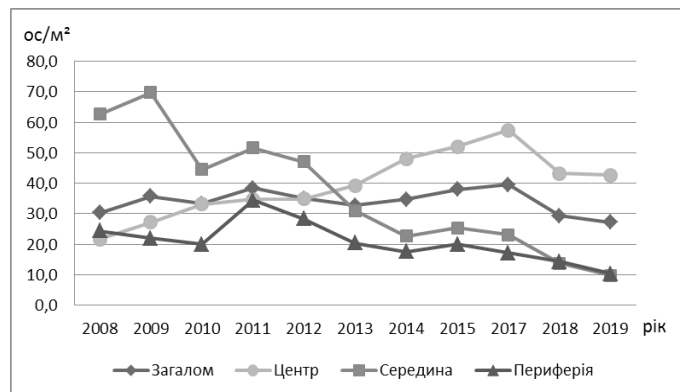


Рис. 1. Зміна щільності популяції *Saxifraga carpatica* (пн.-сх. схил г. Бербенеска, 1930 м н. р. м.)

У перші роки спостережень (з 2008 р.) *Soldanella hungarica* і *Gnaphalium supinum* на дослідних ділянках лише одинично траплялися по периферії оселища, проте за сприятливих кліматогенних змін умов існування поступово поширилися по всій площі. З 2015 р. стрімко зростає кількість цих видів, особливо за рахунок периферійної частини, де на 2019 рік щільність *G. supinum* сягає 16,4 ос/м<sup>2</sup> (рис. 2), а *S. hungarica* – 21,2 ос/м<sup>2</sup> (рис. 3). Зростання щільності відображається і на проєктивному покритті, яке постійно збільшується (табл. 2). Зростання показників щільності й проєктивного покриття цих видів зумовлене передусім збільшенням вегетаційного періоду внаслідок скорочення тривалості залягання снігу.

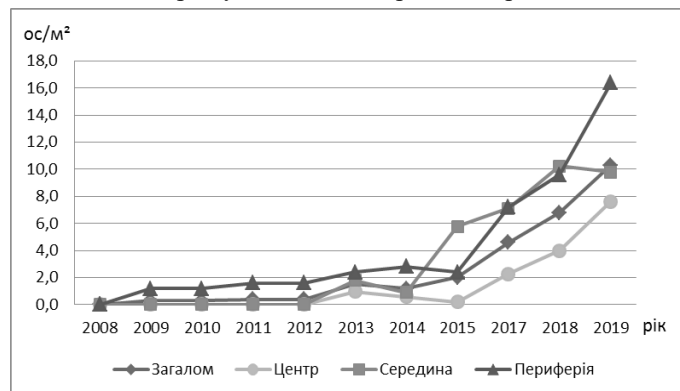


Рис. 2. Зміна щільності популяції *Gnaphalium supinum* (пн.-сх. схил г. Бербенеска, 1930 м н. р. м.)

Збільшення проєктивного покриття у центральній і середній зонах оселища видів *Veronica alpina*, *Gnaphalium supinum*, *Soldanella hungarica*, *Luzula spadicica* вказує на швидкі трансформаційні процеси усередині хіонофільних угруповань, які на даний час

сприятливі для видів, що виживають і є конкурентоздатними за збільшеного вегетаційного періоду, і несприятливі для облигатних хіонофілів, що приурочені до площ під тривалим і глибоким сніговим покривом, – *Cerastium cerastoides* і *Saxifraga carpatica*.

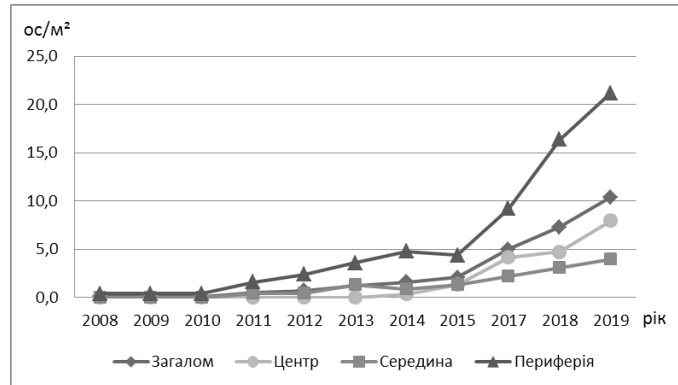


Рис. 3. Зміна щільності популяції *Soldanella hungarica* (пн.-сх. схил г. Бербенеска, 1930 м н. р. м.)

Унаслідок порівняльних досліджень протягом 1982–2021 рр. серед альпійських фітоценозів найменші зміни структури, рясності й ценозоутворюючих позицій видів встановлено в угрупованнях із домінуванням ситника трироздільного, лохини, рододендрона миртолистого і сеслерії голубуватої, зокрема, в угрупованнях *Juncetum cetrario-myrtillosum*, *Uliginetum cetrariosum*, *Rhodoretum calamagrostiosum* і *Seslerietum cariceto-festucosum*. У той же період у лежачекостричниках і зігнутоосочниках значно знизилася позиція домінантів. Лежачекостричники зазнають розпаду й заміни іншими фітоценозами з домінуванням *Juniperus communis* subsp. *alpina*, *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* і *Calamagrostis villosa*. Протягом останнього десятиліття відбуваються кардинальні перебудови зігнутоосочників. На відміну від вирішального впливу постпасторальних демутаційних процесів на деградацію лежачекостричників, зміни фітоценозів осоки зігнутої зумовлені передусім кліматогенно. Колишній фітоценоз *Curvuletum cetrariosum* на г. Бербенеска на даний час зазнає сукцесійного розвитку в бік домінування *Loiseleuria procumbens* і трансформувався в угруповання *Curvuletum loiseleuriosum*.

Встановлено, що в альпійському поясі лежачекостричники не належать до корінних первинних фітоценозів, а є вторинними пасторально зумовленими похідними сукцесійними стадіями первинних угруповань інших асоціацій.

Швидка позитивна динаміка протягом останніх десяти років мезохіонофільних видів і, водночас, негативні зміни популяцій облигатних хіонофілів на площі оселища, свідчать про швидкі сукцесійні зміни під впливом збільшення вегетаційного періоду внаслідок скорочення тривалості залягання снігового покриву на території хіонофільних фітоценозів, що зумовлене сучасними змінами клімату, передусім потеплінням.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білонога В., Гинда Л., Данилик І. та ін. Механізми самовідновлення популяцій / за ред. Й. Царика. Львів: Сполом, 2014. 216 с.
2. Кияк В. Г. Структура популяцій рослин в угрупованні *Seslerietum cariceto-festucosum* в Українських Карпатах // Укр. ботан. журнал. 1985. Т. 42. № 3. С. 10–13.
3. Кияк В. Г. Структура ценопопуляцій рослин в альпійських сообществах Карпат: автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.16 «Екологія». Днепропетровск, 1989. 16 с.

4. Кияк В. Г. Малі популяції рідкісних видів рослин високогір'я Українських Карпат. Львів: Ліга-Прес, 2013. 248 с.
5. Кияк В. Г., Білонога В. М., Штупун В. П. Кліматогенні зміни популяцій і фітоценозів // Зміни структури популяцій рідкісних видів високогір'я Українських Карпат і проблеми їх збереження / [Кияк В., Кобів Ю., Жилиєв Г., та ін.]; за ред. В. Кияка. Львів: Вид-во ННБК «АТБ», 2018. С. 103–126.
6. Кияк В. Г., Штупун В. П., Білонога В. М. Кліматогенні загрози популяціям рідкісних і ендемічних видів рослин високогір'я Українських Карпат // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 74. С. 104–115.
7. Климишин О. С. Сукцесійна трансформація корінних трав'яних фітоценозів високогір'я Українських Карпат // Вісн. Прикарпат. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 9. С. 15–23.
8. Климишин О. С., Кияк В. Г. Структура ценопопуляцій рослин в угрупованні *Juncetum festucosum supinae* // Укр. ботан. журнал. 1985. Т. 42. № 5. С. 18–20.
9. Климишин О. С., Малиновський К. А., Попадюк Р. В. Вплив режиму заповідності на відновлення корінної рослинності у високогір'ї Карпат // Укр. ботан. журнал. 1987. Т. 43. № 3. С. 62–66.
10. Кобів Ю. Й. Словник українських наукових і народних назв судинних рослин. К.: Наук. думка, 2004. 800 с.
11. Кобів Ю. Й. Глобальні кліматичні зміни як загроза видовій біорізноманітності високогір'я Українських Карпат // Укр. ботан. журнал. 2009. 66. № 4. С. 451–465.
12. Малиновський К. А. Рослинність високогір'я Українських Карпат. К.: Наук. думка, 1980. 278 с.
13. Малиновський К. А., Крічфалушій В. В. Рослинні угруповання високогір'я Українських Карпат. Ужгород, 2002. 244 с.
14. Малиновський К. А., Царик Й. В., Жилиєв Г. Г. та ін. Структура популяцій рідкісних видів флори Карпат / за ред. К. А. Малиновського. К.: Наук. думка, 1998. 176 с.
15. Малиновський К., Царик Й., Кияк В., Нестерук Ю. Рідкісні, ендемічні, реліктові та погранично-ареальні види рослин Українських Карпат. Львів: Ліга-Прес, 2002. 76 с.
16. Структура високогірних фітоценозів Українських Карпат: зб. наук. праць / за ред. К. А. Малиновського. К.: Наук. думка, 1993. 179 с.
17. Царик Й. В., Жилиєв Г. Г., Кияк В. Г. та ін. Внутрішньопопуляційна різноманітність рідкісних, ендемічних і реліктових видів рослин Українських Карпат. Львів: Поллі, 2004. 198 с.
18. Царик Й., Жилиєв Г., Кияк В. та ін. Життєздатність популяцій рослин високогір'я Українських Карпат. Львів: Меркатор, 2009. 172 с.
19. Царик Й., Малиновський К., Жилиєв Г. та ін. Стратегія популяцій рослин у природних і антропогеннозмінених екосистемах Карпат / за ред. М. Голубця, Й. Царика. Львів: Євросвіт, 2001. 160 с.
20. Штупун В. П. Вікова структура та щільність популяцій рослин у хіонофільних угрупованнях Українських Карпат // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. 2018. Т. 9(16). № 1. С. 107–115.
21. Ярошенко П. Д. Геоботаника. М.: Просвещение, 1969. 200 с.
22. Illa E., Lluent A., Carrillo E. Resposta de la vegetació de les congegteres al canvi climatic // La investigació al Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici: XI Jornades sobre Recerca al Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici: Departament de Territori i Sostenibilitat. Generalitat de Catalunya. 2019. P. 203–211.
23. Kobiv Y. Trends in population size of rare plant species in the alpine habitats of the Ukrainian Carpathians under climate change // Diversity. 2018. 10(3). P. 62.

24. Palaj A., Kollár J. Changes in snowbed vegetation in the Western Carpathians under changing climatic conditions and land use in the last decades // *Ekológia (Bratislava)*. 2019. Vol. 38. No. 4. P. 318–335.
25. Schöb C., Kammer P. M., Choler P., Veit H. Small-scale plant species distribution in snowbeds and its sensitivity to climate change // *Plant*. 2009. 200. P. 91–104.

Стаття надійшла до редакції 21.10.21

доопрацьована 25.11.21

прийнята до друку 29.11.21

## TRANSFORMATION PROCESSES IN ALPINE PHYTOCOENOSES OF THE UKRAINIAN CARPATHIANS UNDER RESERVATION AND CLIMATE CHANGES

V. Kyiak<sup>1</sup>, V. Shtupun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy 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; volodymyr.kyjak@lnu.edu.ua

Typical alpine phytocoenoses of Ukrainian Carpathians with dominant species *Festuca supina*, *Carex curvula*, *Juncus trifidus*, *Vaccinium uliginosum*, *Rhododendron myrtifolium*, *Sesleria coerulens* and open chionophilous communities were investigated. As a result of comparative studies during 1982–2021, among alpine phytocoenoses, the smallest changes in the structure, abundance and coenose-forming positions of species were found in communities dominated by *Juncus trifidus*, *Vaccinium uliginosum*, *Rhododendron myrtifolium* and *Sesleria coerulans*, in particular in the Juncetum cetrario-myrtillosum, Uliginetum cetrariosum, Rhodoretum calamagrostiosum and Seslerietum cariceto-festucosum communities. During the same period in communities with dominant *Festuca supina* and *Carex curvula*, the position of the dominants decreased significantly. The *Festuca supina*-communities undergo desintegration and replacement by other phytocoenoses with dominance *Juniperus alpina*, *Vaccinium myrtillus*, *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* and *Calamagrostis villosa*. Over the last decade, radical changes have taken place in *Carex curvula*-communities. In contrast to the decisive influence of postpastoral demutation processes on the degradation of *Festuca supina*-communities, changes in the phytocoenoses of *Carex curvula* are primarily climatogenically caused.

It is established that in the alpine zone *Festuca supina*-communities do not belong to the indigenous primary phytocoenoses, but are secondary pastorally conditioned derivative succession stages of primary communities of other associations.

Rapid positive dynamics over the last ten years of such mesochionophilous species as *Veronica alpina*, *Gnaphalium supinum*, *Soldanella hungarica*, *Luzula spadiacea* and, at the same time, negative changes in populations of obligate chionophiles *Cerastium ceras-toides* and *Saxifraga carpatica* indicate transformation processes within the communities connected to the areas under long and deep snow cover.

These processes indicate rapid successional changes under the influence of increasing vegetation period due to the reduction of the duration of snow cover in the territory of chionophilous phytocoenoses, which is due to modern climate changes, primarily warming.

**Keywords:** climate changes, phytocoenosis, plant populations, high mountain zone, Ukrainian Carpathians

**ПОШИРЕННЯ ОРЯБКА (*TETRASTES BONASIA* L.) В УКРАЇНСЬКОМУ  
РОЗТОЧЧІ НАПРИКІНЦІ ХХ ТА В ХХІ СТОЛІТТЯХ**

**С. Стельмах**

*Яворівський національний природний парк  
вул. Зелена, 23, смт Івано-Франкове,  
Яворівський р-н, Львівська обл. 81070, Україна  
e-mail: stelsm68@gmail.com*

Матеріали щодо поширення орябка в межах української частини Розточчя зібрано у період з 1985 по 2021 рр. (36 років). У роботі представлено результати власних польових досліджень, а також матеріали спостережень працівників мисливських і лісових господарств досліджуваного природного регіону. В основному застосовували маршрутний метод обліку та маршрутний стрічковий метод із використанням вабика. Проводили реєстрацію слідів життєдіяльності орябків на снігу. Здійснювали опис основних біотопів виду. Основну увагу звертали на структуру насаджень: деревостан, підріст і підлісок, а також тип лісорослинних умов. Ще у другій половині 1980-х років минулого століття *T. bonasia* на Розточчі був достатньо поширеним, хоча і нечисленним видом. Орябки регулярно траплялися навіть в околицях м. Новояворівськ, мешкали в лісових масивах ліворуч автодороги Львів-Краковець, на відрізьку між смт Івано-Франкове та м. Новояворівськ. Найбільш розповсюдженим і численним цей вид був на території Яворівського військового полігону (Старицьке і Магерівське військові лісництва). Орябків регулярно реєстрували в окремих урочищах Шклівського та Немирівського лісництв Рава-Руського держлісгоспу. Рідше цей птах траплявся у Страдцівському навчально-виробничому лісокомбінаті та природному заповіднику «Розточчя». Упродовж останніх двох десятиріч ХХ ст. популяція виду поступово скорочувалася. Незначне зростання чисельності й розселення птахів за межі Яворівського військового полігону спостерігали у період з 2012 по 2016 рр. Після 2016 р. чисельність популяції різко зменшилася. В останні 3 роки орябка вже не реєструють у більшості місць його колишнього мешкання. Кілька локальних мікрогруповань збереглося лише на території військового полігону. У досліджуваному природному регіоні оселища орябків здебільшого приурочені до молодих лісостанів, які лежать у зонах контакту кількох типів лісорослинних умов. У насадженнях старшого віку для мешкання цих птахів важливою умовою є наявність підросту і підліску. Виділено п'ять основних типів оселищ виду. Найкращі з них – сосново-березові молодяки, що утворилися внаслідок вторинної сукцесії лісу, а також вільхові ліси у долинах річок.

*Ключові слова:* орябок, оселища, поширення, лісостани, Українське Розточчя, Яворівський військовий полігон

Серед тетерукових птахів орябок є найбільш розповсюдженим і численним видом бореальних лісів Палеарктики. Ареал виду охоплює більшу частину лісової зони – від Кольського півострова і Західних Альп до ріки Коліми, Охотського узбережжя, острова Сахалін і Маньчжурії. Трапляється в Монголії, у північно-східній частині Китаю, на Корейському півострові та на півночі Японії. Мешкає як у рівнинних, так і в гірських лісах [9, 17, 22, 25].

У Російській Федерації зосереджена найбільша кількість орябка, яку донедавна оцінювали в 42,1–65,7 млн особин [15]. У Європейській частині ареалу найбільш численним цей вид є у підзоні південної тайги. Максимальної щільності популяція досягає в мозаїчних стаціях, на межі різних типів лісу, де є ділянки пізніх сукцесійних стадій після вітровалів, добре розвинений підлісок, у деревостані переважають ялина, береза, вільха, а ґрунти достатньо зволожені. В оптимальних умовах щільність населення орябка перед сезоном розмноження може сягати 10–15 пар на 1 км<sup>2</sup> [3, 13, 17].

В Україні орябок поширений на Поліссі в Карпатах і Розточчі [5, 8, 19], а подекуди на півночі лісостепової зони [18]. У Карпатах на водороздільних хребтах орябок заселяє здебільшого ялинові ліси. На північних схилах його оселища приурочені до змішаних деревостанів вологої ялиново-ялицевої сурамені. На південному мегасхилі *T. bonasia* мешкає у вологих приполонинних бучинах, вологих буково-ялицевих раменах. Трапляється у межах висот 500–1600 м н. р. м. Численніший уздовж рік і потоків [1, 2]. Тяжкіє до пристигаючих і перестійних лісостанів. Сильно реагує на зміну вікової структури лісових насаджень [14]. На Поліссі орябок мешкає у свіжих і вологих дубових суборах, а також у сугрудах із наявністю заростей папороті [2].

У другій половині минулого та на початку теперішнього століття відбулося суттєве скорочення ареалу і чисельності орябка в Західній і Центральній Європі [23, 25, 26]. Ще на початку минулого століття орябок в Україні був достатньо поширеним видом не лише в лісовій, але й у лісостеповій зоні. Упродовж останніх 100 років південна межа його поширення помітно пересунулася на північ. У межах Подільської височини цей вид тетерукових птахів зберігся лише на Розточчі [6, 8, 19].

Згідно з фізико-географічним районуванням України, українська частина Розточчя (Українське Розточчя) належить до Немирівсько-Брюховицького району, Розточко-Опільської горбогірної області, Східноєвропейської рівнини, зони широколистяних лісів, центром якого пролягає Головний Європейський вододіл [12]. Українське Розточчя простягається на 60 км від м. Львова до кордону з Республікою Польща. Даний фізико-географічний район характеризується достатньо високою лісистістю. Землі, вкриті лісовою рослинністю, становлять понад 40 %. Головними лісотвірними породами є сосна звичайна (*Pinus silvestris*), бук лісовий (*Fagus sylvatica*), дуб звичайний (*Quercus robur*), вільха чорна (*Alnus glutinosa*). Похідні лісостани сформовані переважно із берези бородавчастої (*Betula verrucosa*), осики (*Populus tremula*) та граба звичайного (*Carpinus betulus*). Тут беруть свій початок ріки басейнів Чорного і Балтійського морів. Головні з них: Верещиця, Добростанка, Шкло, Завадівка, Біла, Деревенка, Червонець, Фійна тощо.

**Мета роботи** – дослідити поширення орябка на території Українського Розточчя у минулому і теперішньому століттях, виявити локальні угруповання виду й охарактеризувати основні типи оселищ (стації перебування) цього птаха.

#### Матеріали та методи

Матеріали з поширення орябка в межах української частини Розточчя зібрані у період з 1985 по 2021 рр. (36 років). У роботі наведено як результати власних польових досліджень, так і спостереження працівників мисливських господарств, лісгосподарських підприємств і природоохоронних установ досліджуваного природного регіону. В основному застосовували маршрутний облік [11], а також стрічковий метод обліку з використанням вабика (голосова імітація) [10, 20]. Проводили реєстрацію слідів життєдіяльності орябків на снігу: відбитки ніг, лунки, екскременти [7, 16, 21]. У більшості випадків цих птахів доводилося виявляти випадково. Здійснювали опис основних оселищ виду. Основну



увагу звертали на структуру насаджень: деревостан, підріст і підлісок, а також на тип лісорослинних умов (едатоп).

Найдетальнішу інформацію про поширення орябка в минулому столітті зібрано упродовж другої половини 1990-х рр. У зазначений період автору статті довелося працювати на посаді мисливствознавця мисливсько-рибальського господарства «Майдан» товариства військових мисливців і рибалок західного регіону України, а пізніше начальником дільниці державного мисливського господарства «Яворівське» державного лісогосподарського об'єднання «Львівліс». Відповідно до повноважень доводилося вести регулярні спостереження та періодичні обліки мисливських звірів і птахів, зокрема, й орябків.

### Результати і їхнє обговорення

Ще у другій половині 1980-х років орябок на Розточчі був достатньо поширеним, хоч і нечисленним видом. Цей птах регулярно траплявся навіть в околицях м. Новояворівськ. В окремих лісових масивах у осінній сезон року щільність популяції орябка сягала 20 особин на 10 км<sup>2</sup>. Найбільш розповсюдженим і численним *T. bonasia* був на території Міжнародного центру миротворчості й безпеки, більш відомого як Яворівський військовий полігон (Старицьке і Магерівське військові лісництва). Орябків регулярно реєстрували в окремих урочищах Шклівського і Немирівського лісництв Рава-Руського держлісгоспу, а нерегулярно та рідше – у Страдчівському навчально-виробничому лісокомбінаті (НВЛК) і природному заповіднику «Розточчя».

У 1980-х рр. орябок ще мешкав у лісових масивах ліворуч автодороги Львів – Краковець, на відрізку між смт Івано-Франкове та м. Новояворівськ. Наприклад, у грудні 1986 і січні 1987 рр. цих птахів кілька разів реєстрували в урочищі Мур Великопільського лісництва Страдчівського НВЛК. Наприкінці 1980-х – на початку 1990-х рр. стійке угруповання цього виду збереглося в межах урочищ Курені, Конюшки і Парашка Шклівського лісництва. Так, на площі близько 600 га типових для орябка стадій, з переважанням молодих і середньовікових змішаних насаджень із берези бородавчастої, ялини звичайної (*Picea abies*) і сосни звичайної щорічно наприкінці літа – на початку осені реєстрували 2–4 виводки, а у зимовий і весняний сезони року – поодинокі особини і пари *T. bonasia*. Також неодноразово орябків виявляли в урочищі Ярина, неподалік автобусної зупинки «Лісна». Слід відмітити, що орябки в даному урочищі траплялися навіть у стиглих і перестійних дубових і сосново-дубових лісах із густим підліском ліщини звичайної (*Corulus avellana*).

Однак уже в другій половині 1990-х рр. орябок на території Шклівського лісництва трапляється дедалі рідше і не щороку. Зовсім зникли ці птахи в лісових масивах ліворуч автодороги Львів – Краковець. Проте стійкі, хоч і нечисленні локальні угруповання цього виду зберігалися на території військового полігону. Так, ми регулярно виявляли виводки цих птахів в урочищах Марки, Гарай, Мала Вишенька, Пустельники, Малюшевський ліс, Заїзд, Буракова Нива та біля бліндажа Неделина (рис. 1). Доволі часто орябок траплявся у межиріччі річок Біла та Деревенка. Наприклад, у січні 1997 р. під час комплексних зимових маршрутних обліків дичини в лісових угіддях Магерівського військового лісництва між річками Біла та Деревенка на 5-кілометровому маршруті нами виявлено (обліковано) 9 особин цього виду. Орябки та їхні сліди траплялися майже на кожному кілометрі пройденого маршруту. Імовірно, що на той час у лісових масивах даного межиріччя збереглося найбільш численне угруповання цього виду. Згідно з усними повідомленнями колишнього егеря мисливсько-рибальського господарства «Майдан» І. Ребця, *T. bonasia* неодноразово відмічався ним уздовж русла річки Смердех, неподалік смт Немирів. Наприкінці 1990-х

років орябок ще траплявся в Немирівському лісництві, зокрема, в урочищі Завадівський ліс і неподалік с. Шаварі.

Слід зазначити, що орябок на території військового полігону поширений в основному у смузї лісів, прилеглий до головного тактичного поля і частіше трапляється на ділянках, де в результаті самосіву утворився молодий ліс.

За приблизними оцінками, у другій половині 1990-х років гніздова популяція орябка в Українському Розточчі налічувала 30–40 пар. Чисельність після сезону розмноження коливалася в межах 120–180 особин.

У першому десятиріччі XXI ст. чисельність популяції *T. bonasia* надалі зменшувалася. Орябок фактично зник у Шклівському лісництві. Більше не надходили повідомлення про реєстрацію цих птахів у Немирівському лісництві. Дуже рідко орябка відмічали навіть у тих місцевостях, де донедавна він був відносно звичайним видом.

Проте з 2012 р. відбулося незначне зростання чисельності виду. Орябки почали частіше траплятися на території військового полігону. Їх знову виявлено у Шклівському лісництві (ур. Конюшки). У 2012 р. одну особину цього виду відмічено в урочищі Горбки природного заповідника «Розточчя» (усні повідомлення І. Горбаня). А у вересні 2013 р. у згаданому урочищі ПЗ «Розточчя» нами виявлено зграю із 6 молодих птахів. У жовтні 2014 р. одного орябка бачили в 13 кварталі Янівського природоохоронного науково-дослідного відділення (ПНДВ) Яворівського національного природного парку (НПП). Через кілька днів, імовірно, того самого птаха виявлено у сусідньому – 30 кварталі Майданського лісництва (територія Яворівського НПП, без вилучення у користувачів). У 2014–2016 рр. орябків кілька разів реєстрували в Немирівському лісництві (ур. Завадівський ліс). А у вересні 2016 р. цього птаха виявлено в Лелехівському лісництві (ур. Ярина). Слід відмітити, що у зазначений період зростання популяції виду нових стійких угруповань за межами військового полігону так і не виникло. Птахи з'являлись у нових місцях і через короткий проміжок часу зникали.

Починаючи з 2017 р. популяція орябка в Українському Розточчі різко скоротилася. Птах став дуже рідкісним навіть на території військового полігону. У різних місцевостях, де орябка відмічали доволі часто, – він взагалі зникає.

Спеціальні дослідження з використанням вабика, проведені у весняний і осінній сезони (вересень-жовтень і березень-квітень) 2019–2021 рр. засвідчили, що локальні мікроугруповання орябка збереглися лише в урочищах Гарай, Мала Вишенька, Малюшевський ліс, Пустельники й у районі витоків річок Біла та Деревенка (див. рис. 1). За межами військового полігону цей вид виявлений лише в урочищі Курені Шклівського лісництва. Однак під час подальших неодноразових обстежень лісових масивів цього лісництва орябків більше не виявляли.

За приблизними оцінками, на теперішній час у межах Українського Розточчя збереглося не більше 10–12 гніздових пар орябка, і є велика ймовірність повного зникнення цього виду в регіоні у найближчі роки.

В умовах Розточчя оселища орябків здебільшого приурочені до молодих лісостанів віком 10–30 років із переважанням у складі сосни звичайної, берези бородавчастої, осики, вільхи чорної та ялини європейської. У насадженнях старшого віку важливою умовою для мешкання цього птаха є наявність підросту і підліску, а також захарашених вітровалом ділянок лісу. Території гніздових угруповань орябків, як правило, охоплюють кілька типів лісорослинних умов (едатопів). Найчастіше це зони контакту свіжих, а подекуди сухих суборів із вологими, сирими та мокрими сугрудами. Щодо частоти трапляння особин виду нами виділено п'ять основних типів оселищ (стацій перебування) орябка.

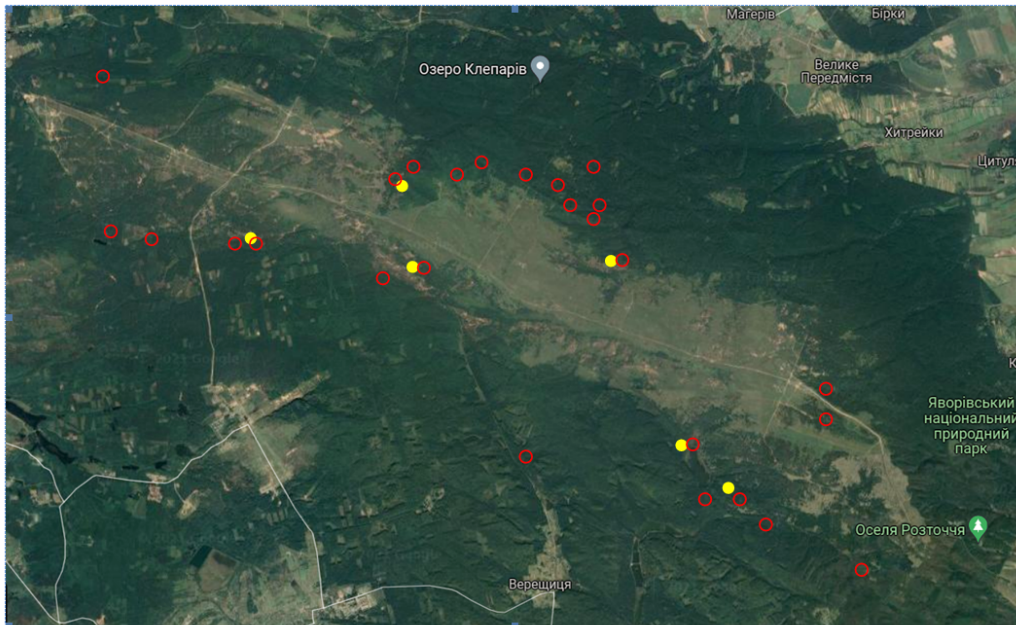


Рис. 1. Поширення орябка на території Яворівського військового полігону наприкінці минулого століття й у теперішньому часі. Червоні кільця – місця реєстрації виду у 1996-1998 рр., жовті кружки – місця реєстрації птахів у 2019-2021 рр.

Оптимальними оселищами цього птаха є молоді змішані лісостани з переважанням у складі сосни і берези, що утворилися внаслідок вторинної сукцесії лісу на тактичних полях військового полігону (рис. 2), особливо якщо такі ліси ростуть уздовж невеликих річок і струмків та на крутих схилах ярів, балок і пагорбів. Також привабливими для орябка є стації другого типу – утворені чорновільховими лісостанами у долинах річок. Третій тип оселищ – середньовікові, пристигаючі та стиглі соснові ліси в суборових типах лісорослинних умов із добре вираженим підростом і підліском з дуба звичайного, горобини звичайної (*Sorbus Aucuparia*), ліщини звичайної, черемхи звичайної (*Prunus padus*), крушини ламкої (*Frangula alnus*) і наявністю чорниці (*Vaccinium myrtillus*). Четвертий тип – молоді насадження (культури) ялини зі значною участю берези. П'ятий – похідні молоді березняки на місцях зрубів із домішкою сосни та ялини. В інших лісостанах орябок трапляється рідко. У 1980-х і на початку 1990-х рр. цих птахів неодноразово виявляли у старих дубових і сосново-дубових лісах з густим підліском ліщини, а також у сосново-букових лісостанах із наявністю підросту ялини звичайної та ялиці білої (*Abies alba*). Останнім часом таке не спостерігається.

За слідами життєдіяльності (відбитки ніг, лунки, екскременти) нам вдалося визначити приблизну площу ділянок постійного мешкання двох пар орябків у зимовий і ранньовесняний період року (грудень-березень). Згідно з проведеними дослідженнями, одна пара орябків постійно мешкала на площі близько 7 га молодих (15–25-річних) сосново-осиково-березових насаджень із домішкою ялини. Зимові ділянки іншої пари охоплювала близько 10 га середньовікових заплавних вільшаників і сосняків на терасах.

У теплий період року виводки орябків досить часто трапляються вздовж узлісь, на окраїнах заростаючих зрубів і боліт, на ділянках лісу зі значною кількістю галявин і прогалин

(вікон). У другій половині літа ці птахи відмічені на лісових дорогах із піщаним ґрунтом і крутими схилами узбіч (дороги в ярах). Це навіть дало підстави деяким дослідникам вважати, що зменшення площ земель із відкритим піщаним ґрунтом, зокрема, дюн і схилів ґрунтових доріг, є головним лімітуючим фактором популяції орябка в Українському Розточчі [4, 8]. Ці автори зазначають, що піщані дюни на Розточчі є відносно рідкісними та що значна їхня кількість зникла в результаті заростання деревно-чагарниковою рослинністю і травою. Тому збереження гніздової популяції орябка в найближчому майбутньому пов'язане зі збереженням піщаних дюн.



Рис. 2. Типи оселищ орябка в Українському Розточчі стосовно частоти трапляння птахів за весь період досліджень, %

На нашу думку, таке твердження є перебільшеним, оскільки в результаті інтенсифікації військових навчань і лісозаготівель площа мінералізованих, із відкритим піщаним ґрунтом земель на Розточчі не зменшилася, а, навпаки, з кожним роком збільшується. Та й для такого невеликого птаха як орябок завжди знайдеться місце для пурхалища чи поповнення шлунку гастролітами майже в кожному лісовому масиві, особливо там, де ведуть рубки лісу, де створюють мінералізовані протипожежні смуги, де під час садіння лісових культур на зрубках утворюються борозни з відкритим піщаним ґрунтом, де лісовозний транспорт розбиває дороги. До того ж горбистий рельєф регіону сприяє виникненню зсувів ґрунту на крутих схилах і на узбіччях доріг.

Лімітуючих факторів, скоріш за все, є декілька. Головні з них – це потепління клімату, високий фактор неспокою та збільшення чисельності деяких хижаків.

Наприклад, унаслідок змін клімату зими стали теплішими з нестійкою погодою – морозні періоди чергуються з відлигами й ожеледями. У результаті відбувається обледеніння гілок дерев і чагарників, зокрема, бруньок і сережок, а на снігу виникає тверда кірка, що призводить до загибелі цих птахів від голоду й від крижаних «пасток» на поверхні снігу [9, 22].

Із початком російсько-української війни на Яворівському військовому полігоні значно інтенсифікувалися військові навчання, що створило надто високий фактор неспокою

якраз у головних стаціях перебування орябка, які містяться в прилеглий до тактичного поля смузі лісів. У результаті військових навчань ці ліси досить часто займають під тренування.

У ХХІ ст. помітно зросла чисельність куниці лісової (*Martes martes*) і лисиці рудої (*Vulpes vulpes*), що також певною мірою негативно вплинуло на стан мікропопуляції орябка в регіоні. Слід зазначити, що у 1980-х рр. куниця лісова була досить нечисленним видом на Розточчі, кількість лисиці також не сягала високого рівня, оскільки заради хутра на цих звірів інтенсивно полювали.

Крім цього, важливо зазначити, що Розточчя є найпівденнішим регіоном поширення орябка в межах Східно-Європейської рівнини. Через відсутність коридорів суцільного лісу між Карпатами і Поліссям розточанська мікропопуляція цього виду фактично є ізольованою. Про важливість коридорів для виживання орябка у відокремлених і відносно невеликих лісових масивах пишуть і деякі польські дослідники [24].

Офіційного полювання на орябка в мисливських господарствах регіону з 1960-х рр. ніколи не проводили, хоч у 1990-х рр. були поодинокі випадки нелегального відстрілу цих птахів мисливцями під час полювання на копитних і хутрових звірів, проте це не могло вплинути на загальний стан популяції виду.

Підсумовуючи, робимо висновки, що у 1980-х рр. орябок в Українському Розточчі був досить поширеним, а місцями – і звичайним лісовим птахом. Упродовж двох останніх десятиріч ХХ ст. популяція виду поступово скорочувалася. Незначний ріст чисельності й розселення птахів за межі Яворівського військового полігону спостерігали у період з 2012 по 2016 рр. Після 2016 р. популяція різко скоротилася. Останніми роками орябка вже не реєстрували у більшості місць колишнього мешкання. Кілька локальних мікрогруповань збереглося лише на території військового полігону. У досліджуваному природному регіоні оселища орябків здебільшого приурочені до молодих лісостанів у зонах контакту свіжих суборів із вологими, сирими та мокрими сугрудами. У насадженнях старшого віку для мешкання цих птахів важливою умовою є наявність підросту і підліску. Виділено п'ять основних типів оселищ виду. Найкращі з них – сосново-березові молодняки, що утворилися внаслідок вторинної сукцесії лісу, а також вільшаники у долинах річок.

*Висловлюю щире вдячність за надані усні матеріали спостережень колишньому егерю мисливсько-рибальського господарства «Майдан» Іванові Ребцю, колишньому егерю державного мисливського господарства «Яворівське» Андрієві Музиці, колишньому лісничому Майданського лісництва Старицького військового лісгоспу Богданові Лукашуку, начальникові відділу служби державної охорони природно-заповідного фонду Яворівського національного природного парку Сергієві Погорілку, а також колишньому науковому співробітникові природного заповідника «Розточчя» к. б. н. Ігореві Горбаню.*

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко В. Д., Гузій А. І. Поширення і чисельність орябка в Українських Карпатах // Орнітофауна західних областей України та проблеми її охорони. Луцьк, 1990. С. 88–90.
2. Бондаренко В. Д., Делеган І. В., Татарінов К. А. та ін. Мисливствознавство: навч. посіб. К.: РНМК ВО, 1993. 200 с.
3. Бычков В. П. Численность, распространение и добыча куриных птиц на территории Беларуси // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства: материалы междунар. конф., посвящ. 85-летию ВНИИОЗ (Киров, 22–25 мая 2007 г.). Киров: ГНУ ВНИИОЗ, 2007. С. 62.

4. Горбань І. М., Дзизюк О. І. Курині птахи Українського Розточчя та їх застосування у індикації стану природних ландшафтів // Сучасні проблеми біології, екології та хімії: збірка матеріалів Міжнар. конф., присв. 20-річчю біол. ф-ту ЗНУ (29 березня – 1 квітня 2002 р.). Ч. 2. Запоріжжя, 2007. С. 385–388.
5. Горбань І. М. Фауна птахів та ссавців заповідника «Розточчя» // Наук. вісн. НЛТУ України. Природничі дослідження на Розточчі. 2010. Вип. 20(16). С. 224–230.
6. Гузій А. І. Фауна і населення хребетних західного регіону України. Т. 1. Розточчя. К.: Либідь, 1997. 148 с.
7. Гудков В. М. Следы зверей и птиц: энциклопед. справочник-определитель. М.: Вече, 2007. 592 с.
8. Дзизюк О. І., Горбань І. М. Стан популяції куриних птахів (GALLIFORMES) на Українському Розточчі та перспективи їх використання в мисливському господарстві: навч. посіб. К.: ПРООН в Україні, 2009. С. 61–65.
9. Колосов А. М., Лавров Н. П., Михеев А. В. Биология промыслово-охотничьих птиц СССР: учеб. пособ. М.: Высшая школа, 1983. 311 с.
10. Кратюк О. Л. Методи кількісного обліку борових птахів // Наук. вісн. УДЛТУ. 2002. Вип. 12(8). С. 62–65.
11. Кузякин В. А. Охотничья таксация. М.: Лесная пром-сть, 1979. 197 с.
12. Маринич О. М., Шищенко П. Г. Фізична географія України. К.: Знання, 2006. 512 с.
13. Потапов Р. Л., Павлова Е. А. Рябчик *Bonasa bonasia* в Ленинградской области // Русский орнитол. журнал. 2009. Т. 18. Экспресс-вып. 473. С. 491–500.
14. Потіш Л. А., Потіш А. Л. Динаміка чисельності та стан ресурсів куроподібних у Закарпатській області // Наук. вісн. НЛТУ України. Львів, 2016. Вип. 26(8). С. 61–66.
15. Пиминов В. Н., Стрельников Д. П. Ресурсы лесных тетеревиных птиц в России и их динамика // Тренды современной динамики и экологии лесных тетеревиных птиц Евразии: материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 100-летию заповедной системы России (г. Советский, ХМАО-Югра, Россия 26–29 сентября 2017 г.). Екатеринбург: Изд-во Уральск. ун-та, 2018. С. 112–115.
16. Романов А. Н., Гайдар А. А., Агафонов В. А. Боровая дичь // Охота на дичь: биологические основы промысла. М.: Лесная пром-сть, 1976. С. 73–121.
17. Черкас Н. Д. Динамика численности и основные факторы, вызывающие сокращение численности рябчика (*Bonasa bonasia* L., 1758) в Беловежской пушце // Вестн. Моск. гос. ун-та леса – Лесной вестн. 2006. № 1 (43). С. 41–46.
18. Червона книга України. Тваринний світ. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 600 с.
19. Фесенко Г. В., Бокотей А. А. Птахи фауни України: польовий визначник. К.: Укр. т-во охорони птахів, 2002. 416 с.
20. Фетисов С. А. Маршрутный учет рябчика *Tetrastes bonasia* с манком // Русский орнитол. журнал. 2008. Т. 17. Экспресс-вып. 441. С. 1421–1428.
21. Формозов А. Н. Спутник следопыта. М.: Изд-во МГУ, 1989. 302 с.
22. Формозов А. Н. Снежный покров в жизни млекопитающих и птиц. М.: Изд-во МГУ, 1990. 286 с.
23. Bergmann H.-H., Klaus S., Müller F. et al. Die Haselhühner. *Bonasa bonasia*. Die Neue Brehm-Bücherei, Magdeburg, Germany. 1996. 278 p.
24. Kajtoch L., Zmihorski M., Bonczar Z. Hazel Grouse occurrence in fragmented forests: habitat quantity and configuration is more important than quality // Eur. J. Forest Res. 2012. Vol. 131. P. 1783–1795.

25. Klaus S., Ludwig T. Long-Term Trends of Hazel Grouse (*Tetrastes bonasia*) in the Bohemian Forest (Sumava), Czech Republic, 1972–2019 // *Birds*. 2021. Vol. 2. P. 127–137.
26. Keller V., Herrando S., Vorisek P. et al. European Breeding Bird Atlas 2: Distribution, Abundance and Change. European Bird Census Council & Lynx Edicions, Barcelona. 2020. 967 p.

Стаття надійшла до редакції 28.10.21

доопрацьована 22.11.21

прийнята до друку 23.11.21

## DISTRIBUTION OF HAZEL GROUSE (*TETRASTES BONASIA* L.) IN UKRAINIAN ROZTOCHYA AT THE END OF XX AND XXI CENTURIES

S. Stelmakh

*Yavorivskyi National Nature Park*

*23, Zelena St., smt Ivano-Frankovo, Yavoriv district, Lviv region 81070, Ukraine*

*e-mail: stelsm68@gmail.com*

Materials on the distribution of hazel grouse within the Ukrainian part of Roztochya were collected in the period from 1985 to 2021 (36 years). The article presents the results of own field research, as well as the results of surveys of hunting and forestry workers of the studied natural region. The route accounting method and the route tape method using bait were mainly used. Traces of hazel grouse in the snow are recorded. A description of the main habitats of the species is given. Most attention was paid to the structure of the stand, undergrowth, as well as the type of conditions of forest vegetation. Already in the second half of the 1980 hazel grouse in the Ukrainian part of Roztochya was quite common, although not numerous. This species was regularly found on the outskirts of Novoyavorivsk, inhabiting the forest on the left side of the highway Lviv - Krakovets, between the village of Ivano-Frankovo and Novoyavorivsk. This species is the most common and numerous on the territory of the Yavoriv military training ground (Starytske and Magerivske military forestry). Hazel grouse is regularly found in some areas of Shklivske and Nemyrivske forestry of the Rava-Ruske state forestry. Less often, the bird were seen in Stradchevsky training and production forestry and Roztochya Reserve. A slight increase in the number and settlement of birds outside the Yavoriv military range was observed in the period – from 2012 to 2016. After 2016, the population declined sharply. Over the past 3 years, grouse are no longer registered in most former habitats. Recently, these birds have ceased to be recorded in most of their former habitats. Several local microgroups have survived only in the forest adjacent to the tactical field of the military training ground. In the studied natural region, the habitats of these birds are mainly limited to young plantations, which are in contact zones of several types of forest growing conditions. In old forests, the presence of undergrowth is important condition of the habitat of these birds. There are five main types of habitat for this species. The best of them are pine-birch young stands formed as a result of a secondary succession of forests, as well as alder forests in river valleys.

*Keywords:* hazel grouse, habitats, distribution, forest plantations, Ukrainian Roztochya, Yavoriv military training ground

**ВІКОВІ ТА ГЕНДЕРНІ ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ КРОВІ  
ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЮ Й ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ**

**О. Доценко, З. Боярська**

*Донецький національний університет імені Василя Стуса  
вул. 600-річчя, 21, Вінниця 21000, Україна  
e-mail: o.dotsenko@donnu.edu.ua*

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) у XXI ст. залишаються головною причиною смертності у всьому світі. В Україні протягом 2020 р. померли 365 515 українців від серцевих захворювань і ураження системи кровообігу. У роботі досліджено вікові та статеві особливості ліпідного профілю крові хворих на гіпертонію й ішемічну хворобу серця. Проаналізовано статистичні дані обстеження 775 осіб (із них 436 жінок і 339 чоловіків). Для оцінки ліпідного спектру крові аналізували дані лабораторних досліджень вмісту у плазмі крові загального холестеролу (ЗХС), тригліцеридів (ТГ), холестеролу ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ) у хворих з гіпертонією та ішемічною хворобою серця. Обробку й аналіз даних виконували стандартними методами варіаційної статистики у програмі «Statistica 8.0». Досліджено зміни ліпідного обміну у хворих, що страждають на ішемічну хворобу серця та гіпертонію. Виконано аналіз асоційованої з віком і статтю динаміки параметрів ліпідного спектру крові – загального вмісту тригліцеридів, загального холестеролу (ХС), холестеролу ліпопротеїнів низької і високої щільності (ХС ЛПНЩ і ХС ЛПВЩ), величини прогностичного коефіцієнта атерогенності (КА).

Встановлено, що рівень загального холестеролу жінок у вікових групах <45 і 55–65 років вищий, ніж в аналогічних групах чоловіків. У вікових групах >65 років гендерних відмінностей рівнів ЗХС не спостерігається. Серед осіб у групах 45–55 років наявні гендерні відмінності за значенням прогностичного коефіцієнта атерогенності. У групі жінок не зафіксовано змін рівня тригліцеридів, пов'язаного з віком. У чоловіків простежується залежність рівня тригліцеридів від віку хворих. Достовірних відмінностей у рівнях ліпопротеїнів низької та високої щільності залежно від статі не виявлено.

*Ключові слова:* серцево-судинні захворювання, артеріальний тиск, артеріальна гіпертензія, ішемічна хвороба серця, ліпопротеїди високої щільності, ліпопротеїди низької щільності, ліпопротеїди дуже низької щільності, прогностичний коефіцієнт атерогенності

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, серцево-судинні захворювання, такі як гіпертонія, ішемічна хвороба серця – є головною причиною смерті у світі і щорічно забирають мільйони життів. Серцево-судинні захворювання (ССЗ) у XXI ст. залишаються провідною причиною смертності в усьому світі [10, 13, 17, 22]. Державна служба статистики України оприлюднила дані про смерть 365 515 українців від серцевих захворювань і ураження системи кровообігу впродовж 2020 р. [9]. Гіпертонічну хворобу (ГХ) виявляють у кожній п'ятій дорослої людини. Поширеність ГХ серед чоловіків і жінок віком 20–69 років приблизно однакова і становить 22,3 % і 21,8 % відповідно. Проте відмінності у віковій динаміці поширеності ГХ вельми істотні: якщо в діапазоні 20–39 років у чоловіків і жінок поширеність ГХ з віком підвищується однаково, то в інтервалі 40–69 років цей показник у



чоловіків змінюється мало (32,8–41,1 %), тоді як у жінок продовжує різко зростати: удвічі в 50–59 років (34,7 %) і втричі – в 60–69 років (57,6 %) [14].

Відомо, що артеріальна гіпертонія (АГ) є одним із найважливіших чинників ризику атеросклерозу, прискорює його розвиток та ускладнює перебіг, і ці два захворювання часто супроводжують одне одного. Особливо часто трапляється поєднання ішемічної хвороби серця (ІХС), її різних форм (стенокардія, інфаркт міокарда, аритмія) й артеріальної гіпертонії.

Результати численних досліджень показують, що в механізмах розвитку АГ важливу роль відіграють системний запальний процес із формуванням окисного стресу й ендотеліальної дисфункції [15, 16, 18, 21, 27]. За даними результатів досліджень, порушення секреції та функціонування адипокінів можуть бути провідним фактором у розвитку артеріальної гіпертензії та серцево-судинних захворювань. Автори вважають, що дані пептиди мають різноспрямований вплив на організм і за порушення взаємодії сприяють розвиткові соціально значущих захворювань (інфаркт міокарда, артеріальна гіпертензія, інсульт, атеросклероз, метаболічний синдром) [15]. Критеріями, що визначають метаболічний синдром, є рівень холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), які мають чіткий зв'язок зі серцево-судинною смертністю [23]. У кожного другого коронарного хворого відзначаються ознаки метаболічного синдрому (МС) [30]. Епідеміологічні дослідження показують, що МС виявляють у 20–40 % населення [20, 25].

Є дані про гендерні відмінності в генезі метаболічного синдрому. Так, у чоловіків одним із провідних механізмів розвитку ожиріння, інсулінорезистентності й метаболічного синдрому є стан раннього андрогенодефіциту [4, 29]. У жінок порушення ендокринної системи також тісно пов'язані з ожирінням, що супроводжується порушенням стероїдогенезу і гіперінсулінемією [6, 7]. Гормональні розлади, які сприятимуть розвитку МС у жінок, стають найбільш вираженими в постменопаузальному періоді, коли різко знижується продукція естрогенів [12]. При цьому роль лептину, інсуліну і статевих гормонів під час формування метаболічного синдрому і його ускладнень залишаються недостатньо вивченими.

Серед факторів ризику ССЗ важливе місце посідають вік і стать. Захворювання системи кровообігу самі по собі мають характер, асоційований з віком. Загалом рівень діастолічного тиску підвищується до віку 55 років, потім змінюється мало. Систолічний тиск постійно зростає з віком [28]. Середні рівні артеріального тиску і поширеність АХ у жінок молодого і середнього віку трохи менші, ніж у чоловіків. Пізніше ця залежність змінюється аж до реверсії [26]. Численні дослідження виявляють кореляційні зв'язки між гемодинамічними, метаболічними, гормональними факторами і станом серцево-судинної системи у жінок.

Необхідність активної профілактики і ранньої діагностики серцево-судинних захворювань обумовлює потребу багатопланового і ретельного вивчення різних факторів ризику, пов'язаних із розвитком старіння судин, що визначає темп старіння організму і тривалість життя загалом.

У зв'язку з цим мета дослідження полягала у встановленні вікових і статевих особливостей ліпідного профілю крові хворих на гіпертонію й ішемічну хворобу серця, що і обумовлює новизну проведеного дослідження.

#### **Матеріали та методи**

У першій частині роботи проаналізовано статистичні дані обстеження 775 мешканців Вінницької області (з них 436 жінок і 339 чоловіків) віком від 40 до 55 років з метою виявлення метаболічного синдрому та ризику розвитку серцево-судинних ускладнень. Пацієнти були розділені на вікові групи: до 40, 40–44, 45–49, 50–55 років. Усі пацієнти не

мали хронічних захворювань. Для цих груп аналізували вміст холестеролу крові, індекс маси тіла і кількість пацієнтів з уперше виявленим артеріальним тиском.

У другій частині аналізували дані лабораторного обстеження 80 осіб (48 жінок і 32 чоловіки) з ГХ та ІХС щодо вмісту загального холестеролу (ЗХС), тригліцеридів (ТГ), холестеролу ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), холестеролу ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), індексу атерогенності. Середній вік обстежених пацієнтів становив  $58,3 \pm 15,5$  років. Контрольну групу становили чоловіки та жінки, визнані після проходження медичного огляду практично здоровими, в кількості 20 осіб; із них 7 жінок і 13 чоловіків, середній вік обстежених –  $58,15 \pm 12,1$  років.

Концентрацію ЗХС, ХС ЛПВЩ, ТГ визначали в аліквотах плазми крові за стандартними методиками [2].

Коефіцієнт атерогенності (КА) обчислювали за формулою [23]:

$$КА = (ЗХС - ХС ЛПВЩ) / ХС ЛПВЩ,$$

де ЗХС – загальний холестерол, ХС ЛПВЩ – холестерол ліпопротеїнів високої щільності.

Показники ліпідного спектру крові аналізували окремо для жінок і чоловіків таких вікових груп: до 45, 46–55, 56–65, після 65 років.

Обробку й аналіз отриманих даних виконували стандартними методами варіаційної статистики у програмі «Statistica 8,0». Кількісні показники в досліджуваних групах представляли у вигляді середніх значень і стандартної помилки середнього та довірчого інтервалу (Mean, SE,  $1,96 \times SE$ ). Для порівняння двох незалежних груп за кількісною ознакою використовували непараметричний критерій Манна-Вітні. Відмінності між показниками вважали статистично достовірними, якщо рівень значущості  $p$  для відповідного статистичного критерію не перевищував 0,05.

### Результати і їхнє обговорення

Із 339 осіб обстежених чоловіків і 436 жінок рівень холестеролу вище норми ( $> 5$  мМ) мали 62 чоловіки і 63 жінки, індекс маси тіла  $> 25$  кг/м<sup>2</sup> – 197 чоловіків і 281 жінка, вперше виявлене підвищення артеріального тиску у 96 чоловіків і 107 жінок. На рис. 1, а, б продемонстровано зміну цих показників у різних вікових групах.

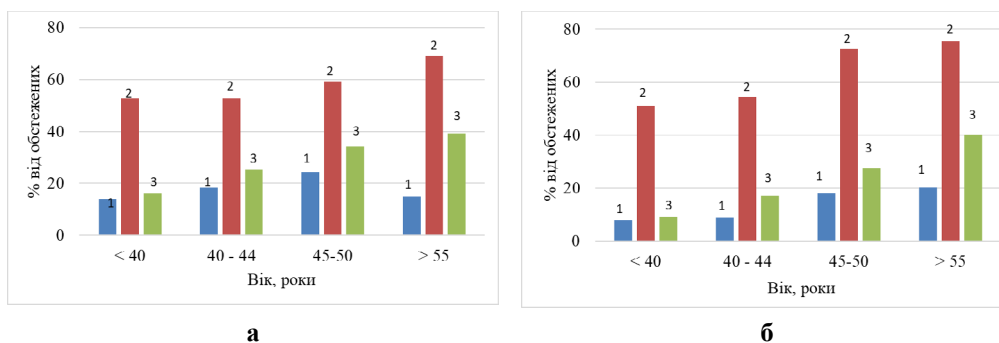


Рис. 1. Відсоткова кількість чоловіків (а) та жінок (б) з наявністю метаболічного синдрому: 1 – кількість осіб (%) з виявленим рівнем загального холестеролу капілярної крові  $\geq 5,0$  мМ, 2 – кількість осіб з виявленим індексом маси тіла  $> 25$  кг/м<sup>2</sup>, 3 – кількість осіб з уперше виявленим підвищенням АТ ( $\geq 140/90$  мм рт. ст.)

З проаналізованих даних видно, що з віком підвищується ймовірність розвитку порушень метаболічного характеру, які пов'язані з ожирінням і дисліпідемією. Так,

підвищений рівень холестеролу встановлено у 20,17 % обстежених жінок віком понад 55 років, надлишкову вагу в 75,63 %, підвищений артеріальний тиск – у 40,33 % (ці показники у жінок віком до 40 років становили відповідно 7,95, 51,14 та 9,1 % (рис. 1, б). Ці пацієнти можуть входити у групу ризику розвитку серцево-судинних ускладнень.

Коливання залежно від статі рівня холестеролу, ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, індекс атерогенності у жінок і чоловіків, хворих на артеріальну гіпертонію (АГ) I, II, III ступеня та ІХС проаналізовано в табл. 1 і 2 (n – кількість осіб у вибірці).

Таблиця 1

Показники ліпідного спектру (M±m) плазми крові чоловіків, хворих на артеріальну гіпертонію та ішемічну хворобу серця

Групи	Загальний холестерол, N – 5,2-6,5 ммоль/л	ЛПВЩ, N – 0,9-1,8 ммоль/л	ЛПНЩ, N – 2,37-4,36 ммоль/л	ЛПДНЩ, N – 0,47-0,65 ммоль/л	Індекс атерогенності, N – не > 2 у.о.
Умовно здорові (n=13)	4,72±0,3	1,76±0,21	2,54±0,32	0,52±0,15	1,71±0,5
АГ I ступеня (n=11)	5,44±0,59*	1,56±0,35*	4,09±0,65*	1,03±0,37*	2,6±0,78*
АГ II ступеня (n=6)	5,19±0,58*	1,49±0,26*	3,51±0,51*	0,97±0,53*	2,56±0,69*
АГ III ступеня (n=10)	5,68±0,68*	1,46±0,29*	4,52±0,33*	1,35±0,33*	2,93±0,45*
ІХС (n=5)	5,34±0,32*	1,36±0,48*	3,99±0,13*	1,40±0,35*	3,23±1,18*

**Примітка.** \* – різниця достовірна (p<0,05) порівняно з даними в умовно здорових людей

Таблиця 2

Показники ліпідного спектру плазми крові (M±m) у жінок, хворих на артеріальну гіпертонію й ішемічну хворобу серця

Групи	Загальний холестерол, N – 5,2-6,5 ммоль/л	ЛПВЩ, N – 0,9-1,8 ммоль/л	ЛПНЩ, N – 2,37-4,36 ммоль/л	ЛПДНЩ, N – 0,47-0,65 ммоль/л	Індекс атерогенності, N – не > 2 у.о.
Умовно здорові (n=7)	4,68±0,19	1,62±0,18	2,30±0,185	0,51±0,1	1,90±0,28
АГ I ступеня (n=11)	5,54±0,8*	1,54±0,44*	3,92±0,57*	1,44±0,37	2,79±0,92*
АГ II ступеня (n=6)	5,24±0,64*	1,51±0,19*	3,96±0,54*	1,20±0,47*	2,51±0,6 *
АГ III ступеня (n=10)	5,84±0,75*	1,52±0,26*	3,93±0,59*	1,25±0,48*	2,91±0,79*
ІХС (n=5)	5,94±0,34*	1,50±0,33*	3,83±0,78*	1,29±0,45*	3,12±0,91*

**Примітка.** \* – різниця достовірна (p<0,05) порівняно з даними в умовно здорових людей

Результати досліджень ліпідного складу крові у чоловіків і жінок свідчать, що у хворих на ГП і ІХС відзначається підвищення вмісту холестеролу, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, а також КА порівняно з контрольними значеннями незалежно від типу і важкості захворювання на АГ. Ці зміни дають змогу стверджувати, що розвиток ГХ і ІХС у пацієнтів супроводжується суттєвими змінами атерогенного характеру. При цьому у хворих з АГ III

ступеня та ІХС є більш виражені зміни кількісного складу ліпідів крові. КА підвищувався у цих хворих в 1,5 разу ( $p < 0,05$ ), порівняно з контролем на фоні збільшення концентрацій ХС, ТГ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ. Підвищення вмісту загального холестеролу і тригліцеридів у плазмі крові супроводжувалося зниженням рівня холестеролу ЛПВЩ.

Під час аналізу показників ліпідного спектра крові у чоловіків і жінок з ГП і ІХС нами не виявлено достовірних змін між групами хворих із різною патологією. У зв'язку з цим далі вікові і статеві особливості змін ліпідного профілю крові у хворих на ГП і ІХС були проаналізовані для загальної групи хворих.

На рис. 2 показано зміни вмісту ЛПВЩ у різних вікових групах жінок (а) і чоловіків (б), хворих на ГП та ІХС.

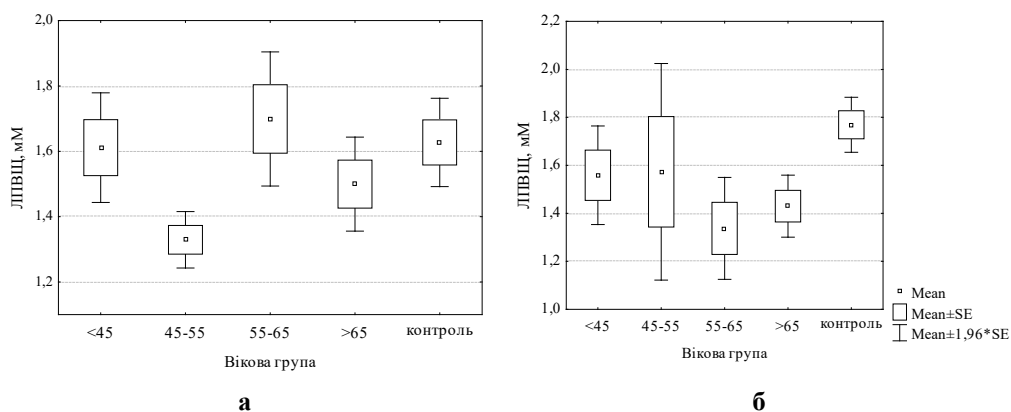


Рис. 2. Зміни вмісту ЛПВЩ плазми крові у різних вікових групах жінок (а) і чоловіків (б), хворих на ГП та ІХС

У жінок вікової групи 45–55 років рівень ЛПВЩ становив  $1,33 \pm 0,15$  мМ, що достовірно нижче за дані у контрольній групі ( $1,62 \pm 0,18$  мМ). В інших вікових групах жінок достовірних змін цього показника не виявлено. У чоловіків усіх вікових груп спостерігали достовірне зниження рівня ЛПВЩ щодо контролю.

Низький рівень ліпопротеїнів високої щільності розцінюється як фактор ризику розвитку атеросклерозу. ЛПВЩ беруть участь у зворотному транспорті холестеролу. У цьому процесі за допомогою ЛПВЩ надлишок ХС видаляється з клітин і транспортується в печінку для подальшого катаболізму. Якщо у жінок суттєве зниження вмісту ЛПВЩ ми спостерігали у 45–55 років, то у чоловіків зниження рівня ЛПВЩ відбувалось у вікових групах 55–65 років і старше за 65 років. У групах до 45 років у жінок і чоловіків рівень ЛПВЩ не мав достовірних відмінностей. У групі жінок 45–55 років рівень ЛПВЩ є нижчим, ніж у чоловіків ( $1,33 \pm 0,15$  мМ і  $1,80 \pm 0,55$  мМ відповідно,  $p < 0,05$ ), що не збігається з даними літератури щодо вікових і гендерних відмінностей рівнів ЛПВЩ.

У групах 55–65 років рівні ЛПВЩ збігаються з даними літератури: у жінок вище, ніж у чоловіків ( $1,7 \pm 0,33$  мМ і  $1,34 \pm 0,3$  мМ відповідно,  $p < 0,05$ ). У пострепродуктивному віці таких відмінностей між чоловіками і жінками вже не спостерігається. У групах 55–65 років рівні ЛПВЩ у жінок і чоловіків достовірно не змінюються ( $1,49 \pm 0,18$  мМ і  $1,43 \pm 0,3$  мМ відповідно,  $p > 0,05$ ). Згасання репродуктивної функції, зміни складу жирової тканини як ендокринного органа в похилому і старечому віці можуть лежати в основі поступового зниження концентрацій ЛПВЩ у цьому віковому періоді [3]. Поряд із цим знижується надходження холестеролу в стероїдогенні тканини і посилюється потік останнього в

печінку та макрофаги. Такий перерозподіл транспорту ХС може сприяти розвитку холестозів жовчного міхура, атеросклерозу артеріальної стінки.

Крім перенесення надлишків холестеролу від периферичних клітин у печінку, ліпопротеїни високої щільності мають антиоксидантну, протизапальну, антитромботичну, антиапоптотичну функції [11, 31]. Крім того, ліпопротеїни високої щільності є частиною системи вродженого імунітету [19]. Тому зниження вмісту ЛПВЩ може бути однією з причин розвитку ГХ, ІХС та інших хвороб, пов'язаних з метаболічними перебудовами організму жінок віком від 45 до 55 років.

Рівень загального холестеролу є найважливішим показником ліпідного обміну, який використовують під час оцінки ризику ССЗ. За результатами наших досліджень, у жінок і чоловіків усіх вікових груп рівень загального холестеролу був достовірно вищий за контроль (рис. 3).

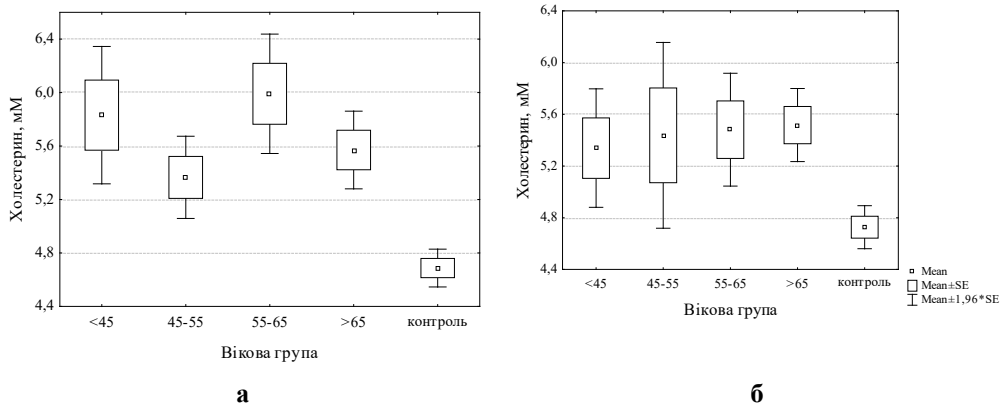


Рис. 3. Зміни вмісту загального холестеролу (ЗХС) плазми крові у різних вікових групах жінок (а) і чоловіків (б), хворих на ГП і ІХС

Рівень загального холестеролу жінок у вікових групах <45 і 55–65 років був вищим, ніж в аналогічних групах чоловіків (рис. 3), причому вміст загального холестеролу у чоловіків відповідав фізіологічній нормі, а у жінок значення даного показника перебувало вище верхньої межі фізіологічної норми (5,48 ммоль/л). У вікових групах >65 років гендерних відмінностей рівнів ЗХС не спостерігали.

Ризик ССЗ може бути обумовлений співвідношенням вмісту ліпідів і фракцій ліпопротеїдів. Особливе значення має співвідношення концентрацій ЗХС, ХС ЛПНЩ і ХС ЛПВЩ (коефіцієнт атерогенності). Чим вище коефіцієнт атерогенності (КА), тим вищим є ризик і гіршим прогноз захворювання.

У групі жінок не виявлено достовірних відмінностей в рівні КА залежно від віку, проте рівень атерогенності в 1,4–1,6 разу перевищував цей показник у групі контролю (рис. 4). Найбільше підвищення атерогенності плазми (1,62 разу) спостерігали у групі жінок 45–55 років. У чоловіків рівень атерогенності плазми підвищувався в 1,9 разу у вікових групах 55–65 років і в 1,7 разу у групі віком понад 65 років.

Серед осіб у групах 45–55 років спостерігаються гендерні відмінності за КА (рис. 4). Рівень ЛПВЩ у жінок нижчий, ніж у чоловіків, а індекс атерогенності вищий:  $3,05 \pm 0,57$  і  $2,21 \pm 1,04$  відповідно. Серед осіб у групах 55–65 років також спостерігали гендерні відмінності за КА, однак у цьому віці у жінок порівняно з чоловіками значення КА нижче ( $2,62 \pm 0,86$  і  $3,25 \pm 0,84$  відповідно,  $p=0,05$ ). У вікових групах > 65 років гендерні відмінності за рівнем атерогенності плазми відсутні.

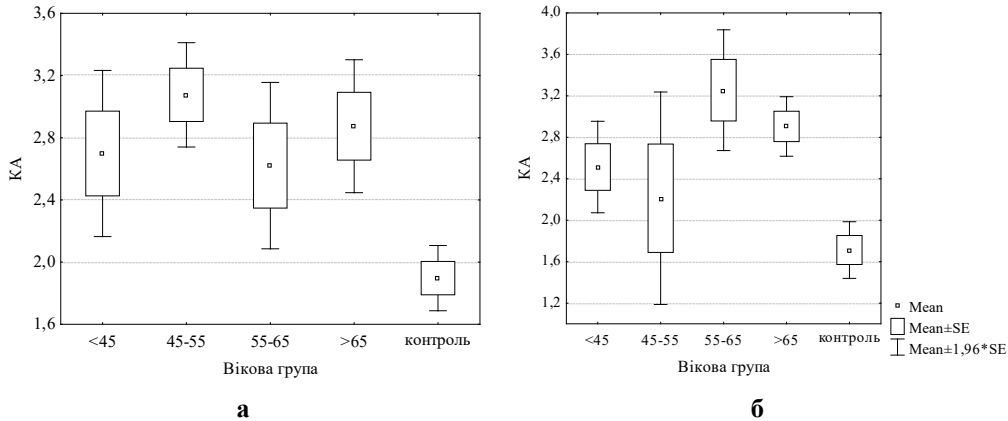


Рис. 4. Зміни коефіцієнта атерогенності (КА) плазми крові в різних вікових групах у жінок (а) і чоловіків (б), хворих на ГП та ІХС

Рівень тригліцеридів натще є корисним маркером ризику ІХС, зокрема, коли розглядається рівень ХС ЛПВЩ. На підставі клінічних спостережень і популяційних досліджень зроблено висновок, що вміст тригліцеридів у крові понад 1,7 ммоль/л (155 мг/дл) є небажаним, а понад 2,3 ммоль/л (200 мг/дл) – вже збільшує ризик розвитку ІХС і потребує корекції [24, 1]. Підвищений у плазмі крові рівень тригліцеридів (гіпертригліцеридемія) вважається важливим незалежним маркером ризику ССЗ, проте зв'язок між цим видом дисліпідемії та ризиком захворювання значно слабший, ніж для гіперхолестеринемії [8]. Гіпертригліцеридемію діагностують за рівня ТГ натще > 1,7 ммоль/л (150 мг/дл).

За отриманими в роботі даними рівень ТГ більш ніж удвічі перевищував нормальний рівень як у групі жінок, так і у групі чоловіків, хворих на АГ та ІХС (рис. 5). У групі жінок ми не фіксуємо змін рівня ТГ, пов'язаного з віком (рис. 4, а). У чоловіків простежується залежність рівня ТГ від віку хворих (рис. 5, б).

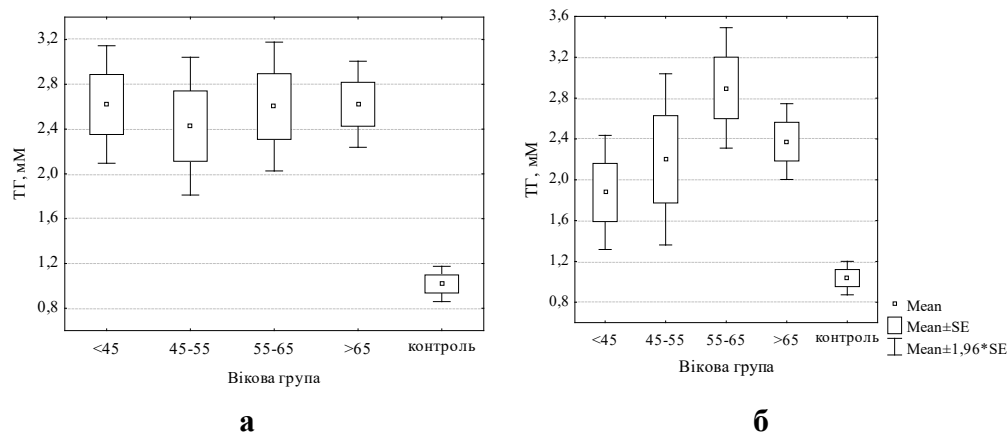


Рис. 5. Зміни тригліцеридів (ТГ) плазми крові в різних вікових групах у жінок (а) і чоловіків (б), хворих на ГП та ІХС

На рис. 6 показано зміни рівнів ЛПНЩ у групах жінок і чоловіків, хворих на ГП і ІХС. У хворих обстежених груп рівень ЛПНЩ перевищував рівень контролю в 1,6-1,8 рази та не залежав від віку і статі. У численних дослідженнях продемонстровано наявність

сильного позитивного взаємозв'язку між рівнем ЗХС, ХС ЛНП (у широкому діапазоні концентрацій) і ризиком розвитку ССЗ [8].

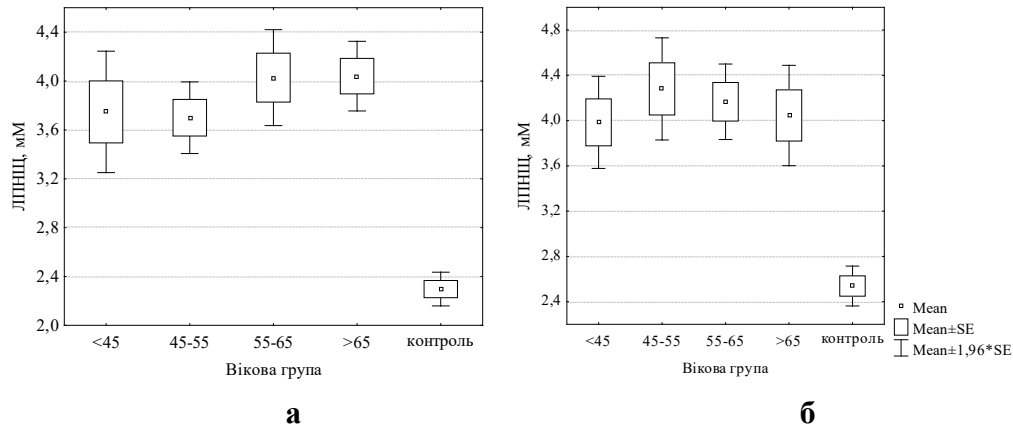


Рис. 6. Зміни ЛПНЦ плазми крові в різних вікових групах жінок (а) і чоловіків (б), хворих на ГП та ІХС

В обстежених групах хворих рівень ЛПНЦ перевищував рівень контролю в 1,6-1,8 разу та не залежав від віку і статі.

Таким чином, особливістю ліпідного спектра за поєднання у хворих ГП і ІХС є розвиток «ліпідної тріади», яка включає збільшення концентрації тригліцеридів, зниження рівня холестеролу ліпопротеїнів високої щільності й переважання у крові дрібних щільних частинок ліпопротеїнів низької щільності, що мають підвищену атерогенність унаслідок їхньої схильності до окиснення. Окисна модифікація ЛПНЦ сприяє посиленню їхнього поглинання через скавенджер-рецептори макрофагів і трансформації останніх у пінисті клітини, що може прискорювати розвиток ГП, ІХС і атеросклерозу.

У чоловіків і жінок, що страждають на АГ I, II і III ступенів та ІХС виявлено достовірне підвищення в плазмі крові вмісту загального холестеролу, тригліцеридів ( $p < 0,05$ ), ЛПНЦ і ЛПДНЦ, коефіцієнта атерогенності порівняно з аналогічними показниками групи контролю. Відзначено достовірне зниження рівня ЛПВЩ порівняно з цим же показником у здорових осіб.

У жінок у віковій групі 45–55 років рівень ЛПВЩ становив  $1,33 \pm 0,15$  мМ, що достовірно нижче за рівень у контрольній групі ( $1,63 \pm 0,18$  мМ). В інших вікових групах жінок достовірних змін цього показника не виявлено. В усіх вікових групах чоловіків спостерігали достовірне зниження рівня ЛПВЩ щодо контролю.

За отриманими даними, рівень загального холестеролу у жінок у вікових групах <45 і 55–65 років був вищим, ніж в аналогічних групах у чоловіків. У вікових групах >65 років гендерних відмінностей рівнів ЗХС не спостерігали.

У групі жінок не виявлено достовірних відмінностей у значенні КА залежно від віку, проте коефіцієнт атерогенності в 1,4–1,6 разу перевищував цей показник порівняно з контролем. У чоловіків коефіцієнт атерогенності зростав в 1,9 разу у вікових групах 55–65 років і в 1,7 разу – у групі віком більше 65 років. Серед осіб у групах віком 45–55 років спостерігали гендерні відмінності за значенням КА.

Встановлено, що рівень ТГ більш ніж удвічі перевищує нормальний рівень у групі як жінок, так і чоловіків, хворих на АГ та ІХС. У групі жінок не зафіксовано змін рівня ТГ, пов'язаних із віком, тоді як у чоловіків простежується залежність рівня ТГ від віку хворих.

В обстежених групах хворих рівень ЛПНЩ перевищував вміст цього показника у контролі в 1,6–1,8 разу та не залежав від віку і статі.

Перспективи подальших досліджень у цьому напрямі вбачаємо у визначенні біомаркерів старіння серцево-судинної системи, особливо антиоксидантного профілю, й у встановленні їхньої ймовірної кореляції з показниками ліпідного статусу хворих на гіпертонію й ішемічну хворобу серця.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Булгакова С. В., Гусякова О. А., Тренева Е. В. и др. Влияние липидного обмена на темп старения пациентов с артериальной гипертонией // Клиническая лабораторная диагностика. 2018. Т. 63. № 8. С. 495–499.
2. Горячковский А. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. Одесса: Экология, 2005. 616 с.
3. Гребенников И. Н., Куликов В. А. Липопротеины высокой плотности: не только обратный транспорт холестерина // Вестн. Витебск. гос. мед. ун-та. 2011. № 10. С. 2–7.
4. Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г. Рекомендации по диагностике и лечению дефицита тестостерона (гипогонадизма) у мужчин // Проблемы эндокринологии. 2016. Т. 62. № 6. С. 78–80.
5. Доклад экспертной группы по лабораторной стандартизации Национальной образовательной программы по холестерину. Выявление, количественная оценка и терапия высокого уровня холестерина у взрослых / председатель Герберт, К. Нэйто; пер. с англ. Merck Sharp. Dohme-Chibret AG, 1996. 127 с.
6. Дубоссарская З. М. Проблема лептинемии в гинекологической эндокринологии // Мед. аспекты здоровья женщины. 2015. № 6 (92). С. 15–22.
7. Дубоссарская З. М., Дубоссарская Ю. А. Проблемы репродуктивного старения женщин и необходимость протективной anti-aging терапии. Клиническая лекция // Мед. аспекты здоров'я жінки. 2019. № 7. С. 5–9.
8. Кардиоваскулярная профилактика 2017. Российские национальные рекомендации // Рос. кардиол. журнал. 2018. № 23 (6). С. 7–122.
9. Кількість померлих за окремими причинами смерті. Архів за 2020 рік. [Internet] Держстат України. Available from: [http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2020/ds/krops/krops\\_u/arh\\_krops2020\\_u.html](http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2020/ds/krops/krops_u/arh_krops2020_u.html)
10. Коваленко В. М., Дорогой А. П. Серцево-судинні хвороби: медично-соціальне значення та стратегія розвитку кардіології в Україні // Укр. кардіол. журнал. 2016. № 3. С. 5–14.
11. Куликов В. А. Обратный транспорт холестерина из макрофагов // Вестн. Витебск. гос. мед. ун-та. 2011. № 10. С. 33–40.
12. Мычка В. Б., Толстов С. Н., Салов И. А. Особенности формирования метаболического синдрома у женщин в разные фазы климактерического периода // Рос. кардиол. журнал. 2015. № 4. С. 73–78.
13. Саханда І. В. Статистика захворюваності населення станом на 01.12. 2017 року на серцево-судинні захворювання // Фітотерапія. 2018. № 1. С. 56–58.
14. Саханда І. В., Негода Т. С., Сятиня М. Л. Фактори ризику виникнення, структура і динаміка розвитку серцево-судинної захворюваності населення України // Ліки України плюс. 2015. № 4. С. 116–118.
15. Філенко І. М. Адипокіни та гіпертонічна хвороба: клінічне та терапевтичне значення // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020. № 2. С. 35–40.



16. *Akhigbe R., Ajayi A.* The impact of reactive oxygen species in the development of cardiometabolic disorders: a review // *Lipids Health Dis.* 2021. Vol. 20. N 1. P. 23.
17. *Bansilal S., Castellano J. M., Fuster V.* Global burden of CVD: focus on secondary prevention of cardiovascular disease // *Int. J. Cardiol.* 2015. Vol. 201 (Suppl 1). P. 1–7.
18. *Crowther M. A.* Pathogenesis of atherosclerosis // *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2005. N 1. P. 436–441.
19. *Fotakis P., Kothari V., Thomas D. G.* et al. Anti-Inflammatory Effects of HDL (High-Density Lipoprotein) in Macrophages Predominate Over Proinflammatory Effects in Atherosclerotic Plaques // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2019. Vol. 39. N 12. P. 253–272.
20. *Grundy S. M.* Metabolic syndrome pandemic // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. Vol. 28. N 4. P. 629–636.
21. *Guo S., Lu J., Zhuo Y.* et al. Endogenous cholesterol ester hydroperoxides modulate cholesterol levels and inhibit cholesterol uptake in hepatocytes and macrophages // *Redox Biol.* 2019. Vol. 21. P. 101069.
22. *Herrington W., Lacey B., Sherliker P.* et al. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease // *Circ. Res.* 2016. Vol. 118. N 4. P. 535–546.
23. *Nanna M. G., Navar A. M., Wojdyla D.* et al. The Association Between Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Incident Atherosclerotic Cardiovascular Disease in Older Adults: Results From the National Institutes of Health Pooled Cohorts // *J. Am. Geriatr. Soc.* 2019. N 67. P. 2560–2567.
24. *Nazir S., Jankowski V., Bender G.* et al. Interaction between high-density lipoproteins and inflammation: Function matters more than concentration! // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2020. Vol. 159. P. 94–119.
25. *Ramic E., Prasko S., Mujanovic O. B.* et al. Metabolic syndrome – theory and practice // *Mater Sociomed.* 2016. Vol. 28. N 1. P. 71–73.
26. *Sobhani K., Nieves Castro D. K., Fu Q.* et al. Sex differences in ischemic heart disease and heart failure biomarkers // *Biology of sex differences.* 2018. Vol. 9. N 1. P. 43–49.
27. *Solak Y., Afsar B., Vaziri N. D.* et al. Hypertension as an autoimmune and inflammatory disease // *Hypertens Res.* 2016. Vol. 39. N 8. P. 567–573.
28. *Stenholm S., Westerlund H., Head J.* et al. Comorbidity and Functional Trajectories From Midlife to Old Age: The Health and Retirement Study // *J. Gerontol. Med. Scien.* 2015. Vol. 70. N 3. P. 332–338.
29. *Suthahar N., Meems L., Ho J. E., de Boer R. A.* Sex-related differences in contemporary biomarkers for heart failure: a review // *Eur. J. Heart Fail.* 2020. Vol. 22. N 5. P. 775–788.
30. *Varounis C., Rallidis L. S., Franco O. H.* et al. Prevalence of metabolic syndrome and association with burden of atherosclerotic disease in patients with stable coronary artery disease // *Curr Med. Res. Opin.* 2016. Vol. 32. N 6. P. 1175–1181.
31. *Xepapadaki E., Zvintzou E., Kalogeropoulou C.* et al. The Antioxidant Function of HDL in Atherosclerosis // *Angiology.* 2019. Vol. 71. N 2. P. 112–121.

Стаття надійшла до редакції 01.06.21

доопрацьована 01.10.21

прийнята до друку 11.10.21

**AGE AND GENDER CHARACTERISTICS OF BLOOD LIPID PROFILE IN PATIENTS WITH HYPERTENSION AND CORONARY HEART DISEASE**

**O. Dotsenko, Z. Boiarska**

*Vasyl' Stus Donetsk National University  
21, 600-richchia St., Vinnytsia 21021, Ukraine  
e-mail: o.dotsenko@donnu.edu.ua; z.bojarska@donnu.edu.ua*

Cardiovascular disease (CVD) in the 21st century remains the leading cause of death worldwide. In Ukraine, during 2020, 365,515 ukrainians died from heart disease and damage of the circulatory system. It is known that hypertension (AH) is one of the most important risk factors for atherosclerosis, accelerates its development and complicates the course, and these two diseases often accompany each other. Especially common is a combination of coronary heart disease (CHD), its various forms (angina, myocardial infarction, arrhythmia) and hypertension.

The aim of the study was to establish the age and sex characteristics of the lipid profile of the blood of patients with hypertension and coronary heart disease.

Analyzed the statistical data of a survey of 775 people (of which 436 women and 339 men). The data on total cholesterol, triglycerides and high-density lipoprotein cholesterol content for patients with hypertension and coronary disease was analyzed in order to assess the blood lipid spectrum. Statistical analysis and data processing was performed using standard methods of variation Statistics in the Statistics 8.0 software. Changes in lipid metabolism in patients with ischemic heart disease and hypertension were studied. The performed analysis of age-related and gender-related dynamics of blood lipid spectrum parameters – total triglycerides, total cholesterol (CS), low- and high-density lipoprotein cholesterol (LDL cholesterol and HDL cholesterol), the prognostic coefficient of atherogenicity (CA).

It was found that the level of total cholesterol in women in the age groups <45 and 55–65 years old is higher than in similar groups in men. In age groups > 65 years, gender difference in total cholesterol levels is not observed. In age group 45–55 years, there are gender-dependent differences in the value of the prognostic coefficient of atherogenicity. For women there were no age-related changes in triglyceride levels. For men there is a dependence of the triglyceride's levels with the age of patients. There were no significant differences in the levels of low- and high-density lipoproteins depending on gender.

*Keywords:* cardiovascular diseases, blood pressure, arterial hypertension, coronary heart disease, high-density lipoproteins, low-density lipoproteins, very low-density lipoproteins, predictive coefficient of atherogenicity

## CHANGES IN ZINC CONTENT IN HIPPOCAMPAL NEURONS UNDER STRESS REACTIONS OF DIFFERENT ORIGIN

**O. Kuchkovskiy<sup>1</sup>, V. Zadorozhnia<sup>2</sup>, I. Belenichev<sup>1</sup>, E. Fedotov<sup>1</sup>,  
I. Sukhomlinova<sup>1</sup>, A. Monova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zaporizhzhia State Medical University  
26, Maiakovskiy Ave., Zaporizhzhia 69035, Ukraine

<sup>2</sup>Zaporizhzhia National University  
66, Zhukovskiy St., Zaporizhzhia 69600, Ukraine  
e-mail: olegk181@gmail.com

It was shown in investigations on animals that injection of 8-(benzenesulfonilamono)-quinoline (8-BSQ) in the dose 400 mg/kg was accompanied by the development in them epileptiform cramps and hippocampal intravital reaction correlated with longing of cramps in animals. It's intensity rose under animal stressing with physical load, immobilization, alcoholization. 8-BSQ microapplication into the hippocampus induced also the development of intravital reaction and cramps in animals. Changes observed as a result of carried out work are explained by possibility of 8-BSQ of zinc chelating in hippocampus.

The experiments used 167 mice, of which 107 mice received 8-(benzenesulfonilamino)-quinoline (8-BSQ) at a dose of 200 mg/kg, 37 mice were administered this convulsant at a dose of 400 mg/kg, and 23 mice were microapplied in hippocampus at a dose of 0.1 ml of 0.5 % solution of 8-BSQ.

The analysis of the data, which is shown in this study once again supports the previously hypothesis of the role of zinc in the release of glutamic acid from the presynaptic plaque into the synaptic cleft. The complex of zinc with the chelating agent 8-BSQ affect the postsynaptic membrane thus sensitizing it. This, in turn, enhances the stimulating effect of glutamate on the postsynaptic membrane. This mechanism is accompanied not only by excessive release of glutamic acid due to the cleavage of zinc ions 8-BSQ, but also by additional sensitization of the postsynaptic membrane, which leads to increased activity of the hippocampus, up to clonic-tonic seizures.

An acute pre-stress of animals through exercise, immobilization and alcoholism leads to a more pronounced intensity of the intravital reaction of 8-BSQ and to prolonged seizures. Previous administration of calcium and magnesium salts does not significantly affect the intensity of the intravital reaction and the duration of seizures in animals. And the present study elucidate that the intensity of the intravital reaction and the duration of seizures in mammals depend on the dose of the injected reagent. There is a direct relationship between the intensity of the intravital reaction and the duration of seizures in animals. Microapplication of caustic soda on which the 8-BSQ solution was prepared did not cause an intravital reaction and convulsions. These data indicate that the cause of seizures is the interaction of 8-BSQ with zinc in the neurons of the hippocampus.

*Keywords:* hippocampus, cramps, chelant, zinc

### Introduction

The hippocampus of humans and animals is responsible for very important functions for the life and the survival of the body [12, 13]. This is one of the structures of the brain which is able to form the new neurons in the adult brain. Its destruction leads to changes or loss of function. And the reduction of the ammonium horn in ontogenesis is also one of the main signs

of Alzheimer's disease [9]. The development of temporal lobe epilepsy is also associated with the hippocampus.

On the basis of the structural changes, there are two main types of temporal lobe epilepsy:

1) with the presence of a volumetric process (tumor, aneurysm, hemorrhage), affecting the limbic system;

2) without the presence of clearly verified volume changes in the medial temporal lobe.

In the latter case, the only structural manifestation of temporal lobe epilepsy is the hippocampal sclerosis [1]. The involvement of the hippocampus in the generalization of epileptiform seizures can be used to study its functional activity [11].

At the same time, the hippocampus, like the pancreatic islets, contains chelated zinc, which accumulates in the neurons of the hippocampus and is determined cytochemically [10]. It is also known that the main excitatory neurotransmitter in the hippocampus is glutamic acid. Glutamate plays a significant role in all cognitive processes in which the cortex is involved, including thinking, perception and memory. When glutamate is present in excess, neurons are overexcited and die by a process called excitotoxicity. It involves too long opening of the ion channel to which the NMDA-receptor is attached. Ions and water break into the cell, leading to its «explosion». It is a mechanism of neuronal death in conditions of oxygen deficiency, blood sugar and epilepsy, in conditions that have been shown to lead to excessive glutamate release [14]. We can assume that in the cells of the hippocampus zinc is in complex with the secretory material – glutamic acid, to which zinc has the greatest affinity [3–5].

There are data in the literature that indicate a possible functional connection of the limbic system of the brain with the hypothalamus, the insular apparatus of the pancreas [2]. Both of the hippocampus and these structures contain chelated zinc, which can be determined using cytochemical methods developed by us [6, 15]. The theory has been put forward that zinc plays an important role in excitation mechanisms in the glutamatergic synapses of the hippocampus [3, 5, 11]. Studying the content of this metal in different conditions, as well as the duration of seizures, can help determine the role of zinc in the functional activity of the hippocampus.

Recently, the interest in studying of the functional state of the hippocampus has grown significantly. This work reveals the mechanisms of changes in functional activity and the possibility of determining and possible mechanisms for correcting the latter in animals under the influence of extreme factors.

The purpose of the work is to determine the content of zinc in the cells of the hippocampus under the influence of factors that change its functional state.

#### **Materials and Methods**

The experiments used 167 mice, of which 107 mice received 8- (benzenesulfonylamino) -quinoline (8-BSQ) at a dose of 200 mg/kg, 37 mice were administered this convulsant at a dose of 400 mg/kg, and 23 mice were microapplied in hippocampus at a dose of 0.1 ml of 0.5 % solution of 8-BSQ.

Animals were sacrificed 30 minutes after administration of 8-BSQ. Frozen sections 30–60 μm thick were prepared from the brain. The sections were enclosed in glycerin and examined under a fluorescent microscope. A FS-1 light filter was used to excite luminescence, and a ZhS-18 glass light filter was used as a protective (ocular) filter.

The product of the intravital reaction was determined by yellow-green luminescence on sections of the brain - in the fields CA2-CA4 of the hippocampus and in the dentate fascia.

To obtain a cytochemical reaction to zinc, sections of the brain were treated with 0.1 % acetone solution of 8-TLC, after 1–5 min they were washed with distilled water, enclosed in

glycerin and examined under a fluorescent microscope, as described above. Yellow-green luminescence was observed in the hippocampal neurons.

In order to immobilize animals they were tied with soft strips to the immobilization bench (table) according to the described methods [6].

The intensity of the luminescent reaction in the cells was evaluated by a semi-quantitative method, which consists in determining the intensity of the reaction by the tribal system proposed by V.V. Sokolovsky [7], F. Heihou and D. Quaglino [8]. One point was taken as a weakly positive, two points – a moderate, three points – a reaction expressed in intensity. Based on the count in 100 cells, the average value ( $\bar{X}$ ) of the reaction intensity was derived. The error (m) and probability (p) were calculated.

### Results and Discussion

To study the changes in zinc content in different conditions, methods of stressing the body of animals by immobilization, alcoholism and exercise were chosen. The results of the study of the effect of exercise on the intensity of the intravital cytochemical reaction of 8-BSQ in mice are shown in Table 1.

Table 1

The intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in the hippocampus and the duration of seizures when administered 8-BSQ to mice after exercise

Group of animals	Dose 8-BSQ, mg/kg	Number of animals	Reaction intensity, c.u.	Duration of the convulsions, min
8-BSQ (control)	200	17		
$\bar{X}$			0,8	3,5
m			0,09	0,46
Physical activity + 8-BSQ	200	13		
$\bar{X}$			1,4	12,8
m			0,15	1,55
p			<0,01	<0,001

From the materials given in the table it is seen that in the case of previous physical activity in the hippocampus develops an intense intravital reaction, which was accompanied by more pronounced convulsions, as evidenced by their long duration. When 8-BSQ was administered to mice that had been subjected to previous exercise, the intensity of the 8-BSQ intravital reaction increased by 75 %, and the duration of seizures increased by 265.7 % compared with controls. Thus, changes caused by exercise in the hippocampus lead to a more pronounced intravital reaction and to longer seizures than in control mice that did not have previous exercise. The data can also be used to support the link between the intravital reaction and the convulsive effect of 8-BSQ.

Studies of the effect of immobilization on the intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in mice with previous immobilization of animals are shown in Table 2.

As can be seen from the materials presented in the table, pre-immobilization caused a more pronounced intravital reaction and convulsive effect of 8-BSQ. When 8-BSQ was administered to mice after previous immobilization, the intensity of the intravital reaction of 8-BSQ increased by half (50 %), and the duration of seizures more than doubled (205.7 %) compared with control mice that did not receive the previous immobilization. These data suggest that during immobilization in the hippocampus there are changes that increase the intensity of the histochemical reaction of 8-BSQ and the duration of epileptiform seizures in animals that have been immobilized for a

long time. The obtained data indicate the connection of the convulsive action of 8-BSQ with its intravital reaction in the hippocampus.

Table 2

The intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in the hippocampus and the duration of seizures when administered 8-BSQ to mice after immobilization

Group of animals	Dose 8-BSQ, mg/kg	Number of animals	Reaction intensity, c.u.	Duration of the convulsions, min
8-BSQ (control)	200	17	0,8	3,5
$\bar{X}_m$			0,09	0,46
Immobilization+ 8-BSQ	200	12	1,2	10,7
$\bar{X}_m$			0,15	1,23
p			<0,05	<0,001

The results of the study of the effect of pre-alcoholization on the intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in mice are presented in Table 3.

Table 3

The intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in the hippocampus and the duration of seizures with the introduction of 8-BSQ in mice after alcoholism

Group of animals	Dose 8-BSQ, mg / kg	Number of animals	Reaction intensity, c.u.	Duration of the convulsions, min
8-BSQ (control)	200	17	0,8	3,5
$\bar{X}_m$			0,09	0,46
Alcoholisation+ 8-BSQ	200	15	1,4	11,7
$\bar{X}_m$			0,13	1,38
p			<0,001	<0,001

The results of the studies presented in the tables indicate an intense intravital reaction of 8-BSQ and more pronounced seizures in previous alcoholism. Thus, when the 8-BSQ mixture was administered after alcoholization, the intensity of the intravital reaction increased by 75 %, and the duration of seizures increased less than twice (234.3 %) compared with the control. Based on the data obtained, it can be concluded that in alcoholic animals, the metabolism in the hippocampus changes in such a way that increases the intensity of 8-BSQ reactions and the duration of seizures increases compared to non-alcoholic animals. As with pre-exercise and data immobilization, the data can be used to confirm the association of the intravital reaction of 8-BSQ with its convulsive action. It is possible to think that the 8-BSQ entered into an organism interacts with zinc in a hippocampus that leads to development of spasms. The results of studies with microapplication of 8-BSQ in the hippocampus of animals can serve as a strong support for this introduction.

The results of the study of the effect of 8-BSQ in microapplications of this substance using stereotactic techniques directly to the hippocampus are shown in Table 4. A separate series of experiments was performed microapplication of sodium hydroxide, which prepared a solution of 8-BSQ, in the hippocampus of rats.

Table 4

The intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in the hippocampus and the duration of seizures in mice in the case of microapplication of 8-BSQ in the hippocampus

The method of administration of 8-BSQ	Number of animals	Intensity of intravital reaction, c.u.	Duration of the convulsions, c.u.
200 mg/kg 8-BSQ intraperitoneally	16	0,9±0,12	4,1±0,52
Microapplications in the hippocampus of 0.1 ml of 0.5 % solution of 8-BSQ in 0.1 N sodium hydroxide solution	12	0,8±0,07	3,6±0,48
Microapplication in the hippocampus of 0.1 ml of 0.1 N sodium hydroxide solution	11	0	0

From the data given in the table it is seen that microapplications in the hippocampus of the 8-BSQ solution give a similar effect with its intra-abdominal administration. An intravital luminescent reaction was observed in the hippocampus, which was accompanied by epileptiform seizures. In control experiments it was shown that microapplication of the alkaline solution on which the solution of 8-BSQ is prepared, did not cause hippocampal glow and the development of seizures.

These data indicate that the convulsive effect of 8-BSQ is associated with its interaction with zinc in the neurons of the hippocampus.

In connection with the fact that the working solution of 8-BSQ was prepared for 0,1 n solution of caustic sodium, it was decided to demonstrate the absence of the judicial effect of this substance in the internal injection. Intraperitoneal injections of sodium hydroxide solution did not cause hippocampal luminescence and seizures in animals.

The role of metals such as calcium and magnesium in the genesis of epileptiform seizures, which are associated with effects on glutamatergic N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors, is known. To exclude such an effect of these metals in the formulation of the intravital reaction of 8-BSQ in the hippocampus of experimental animals, we conducted a separate series of experiments in which previously introduced salts of the above metals. We studied the effect of previous administration of calcium and magnesium salts on the intensity of the intravital reaction and the development of convulsive activity in animals under the action of a convulsant.

The results of the effect of the introduction of calcium and magnesium salts on the intensity of the intravital cytochemical reaction of 8-BSQ in the hippocampus in experimental animals are shown in Table 5.

The data in the table show that neither magnesium salts nor calcium salts do not affect the duration of clonic-tonic seizures in animals with the introduction of the convulsant 8-BSQ. This confirms our assumption that the chelation of zinc itself provokes convulsions observed in animals when they are administered chelant.

The analysis of our data once again supports the previously hypothesis of the role of zinc in the release of glutamic acid from the presynaptic plaque into the synaptic cleft. The complex of zinc with the chelating agent 8-BSQ affect the postsynaptic membrane thus sensitizing it. This, in turn, enhances the stimulating effect of glutamate on the postsynaptic membrane. This mechanism is accompanied not only by excessive release of glutamic acid due to the cleavage of zinc ions 8-BSQ, but also by additional sensitization of the postsynaptic membrane, which leads to increased activity of the hippocampus, up to clonic-tonic seizures.

The correlation of changes in the intensity of the cytochemical reaction in hippocampal cells with the duration of seizures in animals is noteworthy, which is another evidence of the effect of chelated zinc on the functional activity of the hippocampus.

Table 5

The intensity of the intravital reaction of 8-BSQ in the hippocampus and the duration of seizures in mice with the introduction of 8-BSQ in the case of injection of calcium chloride and magnesium sulfate

Group of animals	Dose, mg/kg	Number of animals	Intensity of intravital reaction, c.u.	Reaction time, min
8-BSQ (control)	400	14		
$\bar{X}_m$			1,3	16,2
Calcium salt + 8-BSQ	200 +400	11	0,12	2,37
$\bar{X}_m$			1,2	12,8
Magnesium salt+ 8-BSQ	200 +400	12	0,14	2,43
$\bar{X}_m$			>0,05	>0,05
$\bar{X}_m$			1,4	13,1
$\bar{X}_m$			0,15	1,67
$p$			>0,05	>0,05

When analyzing the data presented in this paper, the following conclusions can be drawn:

- the intensity of the intravital reaction and the duration of seizures in mammals depend on the dose of the injected reagent;
- there is a direct relationship between the intensity of the intravital reaction and the duration of seizures in animals;
- microapplication of caustic soda on which the 8-BSQ solution was prepared did not cause an intravital reaction and convulsions;
- these data indicate that the cause of seizures is the interaction of 8-BSQ with zinc in the neurons of the hippocampus;
- acute pre-stress of animals through exercise, immobilization and alcoholism leads to a more pronounced intensity of the intravital reaction of 8-BSQ and to prolonged seizures;
- previous administration of calcium and magnesium salts does not significantly affect the intensity of the intravital reaction and the duration of seizures in animals.

#### REFERENCES

1. Балькова О. П., Шиханов Н. П., Иноземцева В. С. и др. Механизмы развития эпилепсии височной доли: клинические и экспериментальные исследования // Неврол. вестн. 2002. Т. 34. Вып. 1–2. С. 60–68.
2. Берегова Т. В. Григорова Н. В., Єценко Ю. В. та ін. Функціональні взаємозв'язки інсулярного апарату з гіпокампом // Доп. НАНУ. 2008. № 8. С. 149–152.
3. Кузнецов В. И. Глутамат и цинк в передаче нервных импульсов в гигантских синапсах мшистых волокон гиппокамповой формации // Нейрохимия и физиология синаптических процессов. Пушино-на-Оке, 1976. С. 26–27.
4. Кучковський О. М. Єценко Ю. В. Вплив конвульсанту на вміст цинку в інсулоцитах і нейронах гіпокампа в мишей // Вісн. ЗДУ. 2001. № 1. С. 176–177.
5. Кучковський О. М. Метаболізм металів у гіпокампі та роль цинку в патогенезі епілептиформних судом // Вісн. МДПУ ім. Б. Хмельницького. 2016. Т. 6. № 2. С. 34–44.



6. Кучковський О. М. Участь гіпокампу в регуляції метаболізму хелатоутворюючого цинку в організмі // Вісн. ЗНУ. 2015. № 2. С. 142–152.
7. Соколовський В. В. Гистохимические исследования в токсикологии: монографія. Л.: Медицина, 1971. 172 с.
8. Хэйхоу Ф., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: монографія. М.: Медицина, 1983. 320 с.
9. Biscaro B., Lindvall O., Hock C., Ekdahl C. T., Nitsch R. M. Abeta immunotherapy protects morphology and survival of adult-born neurons in doubly transgenic APP/PS1 mice // J. Neurosci. 2009. Vol. 29. N 45. P. 14108–14119.
10. De Biasi S., Brendotti C. A. Simplified procedure for the physical development of the sulfide silver method to reveal of the zinc in combination with immunocytochemistry at light electron microscopy // J. Neurosci. Methods. 1998. Vol. 79. P. 87–96.
11. Blumcke I., Spreafico R., Haaker G. et al. Histopathological Findings in Brain Tissue Obtained during Epilepsy Surgery // N. Engl. J. Med. 2017. Vol. 377(17). P. 1648–1656.
12. James J. Knierim. The hippocampus // Curr Biol. 2015. Vol. 25(23). P. 1116–1121.
13. Jaroudi W., Garami J., Garrido S. Factors underlying cognitive decline in old age and Alzheimer's disease: the role of the hippocampus // Rev. Neurosci. 2017. Vol. 28(7). P. 705–714.
14. Rusakov D. A. Kullman D. A. Extrasynaptic glutamate diffusion in the hippocampus: ultrastructural constraints, uptake, and receptor activation // J. Neurosci. 1998. Vol. 18. N 9. P. 3158–3170.
15. Shamenko V. O., Kadzharian Ye. V., Abramov A. V. Intermittent hypobaric hypoxia and neuroendocrine reaction of the parvocellular neurons of the paraventricular hypothalamic nucleus // Патологія. 2019. [S1], N 3. doi:http://dx.doi.org/10.14739/2310-1237.2019.3.188834

Стаття надійшла до редакції 28.09.21

доопрацьована 01.12.21

прийнята до друку 08.12.21

## ЗМІНИ ВМІСТУ ЦИНКУ В НЕЙРОНАХ ГІПОКАМПУ ПІД ЧАС СТРЕС-РЕАКЦІЙ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ

**О. Кучковський<sup>1</sup>, В. Задорожня<sup>2</sup>, І. Бєленічев<sup>1</sup>, С. Федотов<sup>1</sup>,  
І. Сухомлінова<sup>1</sup>, А. Монова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет  
вул. Маяковського, 26, Запоріжжя 69000, Україна

<sup>2</sup>Запорізький національний університет  
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя 69600, Україна  
e-mail: olegk181@gmail.com

У досліджах на тваринах показано, що введення 8-(бензолсульфоніламіно)-хіноліну (8-БСХ) у дозі 400 мг/кг супроводжувалося розвитком у них епілептиформних судом та інтравітальної реакції в гіпокампі. Інтенсивність реакції корелювала з тривалістю судом у тварин. Її інтенсивність зростала під час стресування тварин фізичним навантаженням, іммобілізацією, алкоголізацією. Мікроаплікації 8-БСХ у гіпокамп також викликали розвиток інтравітальної реакції та судом у тварин. Зміни, що спостерігалися в результаті проведеної роботи, пояснюються здатністю 8-БСХ хелатувати цинк у гіпокампі.

У досліджах використано 167 мишей, 107 із яких отримували 8-(бензолсульфоніламіно)-хінолін (8-БСХ) у дозі 200 мг/кг, 37 мишам вводили цей конвульсант у дозі 400 мг/кг, а також 23 мишам робили мікроаплікації у гіпокамп у дозі 0,1 мл 0,5 % розчину 8-БСХ.

Аналіз отриманих нами даних ще раз підкріплює висунуту раніше гіпотезу про роль цинку у вивільненні глютамінової кислоти із пресинаптичної бляшки в синаптичну щілину. При цьому комплекс цинку з хелатуючим агентом 8-БСХ впливає на постсинаптичну мембрану, таким чином сенсibiliзуючи її. Це, у свою чергу, підсилює збуджуючий вплив глютаму на постсинаптичну мембрану. Даний механізм супроводжується не тільки надлишковим вивільненням глютамінової кислоти за рахунок відщеплення іонів цинку 8-БСХ, а й додатковою сенсibiliзацією постсинаптичної мембрани, що і призводить до підвищення активності гіпокампу, аж до виникнення клоніко-тонічних судом.

Гострий попередній стрес тварин через фізичні вправи, іммобілізацію і алкогольізм призводив до більш вираженої інтенсивності інтравітальної реакції 8-БСХ і до більш тривалих судом. Попереднє введення солей кальцію та магнію істотно не впливало на інтенсивність інтравітальної реакції та тривалість судом у тварин. І це дослідження показує, що інтенсивність інтравітальної реакції та тривалість судом у ссавців залежать від дози введеного реагента. Наявна пряма залежність між інтенсивністю інтравітальної реакції та тривалістю судом у тварин. Мікроаплікація їдкою натру, на якому готували розчин 8-БСХ, не викликала інтравітальної реакції та судом у тварин.

*Ключові слова:* гіпокамп, судом, хелант, цинк

**XVII ВСЕУКРАЇНСЬКА КОНФЕРЕНЦІЯ “СТАН І БІОРІЗНОМАНІТТЯ  
ЕКОСИСТЕМ ШАЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ ТА  
ІНШИХ ПРИРОДООХОРОННИХ ТЕРИТОРІЙ”, ПРИСВЯЧЕНА 100-Й РІЧНИЦІ  
ВІД ДНЯ НАРОДЖЕННЯ КОСТЯ АДРІАНОВИЧА ТАТАРИНОВА**

**О. Решетило, К. Назарук, І. Дикий, Й. Царик, І. Скирпан, І. Колтун**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: zoo.dep.biology@lnu.edu.ua*

На базі кафедри зоології Львівського національного університету імені Івана Франка 9–12 вересня 2021 р. відбулася Всеукраїнська конференція “Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій”, присвячена 100-й річниці від дня народження К. А. Татарінова.



У роботі конференції взяли участь 65 учасників зі 40 провідних наукових і навчальних установ Києва, Львова, Харкова, Шацька, Івано-Франкового, Одеси, Сум, Ужгорода, Житомира, Брно (Чехія), Нью-Делі (Індія), Копенгагена (Данія) й інших міст. Більшість цих установ підпорядкована Міністерству освіти і науки України, Національній академії наук України. Були представлені також інституції природозаповідного фонду України, реабілітаційні центри для тварин і громадські організації.

Конференція проходила у два етапи: пленарне засідання 9 вересня – у приміщенні біологічного факультету ЛНУ імені Івана Франка, секційні засідання 10–12 вересня – на території біолого-географічного стаціонару ЛНУ імені Івана Франка (околиці смт Шацьк Волинської обл.).

На конференції заслухано 29 усних доповідей з актуальних фундаментальних і прикладних питань зоології, екології, гідроекології, популяційної генетики, охорони природи, мікроеволюції, мікробіології, ботаніки тощо. Особливу увагу приділено біографії Костя Адриановича Татарінова та спогадам про нього. Однією з ключових доповідей на

конференції був виступ професора Йосифа Царика, який обґрунтував необхідність створення нового розділу екології – інформаційної екосистемології. Доповіді також стосувалися глобальних змін клімату і його впливу на ключові види екосистем, наслідків негативної антропогенної дії та впливу інших екологічних чинників на біотичні системи й пошуку шляхів їхнього подолання, проблем і перспектив розвитку об'єктів природозаповідного фонду України. Одним із суттєвих нововведень цьогорічної конференції стала змішана форма участі у ній: частина доповідачів (особливо закордонні учасники) презентували свої доповіді дистанційно (Zoom), а інша частина – традиційно. Це дало змогу залучити більшу кількість учасників, допомогло мінімізувати ризики і проблеми сучасної коронавірусної доби та засвідчило перспективність проведення конференцій у такому форматі на майбутнє.

У науковому збірнику конференції надруковано 59 публікацій, у підготовці яких взяли участь 130 авторів (<https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2021/09/SHatsk-2021.pdf>).

Учасники конференції акцентували увагу на потребі комплексного підходу до зоологічних і екологічних досліджень, на необхідності системного бачення проблеми збереження біорізноманіття. Під час екскурсії навколо озера Пісочного було визначено моніторингові ділянки для подальшого детального дослідження біоти на них. Учасники підкреслили необхідність проведення конференції як засобу навчання студентської молоді, а також наголосили на потребі сприяти популяризації зоологічних і екологічних знань серед школярів та молоді всіма можливими способами. Позитивно відзначили співпрацю з іноземними вченими й інституціями та використання сучасних технологій для дистанційного зв'язку з ними.

Учасники конференції відзначили високий рівень її організації, висловили вдячність організаційному комітетові й запропонували наступну, XVIII Всеукраїнську конференцію “Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій” провести у вересні 2022 року.

Текст резолюції можна переглянути за посиланням <https://bioweb.lnu.edu.ua/news/xvii-naukova-konferentsiia-stan-i-bioriznomanittya-ekosystem-shatskoho-natsionalnoho-prirodnoho-parku-ta-inshykh-prirodookhoronnykh-terytoriy>

## **XVII NATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE “STATUS AND BIODIVERSITY OF ECOSYSTEMS OF SHATSKYI NATIONAL NATURE PARK AND OTHER PROTECTED AREAS” DEDICATED TO THE 100 BIRTHDAY ANNIVERSARY OF KOST TATARYNOV**

**O. Reshetylo, K. Nazaruk, I. Dykyy, Y. Tsaryk, I. Skyrpan, I. Koltun**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: zoo.dep.biology@lnu.edu.ua*

XVII National scientific conference “Status and biodiversity of ecosystems of Shatskyi National Nature Park and other protected areas” dedicated to the 100 birthday anniversary of Kost Tatorynov was held on 9–12 September, 2021. Zoology Department of Ivan Franko National University of Lviv traditionally organized it.

65 participants from 40 scientific and education organizations took part in the conference. They represented Kyiv, Lviv, Kharkiv, Shatsk, Ivano-Frankove, Odesa, Sumy, Uzhgorod, Zhytomyr, Brno (Czech Republic), New-Deli (India), Copenhagen (Denmark) and others. Most of the organizations belong to the Ministry of Education and Science, National Academy of Sciences of

Ukraine. Some of them represent nature protective areas of our country, animal sanctuaries and NGOs.



Conference was divided into two parts: 9 September – plenary session at Biology Faculty of the University, 10–12 September – section presentations at Bio-Geographical Stationary of the University (vicinity of Shatsk, Volyn region).

29 oral reports on the actual fundamental and applied problems of zoology, ecology, hydroecology, population genetics, nature conservation, microevolution, microbiology, botany etc. were presented. At the beginning the attention was drawn to the biography of Kost Tatorynov and memories of him. One of the key conference reports was Yosyf Tsaryk's presentation on the necessity reasons of information ecosystemology establishing as a new branch of ecology. Other reports concern global climate change and its impact on key-stone species in different ecosystems, consequences of negative anthropogenic pressure and influence of other ecological factors on biotic systems, problems and perspectives of the development of nature protected territories in Ukraine. One of the most important innovations on the conference was its mixed participation: part of the lecturers (especially those from abroad) presented their reports remotely (by Zoom), and the rest of participants did it in a traditional way. This approach gave the possibility to enlarge the list of presenters, let the organizers minimize Covid-19 risks and showed the perspective of such a conference format use for the future. Conference proceedings include 59 publications by 130 authors (<https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2021/09/SHatsk-2021.pdf>).

The conference participants emphasized on the importance of complex approach to zoological and ecological research, necessity of integrated view on the problem of biodiversity conservation. Model sites for the following biota monitoring were chosen during the program excursion around Lake PISOCHNE. The participants accented on the importance of the conference as a didactic measure for students and supported the idea of popularization of zoological and ecological knowledge among schoolchildren and youth. The fact of cooperation with the scientists and institutions from abroad as well as the usage of remote technologies to communicate with them was positively mentioned too.

Finally, the participants expressed their gratitude for the high level of conference organization and proposed to organize the next XVIII one in September of 2022. Full text of the conference resolution is available on <https://bioweb.lnu.edu.ua/news/xvii-naukova-konferentsiia-stan-i-bioriznomanitya-ekosystem-shatskoho-natsionalnoho-pryrodnoho-parku-ta-inshykh-pryrodookhoronnykh-terytoriy>

## ЗМІСТ

### ОГЛЯДИ

- О. Лановенко*  
Розлади аутистичного спектру: генетичні й епігенетичні аспекти ..... 3

### БІОХІМІЯ

- Б. Котик, Р. Іскра*  
Ліпідний склад плазми крові щурів за дії етилтіосульфанілату  
і хром (VI)-індукованої токсичності ..... 18

### ГЕНЕТИКА

- B. Dolya, T. Busche, T. S. Jørgensen, K. Ochi, T. Gren, T. Weber, J. Kalinowski,  
A. Luzhetskyu, B. Ostash*  
A database of sequenced genomes of different *Streptomyces albus* J1074 strains  
and uses thereof ..... 26

### ЕКОЛОГІЯ

- М. Мекіч, Л. Буньо, О. Терек*  
Оксидоредуктазна активність ґрунтів в умовах нафтового забруднення та  
фітореMediaції ..... 35
- С. Бешлей, В. Баранов, Я. Шпак*  
Вплив кам'яновугільного попелу та гумату калію на вміст нітрогену і карбону  
в субстраті відвалу вуглепромисловості й органах *Sorghum drummondii*  
(Nees ex Steud.) Millsp. & Chase ..... 45
- В. Баранов, С. Ващук, Л. Карпинець, І. Микієвич*  
Ефект дії індолілмасляної кислоти і глинування на морфометричні параметри сосни  
звичайної та сосни жорсткої в умовах росту на техногенних субстратах ..... 53
- В. Кияк, В. Штупун*  
Трансформаційні процеси в альпійських фітоценозах Українських Карпат  
за умов заповідання та кліматичних змін ..... 59

### ЗООЛОГІЯ

- С. Стельмах*  
Поширення орябка (*Tetrastes bonasia* L.) в українському Розточчі наприкінці ХХ  
та в ХХІ століттях ..... 70

### ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

- О. Доценко, З. Боярська*  
Вікові та гендерні особливості ліпідного профілю крові хворих на гіпертонію  
й ішемічну хворобу серця ..... 79
- О. Kuchkovskiy, V. Zadorozhnia, I. Belenichev, E. Fedotov, I. Sukhomlinova, A. Monova*  
Changes in zinc content in hippocampal neurons under stress reactions of different origin ...90

### ХРОНІКА НАУКОВОГО ЖИТТЯ

- О. Решетило, К. Назарук, І. Дикий, Й. Царик, І. Скирпан, І. Колтун*  
ХVІІ Всеукраїнська конференція “Стан і біорізноманіття екосистем Шацького  
національного природного парку та інших природоохоронних територій”,  
присвячена 100-й річниці від дня народження Костя Адріановича Татарінова ..... 98

## CONTENS

### REVIEWS

- O. Lanovenko*  
Autistic spectrum disorders: genetic and epigenetic aspects  
(review of modern foreign publications) ..... 3

### BIOCHEMISTRY

- B. Kotyk, R. Iskra*  
Indicators of the lipid composition of rat blood plasma under the action  
of ethylthiosulfanylate and chrome (VI) -induced toxicity ..... 18

### GENETICS

- B. Dolya, T. Busche, T. S. Jørgensen, K. Ochi, T. Gren, T. Weber, J. Kalinowski,  
A. Luzhetskyy, B. Ostash*  
A database of sequenced genomes of different *Streptomyces albus* J1074 strains  
and uses thereof ..... 26

### ECOLOGY

- M. Mekich, L. Bunyo, O. Terek*  
Soil oxidoreductase activity in conditions of oil contamination and phytoremediation .....35
- S. Beshley, V. Baranov, Y. Shpak*  
Effect of coal fly ash and potassium humate on nitrogen and carbon contents  
in coal industry dump substrate and organs of *Sorghum drummondii*  
(Nees ex Steud.) Millsp. & Chase ..... 45
- V. Baranov, S. Vashchuk, L. Karpinets, M. Mykiyevich*  
Effect of the indolebutyric acid and the claying activity on morphometric parameters of the  
scotch pine and the pitch pine in growth conditions on technogenic substrates ..... 53
- V. Kyyak, V. Shtupun*  
Transformation processes in alpine phytocoenoses of the Ukrainian Carpathians  
under reservation and climate changes ..... 59

### ZOOLOGY

- S. Stelmakh*  
Distribution of hazel grouse (*Tetrastes bonasia* L.) in ukrainian Roztochya  
at the end of XX and XXI centuries ..... 70

### HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

- O. Dotsenko, Z. Boiarska*  
Age and gender characteristics of blood lipid profile in patients with hypertension  
and coronary heart disease ..... 79
- O. Kuchkovskyy, V. Zadorozhnia, I. Belenichev, E. Fedotov, I. Sukhomlinova, A. Monova*  
Changes in zinc content in hippocampal neurons under stress reactions of different origin ...90

### CHRONICLE OF SCIENTIFIC LIFE

- O. Reshetylo, K. Nazaruk, I. Dykyy, Y. Tsaryk, I. Skyrpan, I. Koltun*  
XVII National scientific conference "Status and biodiversity of ecosystems  
of Shatskyi national nature park and other protected areas" dedicated  
to the 100 birthday anniversary of Kost Tatarynov ..... 98