

ISSN 0206-5657

ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 91

2024

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

Series Biology | **Серія біологічна**

Issue 91 | **Випуск 91**

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

2024

Друкується за ухвалою Вченої ради
Львівського національного університету
імені Івана Франка
Протокол № 66/5 від 29 травня 2024 р.

Реєстрація суб'єкта у сфері друкованих медіа:
Рішення Національної ради України з питань
телебачення і радіомовлення № 1877 від
30.05.2024 р. Ідентифікатор медіа R 30-04890.
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, Hrushevskiy St.
Lviv 79005, Ukraine
tel. (032) 239-47-86

E-mail: biovisnyk@lnu.edu.ua

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

<https://doi.org/10.30970/vlubs.2024.91>

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^{1/16}
Ум. друк. арк. 8,5
Наклад 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет
імені Івана Франка, 2024

**ДИСБАЛАНС МАСИ СКЛАДОВИХ СИСТЕМ ТИПУ
«СЕРЕДОВИЩЕ – РЕЧОВИНА» ЗА ШКОДОЧИННОЇ
ДІЇ ЕНДОГЕННИХ ФАКТОРІВ**

Г. Максимюк¹, О. Стадницька², М. Воробець¹, Г. Седіло², В. Максим'юк²

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: hanna.maksymjuk@gmail.com

²Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН
вул. Грушевського, 5, с. Оброшине, Львівський р-н,
Львівська обл. 81115, Україна
e-mail: stadnytskaolha@ukr.net

Щоб дослідити особливості змін показників маси, вмісту і співвідношень пар води, органічної та неорганічної складової у системах типу «середовище (вода) – речовина» за дії шкодочинних екзо- й ендогенних факторів, запропоновано розроблений і адаптований у лабораторну роботу спосіб визначення й аналізу особливостей дисбалансу її рівноважного стану. Застосування рекомендованого способу допоможе експериментаторам різного профілю (*фізіологи, біохіміки, біофізики*) досить об'єктивно визначати й оцінювати ступінь шкодочинного впливу тих чи інших факторів на гомеостаз маси складових і особливості її взаємозв'язку між окремо взятими компонентами досліджуваних об'єктів (*речовини рідин плодових оболонок амніона й алантоїса*).

Результати досліджених зразків рідин плодових оболонок амніона й алантоїса свідчать, що тривала (275–285 діб) шкодочинна дія продуктів запальних процесів на функціональний стан плацентарного бар'єру матки тільних корів, залежно від дії різних обставин, змінює вектор переміщених частин маси води, органічних і неорганічних речовин або в бік збільшення, або в бік зменшення. Цілком можливо, що неоднакова здатність хімічних і біохімічних сполук до зв'язування молекул води залежить від зміни параметрів маси асимільованих поживних речовин рідини амніона та накопичених рідиною алантоїса продуктів їхнього розпаду.

Встановлено, що тривала шкодочинна дія продуктів запальних процесів статевих органів на функціональний стан плацентарного бар'єру матки тільних корів змінює спосіб і величину переміщених у рідину плодових оболонок амніона й алантоїса частин маси води, органічних і неорганічних речовин, що негативно впливає на здатність хімічних і біохімічних сполук до зв'язування молекул води; змінює інтенсивність процесів асиміляції поживних речовин та їхньої дисиміляції на прості сполуки. Залежно від сили і способу шкодочинної дії вектор переміщення складових у системі типу «вода – речовина» спрямовано або в бік збільшення, або в бік зменшення параметрів їхньої маси. Наслідком перерозподілу складових у системах типу «вода – речовина» є дисбаланс гомеостазу їхньої маси, що негативно впливає на життєздатність, ріст і розвиток утвореного ембріона та новонародженого плода.

Ключові слова: система «середовище – речовина», маса складових

Результати сучасних і раніше проведених досліджень свідчать, що кількісний та якісний склад неорганічних і органічних речовин рідини оболонки амніона забезпечує відповідну силу тиску м'язів матки, справляє тонізуючий вплив на зародок, захищає плід від механічних ушкоджень, підтримує його нормальне положення в матці, створює умови для живлення, росту й розвитку, тоді як склад рідини оболонки алантоїса є лише продуктом розпаду поживних речовин і обміну газами між організмами матері та плода [3]. Нещодавно з'явилися повідомлення про те, що упродовж вагітності відносна постійність складу рідин плодових оболонок значною мірою залежить від стану функцій плацентарного бар'єру матки [2, 4, 9, 18]. Шкодочинна дія екзо- та ендогенних факторів змінює рівноважний стан концентрації мікроелементів рідин алантоїса й амніона. Змінений склад рідини амніона та накопичені тканинами статевих органів продукти запальних реакцій [10, 14–17] ініціюють появу ембріотоксичних і тератогенних ефектів [11–13, 15], що негативно впливає на ріст і розвиток утвореного ембріона [7, 12, 13], змінює антропометричні показники народженого плода [4–6, 14, 16].

Однак опубліковані результати досліджень лише реєструють особливості змін концентрації тих чи інших речовин за шкодочинної дії екзо- та ендогенних факторів. За їхньою допомогою не можна ні оцінити, ні пояснити розмаїтий комплекс взаємодій між елементами систем типу «середовище – речовина». Тому розроблена й адаптована в лабораторну роботу методика пропонує дешеві та прості у виконанні фізичні (*випарювання, спалювання*) способи. Прийоми, які тут застосовуються, розділяють об'єкт досліджень на воду та органічні й неорганічні речовини. Визначені за таких обставин абсолютні (*г, мг*) і розраховані відносні (*%*, *Icm:1**) показники співвідношень пар складових ($H_2O:HP$, $H_2O:OP_p$, $H_2O:OP_2$, $OP_2:HP$, $OP_1:HP$, $OP_1:OP_2$) використовують для оцінювання особливостей змін рівноваги та взаємозв'язку параметрів маси між окремо взятими елементами систем типу «середовище – речовина» за дії екзо- й ендогенних шкодочинних факторів.

Примітка. Індекс співвідношень відсотків маси (*Icm:1**) пар ($H_2O:HP$, $H_2O:OP_p$, $H_2O:OP_2$, $OP_2:HP$, $OP_1:HP$, $OP_1:OP_2$) складових зразків рідини і СЗ плодових оболонок амніона й алантоїса позначено латинськими літерами, де: *I* – індекс, *c* – вміст, *m* – маса.

Матеріали та методи

Застосовані, адаптовані й рекомендовані експериментаторам прийоми (*зважування, випарювання, спалювання*) гравіметричного методу визначення абсолютних і обчислених відносних показників дають змогу інтерпретувати й аналізувати особливості виявлених змін вмісту (*вода, органічні, неорганічні речовини, %*) і рівноваги маси складових рідини та СЗ алантоїса й амніона за шкодочинної дії ендогенних факторів (*продукти запальних процесів*).

Засоби вимірювальної техніки. Ваги аналітичні демпферні, гирки різної маси. Термометри скляні. Мідь- або залізконстантанові термопари.

Обладнання. Посуд пластмасовий (3–5 дм³), колби скляні (250–500 см³) з притертим або пластмасовим гвинтовим корком, циліндри мірні (20–50 см³), флакони скляні місткістю 15 см³, пробірки для центрифуги (кварцові). Шафа сушильна, піч муфельна, шафа витяжна. Термоси низькотемпературні, ексикатори скляні, ступка (фарфорова або агатова) з товкачиком, шпателі, скальпелі або гострі стилети, штативи і контейнери для пробірок, тримачі пробірок і контейнерів, пальники газові. Спирт етиловий ректифікований, кальцій хлористий, вата гігроскопічна, лейкопластир, засоби для миття і маркування посуду.

Спосіб отримання зразків РПО. У родильному приміщенні під час настання родів у широкогорловий пластмасовий посуд відбирають 1,5–2,5 дм³ першої (*алантоїс*) і другої (*амніон*) рідин плодових оболонок. Для лабораторних досліджень у пластмасовий або

скляний посуд окремо вливають 100–150 см³ рідини корів дослідної та контрольної груп. Посуд із рідиною поміщають у термоси і доставляють до лабораторії.

Підготовка зразків РПО до досліджень. Макроскопічний стан ознак зразків РПО амніона й алантоїса, а саме забарвлення (*прозорий* → *світло-сірий* → *темно-коричневий*) і густини (*плинно-в'язка* → *рідка*) оцінюють окомірно. Від отриманого об'єму (100–150 см³) у мірний циліндр вливають 10 см³ досліджуваної рідини. Переливають її у завчасно зважені скляні флакони (m_{01}) місткістю 15 см³. Флакони з перелитим об'ємом рідини зважують. Отримують суму мас флаконів і рідини ($m_{зр1}$). За різницею суми мас порожніх флаконів і відібраних об'ємів рідини ($m_{зр1*} - m_{01}$) визначають масу (m_1) складових рідини об'єкта досліджень. Визначені показники заносять у журнал реєстрації результатів експерименту.

Використані способи отримання, підготовки і проведення досліджень відповідають вимогам Директив Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу [8], а також Відомостям Верховної Ради України про захист тварин від жорстокого поводження [1].

Базові положення рекомендованого способу розроблено, апробовано і впроваджено в лабораторну роботу під час виконання науково-дослідних завдань Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН «Дослідження особливостей гомеостазу органічної й неорганічної складової навколоплідної рідини у корів та його зв'язок зі станом фізичних ознак новонародженого плода» (*№ державної реєстрації 0121U100404*) та Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Розробка прогностичних і діагностичних імуно-біохімічних критеріїв за дії на організм екстремальних чинників різної природи» (*№ державної реєстрації 021U100163*).

Етапи досліджень. Визначення особливостей динаміки параметрів маси складових зразків рідини амніона й алантоїса за шкодочинної дії ендогенних факторів проводять згідно зі схемою (*рис. 1*). На першому етапі досліджень зразки рідини висушують у сушильній шафі упродовж 72 год за 105 °С. Вказана процедура ділить її первинний склад на випаровану воду (m_2) та СЗ (m_3) ОР і НР. Масу легкозаймистих ОР₁ (m_4) СЗ визначають після його спалювання на відкритому вогні газового пальника за 520–530 °С (*другий етап досліджень*). Неспалений залишок термостійких ОР₂ (m_5) і НР (m_6) спалюють у муфельній печі за 650 °С (*третій етап досліджень*).

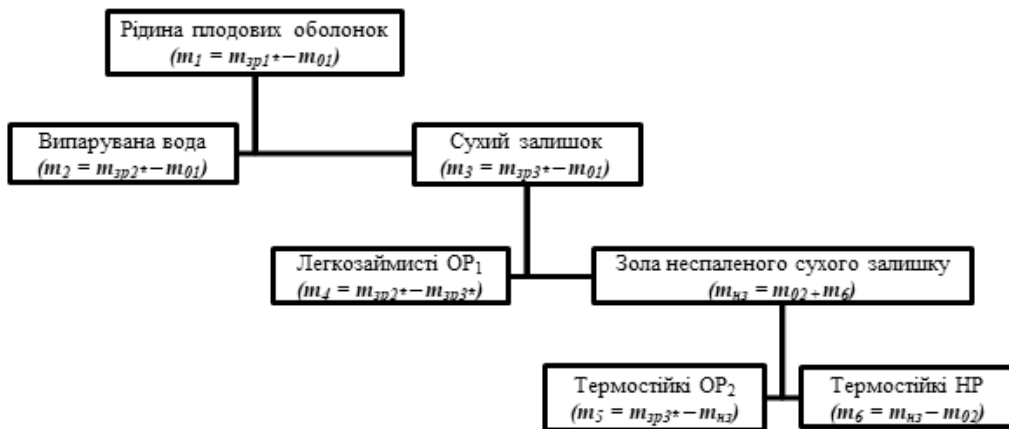


Рис. 1. Схема порядку визначення маси складових рідини і сухого залишку: m_{01} – маса порожніх флаконів; $m_{зр1*}$ – сума мас флаконів і рідини; m_1 – маса рідини; m_2 – маса випарованої води; m_3 – маса СЗ; m_{02} – маса порожніх кварцових пробірок; $m_{зр2*}$ – сума мас кварцових пробірок і порошку; $m_{зр3*}$ – сума мас кварцових пробірок і золи; m_4 – маса легкозаймистих ОР₁; m_5 – маса термостійких ОР₂; m_6 – маса термостійких НР; $m_{нз}$ – сума мас термостійких НР і кварцових пробірок

Результати і їхнє обговорення

Процедура висушування зразків РПО. На першому етапі досліджень визначають масу (z , m_2) випарованої води. Флакон ($16,6973$ г) із рідиною ($10 \text{ см}^3 = 9,7380$ г) поміщають у розігріту до $105 \text{ }^\circ\text{C}$ сушильну шафу. Втрату маси H_2O реєструють 3 доби поспіль ($24 \rightarrow 48 \rightarrow 72 \text{ год}$) після кожних 24 год витримування зразків у шафі. Висушування припиняють за умови, якщо зміни параметрів маси останнього зважування не виходять за межу третього знака після коми результату попереднього зважування. Після висушування знаходять масу випарованої H_2O ($9,5121$ г). Маса СЗ (m_3) знаходять за різницею показників рідини до та СЗ після випаровування H_2O (табл. 1).

Таблиця 1

Параметри маси складових зразків рідини, г

Процедура висушування (етап перший, $105 \text{ }^\circ\text{C}$)				
маса флакона	сума мас	маса рідини	маса складових	
m_{01}	$m_{\text{сп}1^*}$	m_1	випарувана вода	сухий залишок
16,6973	26,4353	9,7380	9,5121	0,2230

Утворену кристалічну плівку речовин СЗ об'єкта досліджень відокремлюють від стінок флаконів гострими предметами (*скальпель, стилет*). Висипають їх у ступку і розтирають до дрібнодисперсного порошку. Порошок витримують 24 год у сушильній шафі за $105 \text{ }^\circ\text{C}$ і переносять у скляний бюкс для зберігання в ексікаторі, що містить кальцій хлористий (CaCl_2).

Процедура спалювання легкозаймистих ОР₁. Дрібнодисперсну порошокподібну масу зразків переносять у попередньо зважені кварцові пробірки (m_{02}). Суму мас пробірок і внесеного порошку реєструють. За різницею показників ($m_{\text{сп}2^*} - m_{02}$) знаходять масу (m_3) складових СЗ (табл. 1).

Спалювання легкозаймистих речовин СЗ (ОР_1) проводять на відкритому вогні газового пальника у витяжній шафі за $520\text{--}530 \text{ }^\circ\text{C}$. Процедурі спалювання закінчують після того, як з пробірки перестане виділятися густий (*іноді здатний горіти*), різного кольору і запаху дим. На дні та стінках пробірок залишаються не до кінця спалені термостійкі органічні (ОР_2) й неорганічні (НР) сполуки. Пробірки із залишком неспалених речовин охолоджують в ексікаторі до кімнатної температури та зважують. За визначеною різницею ($m_{\text{сп}2^*} - m_{\text{сп}3^*}$) знаходять показник маси легкозаймистих ОР_1 (m_4).

Процедура спалювання термостійких речовин. Сполуки, які не згоряють за $520\text{--}530 \text{ }^\circ\text{C}$, спалюють у муфелі за $650 \text{ }^\circ\text{C}$. Кварцові пробірки із термостійкими ОР_2 і НР ($m_{\text{сп}2^*}$) кладуть у спеціальні контейнери. Вміщують їх у муфельну піч. Потрібного режиму спалювання досягають упродовж 30–40 хв. Упродовж 40–60 хв термостійкі речовини згоряють до стану золи. Після 20–30 хв остигання контейнери з пробірками виймають із печі. Отримують золу неспалених НР . Кварцові пробірки з золою переносять в ексікатор. Витримують їх до повного остигання і проводять остаточне зважування ($m_{\text{сп}}$). За різницею параметрів мас (табл. 2) знаходять масу термостійких ОР_2 (m_5) і НР (m_6).

Таблиця 2

Параметри маси складових зразків сухого залишку, г

Процедура спалювання					
етап другий, $520\text{--}530 \text{ }^\circ\text{C}$			етап третій, $650 \text{ }^\circ\text{C}$		
маса пробірки	сума мас	маса СЗ	маса складових СЗ		
m_{02}	$m_{\text{сп}2^*}$	m_3	ОР_1	ОР_2	НР (зола)
12,3593	12,5823	0,2230	0,0652	0,0273	0,1305

Оцінювання гомеостазу маси складових. Специфічність оцінки особливостей дисбалансу рівноважного стану маси ОР і НР рідини амніона й алантоїса за шкодочинної дії ендогенних факторів полягає в тому, що визначену різницю показників аналізують із двох позицій. Схему аналізу ілюструють варіанти на *рис. 2*.

Результати першої позиції (*варіанти а, а*: амніон* → амніон і б, б*: алантоїс → алантоїс) розкривають особливості дисбалансу маси складових між контрольними та дослідними (*контроль:дослід*) групами корів; результати другої (*амніон* → алантоїс) – відмінності маси складових контрольних (*варіант в – контроль:контроль*) і дослідних (*варіант г – дослід:дослід*) зразків (*рис. 2*).

Дисбаланс частин маси складових. Наслідком тривалої шкодочинної дії продуктів запальних процесів на організм тільних корів є незначне збільшення у зразках рідини амніона тварин дослідної групи частин маси випаруваної H_2O (+0,0899 г) і легкозаймистих OP_1 (+0,003 г). Визначена різниця маси випаруваної H_2O зразками дослідної групи виявилася тільки на 0,94 % (або в 1,01 разу) більша від зразків контрольної (табл. 3а).



Рис. 2. Схема оцінювання особливостей гомеостазу маси складових зразків рідини і СЗ алантоїса й амніона

Варіанти а і б ілюструють рівень дисбалансу частин маси ($\pm\Delta$) складових (H_2O , ОР, НР) зразків алантоїса й амніона; а* і б* – рівень дисбалансу співвідношень відсотків маси (*Іст:1*) пар складових ($H_2O:НР$, $H_2O:OP_p$, $H_2O:OP_2$, $OP_2:НР$, $OP_1:НР$, $OP_1:OP_2$); в і г – відмінність рівнів відсотків маси пар складових контрольних (*контроль:контроль*) і дослідних (*дослід:дослід*) зразків

Однак шкодочинна дія ендогенних факторів на інтенсивність **асиміляції** поживних речовин організму корів дослідної групи значна. Вектор частин маси (Δm) деяких зразків СЗ рідини амніона корів контрольної групи ($m_5 \rightarrow m_4 \rightarrow m_6$) прямує від меншого до більшого значення (+0,0030 < +0,0194 < -0,1101 г). Зразки СЗ рідини амніона дослідної групи мають на 71 % (або в 1,7 разу) більше (+0,0194 г) легкозаймистих (OP_1) і лише на 5 % (або в 1,1 разу) більше – термостійких органічних речовин (OP_2); а термостійких НР – на 84 % (або в 6,4 разу) менше (-0,1101 г).

Зразки рідини алантоїса корів дослідної групи містять несуттєво меншу (-0,0332 г) масу H_2O . У зразках СЗ корів контрольної групи маса продуктів дисиміляції термостійких OP_2 (-0,0083 г) і НР (-0,045 г) відповідно в 1,2 і 1,3 разу менша, але легкозаймистих OP_1 (+0,0071 г) – несуттєво більша. За таких обставин різниця параметрів дисбалансу маси органічної та неорганічної складової між зразками алантоїса й амніона суттєва. Межа змін частин маси ОР і НР зразків СЗ рідини амніона становить від +1,0 до -6,4 разу; зразків алантоїса – лише від +1,1 до -1,3 разу.

Таблиця 3а

Показники маси складових рідини та сухого залишку, г

Група корів, показники (контроль:дослід)	Складові			
	випарувана вода (m_v)	легкозаймисті ОР ₁ (m_l)	термостійкі ОР ₂ (m_t)	термостійкі НР (m_n)
Варіант а: амніон → амніон (M, n=4)				
Контроль (амніон)	9,5121	0,0273	0,0652	0,1305
Дослід (амніон)	9,6020	0,0467	0,0682	0,0204
Різниця частин маси, ± Δm	+0,0899	+0,0194	+0,0030	-0,1101
Відсоток змін, ± %	+0,94	+71,06	+4,60	-84,37
Зміни в рази, ±	+1,01	+1,71	+1,05	-6,40
Варіант б: алантоїс → алантоїс (M, n=3)				
Контроль (алантоїс)	9,5136	0,0960	0,0534	0,2266
Дослід (алантоїс)	9,4804	0,1031	0,0451	0,1816
Різниця частин маси, ± Δm	-0,0332	+0,0071	-0,0083	-0,0450
Відсоток змін, ± %	-0,35	+7,40	-15,54	-19,86
Зміни в рази, ±	-1,00	+1,07	-1,18	-1,25

Дисбаланс співвідношень маси (контроль:дослід). Щоб спростити аналіз і виразно пояснити виявлені особливості дисбалансу маси складових, які відбуваються в системах типу «вода – речовина» за шкодочинної дії ендогенних факторів, абсолютні показники (z, m_z) перераховують у відносні (%). Цілими числами відсотків маси позначають індекс співвідношень пар складових рідини ($H_2O:NR, H_2O:OP_2, H_2O:OP_1$) та СЗ ($OP_2:NR, OP_1:NR, OP_1:OP_2$) того чи іншого об'єкта досліджень (контроль:дослід, табл. 3б).

Визначені параметри співвідношень відсотків маси між парами складових рідини амніона корів контрольної групи свідчать, що їхній вектор спрямовано від меншої до більшої ($73:1 \rightarrow 146:1 \rightarrow 349:1$) величини. Параметри дисбалансу маси зразків дослідної групи мають цілком інші показники, а саме: 469:1, 141:1, 349:1. Це вказує на те, що тривала шкодочинна дія продуктів запальних процесів статевих органів, змінюючи рівноважний стан маси складових системи типу «вода – речовина», корелює зі здатністю органічних і неорганічних речовин до зв'язування молекул H_2O . На одну вагову частину маси НР припадає в 6 разів (або на +84 %) більше частин маси H_2O . Однак визначені частини маси термостійких ОР₂ (-41 %) і легкозаймистих ОР₁ (-3 %) мають обернені величини, які відповідно в 1,7 і 1,0 разу менші.

Послідовне збільшення індексу співвідношень маси пар складових, яке визначено у зразках рідини амніона, не властиве зразкам рідини алантоїса (варіант б*). Якщо конфігурація ряду їхніх величин у зразках рідини алантоїса корів контрольної групи є такою ($42:1 < 178:1 > 99:1$), то дослідної – подібна і несуттєво змінена ($52:1 < 210:1 > 92:1$). Конфігурація ряду пар зразків порошку алантоїса також інша ($0,4:1 > 0,2:1 < 0,6:1$). Межа змін параметрів маси H_2O до маси термостійких НР та H_2O до легкозаймистих ОР₁ і термостійких ОР₂ зразків рідини становить ±1,1–1,2 разу; зразків порошку – ±1,5 разу. Це може означати, що визначений дисбаланс маси органічного й неорганічного складу речовин рідини оболонки алантоїса несуттєво впливає на їхню здатність до зв'язування H_2O .

Вектор індексу співвідношень пар складових ОР і НР зразків СЗ амніона корів контрольної групи також спрямовано від меншої до більшої ($0,2:1 \rightarrow 0,5:1 \rightarrow 2:1$) величини. Результатом шкодочинної дії продуктів запальних процесів статевих органів тварин дослідної групи є значно більший дисбаланс маси складових. Якщо за цих обставин індекс співвідношень пар ОР₁:ОР₂ і ОР₁:НР стає в 10 і 6 разів відповідно більшим, то ОР₂:НР – в 1,3 разу меншим. Це наводить на думку, що шкодочинна дія продуктів запальних процесів статевих органів гальмує інтенсивність обміну поживних легкозаймистих речовин групи

OP₁ і термостійких OP₂ щодо термостійких HP, але легкозаймистих OP₁ щодо термостійких OP₂ – прискорює.

Таблиця 3б

Дисбаланс співвідношень пар складових, Ісм:1

Група корів, показники	Пари складових					
	рідина			сухий залишок		
	H ₂ O:HP	H ₂ O:OP ₁	H ₂ O:OP ₂	OP ₂ :HP	OP ₁ :HP	OP ₁ :OP ₂
Варіант а*: амніон → амніон						
Контроль	73:1	146:1	349:1	0,2:1	0,5:1	2:1
Дослід	469:1	141:1	205:1	2:1	3:1	1,5:1
Різниця індексів, ±Δ	+396:1	-5:1	-144:1	+1,8:1	+2,5:1	-0,5:1
Відсоток змін, ±%	+84	-3	-41	+90	+83	-25
Зміни в рази, ±	+6,0	без змін	-1,7	+10,0	+6,0	-1,3
Варіант б*: алантоїс → алантоїс						
Контроль	42:1	178:1	99:1	0,4:1	0,2:1	0,6:1
Дослід	52:1	210:1	92:1	0,6:1	0,2:1	0,4:1
Різниця індексів, ±Δ	+10:1	+32:1	-7:1	+0,2:1		-0,2:1
Відсоток Δ змін, ±%	+19	+15	-7	+33	без змін	-33
Зміни в рази, ±	+1,2	+1,2	без змін	+1,5		-1,5

Відмінності співвідношень маси (контроль:контроль). Оскільки результатом тривалої шкодочинної дії продуктів запальних процесів статевих органів на гомеостаз H₂O, OP і HP є дисбаланс маси складових у системах типу «вода – речовина», то, зважаючи на це, визначену величину індексу співвідношень маси аналізують окремо у зразках амніона й алантоїса корів контрольної (табл. 3в) та дослідної (табл. 3г) груп.

Наведені параметри співвідношень маси (табл. 3в, 3г) свідчать, що відмінності індексів пар складових зразків рідини амніона й алантоїса контрольних і дослідних груп корів суттєві. За однакового порядку розміщення конфігурація пар складових (H₂O:HP → H₂O:OP₁ → H₂O:OP₂) зразків рідини амніона й алантоїса різна, а саме: амніона – 73:1 < 146:1 < 349:1; алантоїса – 42:1 < 178:1 > 99:1. До того ж пари складових амніона корів контрольної групи мають у 3,5 і 1,7 разу більшу величину співвідношень маси, ніж алантоїса, але пара H₂O:OP₁ – в 1,2 разу меншу.

Таблиця 3в

Відмінності індексу співвідношень пар складових контрольних груп, Ісм:1

Плодові оболонки, групи, показники	Рідина			Сухий залишок		
	H ₂ O:HP	H ₂ O:OP ₁	H ₂ O:OP ₂	OP ₂ :HP	OP ₁ :HP	OP ₁ :OP ₂
Амніон	73:1	146:1	349:1	0,2:1	0,5:1	2:1
Алантоїс	42:1	178:1	99:1	0,4:1	0,2:1	0,6:1
Різниця індексів, ±Δ	+31:1	-32:1	+250:1	-0,2:1	+0,3:1	+1,4:1
Відсоток Δ змін, ±%	+42	-18	+72	-50	+60	+70
Зміни в рази, ±	+1,7	-1,2	+3,5	-2,0	+2,5	+3,3

Виявлені відмінності властиві також парам складових (OP₂:HP → OP₁:HP → OP₁:OP₂) зразків СЗ. Конфігурація ряду їхніх величин у зразках рідини амніона (0,2:1 < 0,5:1 < 2:1) інша, ніж алантоїса (0,4:1 > 0,2:1 < 0,6:1). Подібна ситуація характерна також для речовин зразків СЗ. Визначені у зразках амніона індекси співвідношень маси складових пар OP₁:OP₂ і OP₁:HP у 3,3 і 2,5 разу більші, але пари OP₂:HP – у 2,0 разу менші, ніж алантоїса.

Відмінності співвідношень маси (дослід:дослід). Після тривалої шкодочинної дії (табл. 3г) відмінність співвідношень відсотків маси пар (H₂O:HP → H₂O:OP₁ → H₂O:OP₂) складових рідини амніона (469:1 > 141:1 < 205:1) й алантоїса (52:1 < 210:1 > 92:1) значно більша. Якщо після народження телят індекс співвідношень пар H₂O:HP і H₂O:OP₂ рідини

амніона в 9,0 і 2,2 разу відповідно більший, ніж рідини алантоїса, то пари $H_2O:OP_1$ – в 1,5 разу менший.

Таблиця 3г

Відмінності індексу співвідношень пар складових дослідних груп, Ісм:1

Плодові оболонки, показники	Рідина			Сухий залишок		
	$H_2O:HP$	$H_2O:OP_1$	$H_2O:OP_2$	$OP_2:HP$	$OP_1:HP$	$OP_1:OP_2$
Амніон	469:1	141:1	205:1	2:1	3:1	1,5:1
Алантоїс	52:1	210:1	92:1	0,6:1	0,2:1	0,4:1
Різниця індексів, $\pm\Delta$	+417:1	-69:1	+113:1	+1,4:1	+2,8:1	+1,1:1
Відсоток Δ змін, $\pm\%$	+89	-49	+55	+70	+93	+73
Зміни в рази, \pm	+9,0	-1,5	+2,2	+3,3	+15,0	+3,8

Цілоком іншу конфігурацію співвідношень маси мають ряди ($OP_2:HP \rightarrow OP_1:HP \rightarrow OP_1:OP_2$) зразків СЗ амніона ($2:1 < 3:1 > 1,5:1$) й алантоїса ($0,6:1 > 0,2:1 < 0,4:1$). Їхньою важливою відмінністю є наявність вузьких ($0,2-0,6:1$, або $< 1:1$) і широких ($0,5-3:1$, або від $< 1:1$ до $> 1:1$) меж. Якщо межі пар зразків СЗ амніона й алантоїса корів контрольної групи $OP_1:HP$ і $OP_2:HP$ становлять $0,2-0,5:1$, то зразків пари $OP_1:OP_2$ дослідної групи – $0,6-2:1$. До того ж різниця співвідношень відсотків маси пар ($OP_2:HP, OP_1:HP, OP_1:OP_2$) дослідних зразків СЗ амніона становить $70 \rightarrow 93 \rightarrow 73 \%$, що відповідно в $3 \rightarrow 15 \rightarrow 4$ рази більше від алантоїса.

Результати оцінки визначених частин маси пар складових систем типу «вода – речовина» за шкодочинної дії ендогенних факторів свідчать, що величина індексу співвідношень легкозаймистих OP_1 до термостійких OP_2 та легкозаймистих OP_1 до термостійких HP зразків СЗ амніона (*у 3,3*) й алантоїса (*у 2,5 рази*) корів контрольних груп майже однаково більша, але термостійких $OP_2:HP$ – у 2,0 рази менша. Після тривалої шкодочинної дії продуктів запальних процесів співвідношення частин маси складових стають іншими. Ширина межі між парами $OP_1:HP$ амніона й алантоїса корів дослідних груп у 3–15 разів більша. Межа пари $OP_2:HP$ змінюється від удвічі меншої до утричі більшої, а $OP_1:OP_2$ – від утричі до в 4 рази більшої.

Обчислені відмінності маси складових рідин амніона й алантоїса корів контрольних і дослідних груп свідчать, що маса термостійких OP_2 та HP зразків амніона контрольної групи зв'язує в 4–2 рази більше води, ніж рідина алантоїса, але легкозаймистих OP_1 – у 2 рази менше. Після шкодочинної дії продуктів запальних процесів здатність термостійких HP алантоїса до зв'язування молекул H_2O (*1,7 проти 9,0 рази*) зростає, термостійких OP_2 (*3,5 проти 2,2 рази*) – зменшується, легкозаймистих OP_1 (*1,2 проти 1,5 рази*) – майже не змінюється.

Реакція рівноважного стану маси OP і HP амніона й алантоїса на тривалу шкодочинну дію продуктів запальних процесів різна. Межа змін маси складових пари $OP_1:HP$ рідини амніона дуже широка і суттєво більша, ніж алантоїса; $OP_2:HP$ – трохи менша; $OP_1:OP_2$ – майже однаково більша.

Таким чином, тривала шкодочинна дія продуктів запальних процесів статевих органів на функціональний стан плацентарного бар'єру матки тільних корів змінює спосіб і величину переміщених у РПО амніона й алантоїса частин ($\pm\Delta$) маси H_2O , OP і HP , що негативно впливає на здатність хімічних і біохімічних сполук до зв'язування H_2O ; змінює інтенсивність процесів асиміляції поживних речовин і їхньої дисиміляції на прості сполуки.

Залежно від сили і способу шкодочинної дії вектор переміщення складових у системі типу «вода – речовина» спрямовано або в бік збільшення, або в бік зменшення параметрів їхньої маси.

Результатом перерозподілу складових у системах типу «вода – речовина» є дисбаланс гомеостазу їхньої маси, що негативно впливає на життєздатність, ріст і розвиток утвореного ембріона та новонародженого плода.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Відомості Верховної Ради України про захист тварин від жорстокого поводження № 3447-VI від 6.11.2023. ВВР. 2006. № 27. Ст. 230.
2. Калиновський Г. М., Євтух Л. Г., Шнайдер В. Л. та ін. Проникність плацентарного бар'єру для Кадмію (С) та Плюмбуму (Р) протягом тільності корів та під час жеребіння кобил // Наук. вісн. ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Сер. Вет. науки. 2019. Т. 21. № 93. С. 75–87. doi: 10.32718/nvlvet9314. <http://nvlvet.com.ua>.
3. Яблонський В. А., Хомин С. П., Калиновський Г. М. та ін. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології: підручник. Вінниця: Нова книга, 2006. 592 с.
4. Al-Salec J. Interaction between cadmium (Cd), Selenium (Se) and oxidative stress biomarkers in healthy mothers and its impact on birth anthropometric measures // Int. J. Hug. Environ. Health. 2015. Vol. 218. N 1. P. 66–90. doi: 10.1016/j.ijheh.2014.08.001.
5. Amin Y. A., Noseer E. A., El-Naga E. M. A. Changes in the fetal fluids' compositions during dystocia of dairy buffaloes // Adv. Anim. Vet. Sci. 2020. Vol. 8. N 7. P. 728–734. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.7.728.734>
6. Biasek M., Micolic A., Secovanik A. et al. Cadmium in placenta – a valuable biomarker exposure during pregnancy in biomedical research // Toxically. Environ. Health. 2014. Vol. 77. N 18. P. 1071–1074. doi: 10.1080/15287394.2014.915779.
7. Bigliardi E., Rizzi M., Bertocchi M. et al. Evaluation of biochemical composition of amniotic and allantoic fluids at different stages of pregnancy in queens. Animals: an Open Access Journ. from MDPI. 2022. Vol. 12. N 11. P. 1414. <https://doi.org/10.3390/ani12111414>
8. Directive of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific, 22.09. 2010/63/EU.
9. Chen Z., Myers R., Wei T. et al. Placental transfer and concentrations of cadmium, mercury, lead and selenium in mothers, newborns, and young children // J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol. 2014. Vol. 24. N 5. P. 537–544. doi: 10.1038/jes.2014.26.
10. Griffiths S. K., Campbell J. P. Placental structure, function and drug transfer // Continuing Education in Anesthesia Critical Care & Pain. 2015. Vol. 15. N 2. P. 84–89. doi: 10.1093/bjaceaccp/mku013.
11. Essawi W. M., Mostafa D. I. A., El Shorbagy A. I. A. Comparison between biochemical analysis of cattle amniotic fluid and maternal serum components during pregnancy // World Vet. J. 2020. Vol. 10. N 1. P. 67–73.
12. Fontes P. L. P., Oosthuizen N., Ciriaco F. M. et al. Impact of fetal vs. maternal contributions of *Bos indicus* and *Bos taurus* genetics on embryonic and fetal development // Anim. Sci. J. 2019. Vol. 97. N 4. P. 1645–1655.
13. Hanson M. L., Holaskova I., Elliott M. et al. Prenatal cadmium exposure alters postnatal immune cell development and function // Toxically Appl. Pharmacol. 2012. Vol. 261. N 2. P. 196–203. doi: 10.1016/j.taap.2012.04.002.
14. Kipper M., Hoque A. M. W., Raqib R. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with transport of micronutrients to the foetus // Toxically Lett. 2010. Vol. 192. N 2. P. 162–168. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.10.018.

15. *Lin C. M., Doyle P., Wang D.* Does prenatal cadmium exposure effect foetal and child growth? // *Occup. Environ. Med.* 2011. Vol. 68. N 9. P. 641–646. doi: 10.4172/2161-0509.1000204.
16. *McCarthy K. L., B Menezes A. C., Kassetas C. J.* et al. Vitamin and mineral supplementation and rate of gain in beef heifers II: Effects on concentration of trace minerals in maternal liver and fetal liver, muscle, allantoic, and amniotic fluids at day 83 of gestation // *Animals: an Open Access Journ. from MDPI.* 2022. Vol. 12. N 15. P. 1925.
17. *Sanders F. P., Claus Henn. B., Wrioth R. O.* Perinatal and childhood exposure to cadmium, manganese, and metal mixtures and effects on cognition and behaviour: a review of recent literature // *Current Environ. Health Rep.* 2015. Vol. 2. N 3. P. 284–294. doi: 10.1007/s40572-015-0058-8.
18. *Suliburska J., Kocylowski R., Komorowicz I.* et al. Concentrations of mineral in amniotic fluid and their relations to selected maternal and fetal parameters // *Biol. Trace Elem. Res.* 2016. Vol. 172. N 1. P. 37–45.

Стаття надійшла до редакції 01.03.24

доопрацьована 27.03.24

прийнята до друку 01.04.24

IMBALANCE OF MASS COMPONENTS IN THE SYSTEM OF «MEDIUM – SUBSTANCE» UNDER ENDOGENOUS FACTORS' HARMFUL EFFECTS

H. Maksymyuk¹, O. Stadnytska², M. Vorobets¹, G. Sedilo², V. Maksym`yuk²

*¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: hanna.maksymjuk@gmail.com*

*²Institute of Agricultural Sciences of Carpathian Region, NAAS
5, Hrushevskiyi St., V. Obroshyno, Lviv Region 81115, Ukraine
e-mail: stadnytskaolha@ukr.net*

The method developed and adapted by the authors of this work for determining and analysing the peculiarities of mass imbalance of water, organic and inorganic components in “medium (*water*)-substance” systems under the influence of harmful exo- and endogenous factors is proposed. The recommended method will help to objectively determine and assess the degree of harmful influence of individual factors on mass homeostasis. In addition, it will allow to characterization of the features of the relationship between the separately taken components of the substances in amniotic and allantois fluids.

The presence of long-term effects of inflammatory factors in the fetal membrane fluids of the amnion and allantois is reflected in the functional and placental barrier of the uterus in gestating cows. The direction of the displaced parts of the mass of water, organic and inorganic substances vary depending on the circumstances, either in the direction of increase or in the direction of decrease. It is quite possible that the unequal ability of organic and inorganic substances to bind water is associated with changes in the parameters of the mass of nutrients assimilated by the fetus in the amniotic fluid and accumulation of their breakdown products in the allantois fluid.

It has been established that long-term inflammatory processes in the genital organs of pregnant cows alter the manner and quantity of water, organic, and inorganic substances

mass parts transferred into the fluid of the fetal membranes of the amnion and allantois through the placental barrier of the uterus. This negatively affects the ability of chemical and biochemical compounds to bind water molecules and alters the intensity of nutrient assimilation processes, converting them into simpler compounds. The strength and method of harmful action determine whether components in the 'water-substance' system move towards an increase or decrease in their mass parameters. The consequence of this redistribution is an imbalance in mass homeostasis, negatively impacting the viability, growth, and development of the embryo and newborn fetus.

Keywords: system «medium – substance», mass of components

**MINING THE CRYPTIC SPECIALIZED METABOLOME
OF *STREPTOMYCES CYANOGENUS* S136**

**I. Ostash^{1,2}, M. Deneka¹, M. Lopatniuk³, T. Busche⁴, J. Kalinowski⁴,
A. Luzhetskyy³, V. Fedorenko¹, B. Ostash^{1,*}**

¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
*e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua

²Explogen LLC
20, Zelena St., Lviv 79005, Ukraine

³Department of Pharmacy, Saarland University
Campus C2.3, Saarbrücken 66123, Germany

⁴CeBiTec, Bielefeld University
25, Universitatstrasse, Bielefeld 33615, Germany

Streptomyces cyanogenus S136 is known to produce landomycin family antibiotics, particularly its largest congener, landomycin A. Except for landomycins and polyene lucensomycin, no other specialized metabolites were sourced from S136. Nevertheless, S136 genome sequencing revealed over 40 biosynthetic gene clusters (BGCs), implying underappreciated potential of this strain for the production of novel bioactive natural compounds. We set out to gain deeper insight into the specialized metabolome of this strain. First, transcriptomic analysis of S136 grown under landomycin production conditions has been carried out, revealing that most of them are expressed at a basal level. This, likely, leads to a phenotypic silence of most of the BGCs. Nevertheless, several notable exceptions have been spotted. First of all, landomycin BGC is expressed at high level (at least 100 Transcripts Per Million mapped reads (TPM)); and around 1000 TPM for minimal polyketide synthase genes *lanFABC*). Similarly, high levels of expression showed BGCs # 2, 4, 7 and 33, of which #2, encoding unknown saccharide, is the most dissimilar to the described precedents. RNAseq data also allowed us to delineate better the borders of several presumed BGCs. In the next phase of the work we singled out a few BGCs within S136 that appeared to be promising. First, these BGCs exhibited low similarity to the other gene clusters directing the production of known natural products. Second, the BGCs harbored cluster-situated regulatory genes that can be employed in the attempts to activate the expression of cryptic pathways. For one such BGC we constructed two plasmids for expression of several such regulatory genes and introduced them into S136 and its derivative deficient in production of landomycin A. Bioassays showed no differences in bioactivity of the recombinant strains as compared to the initial strains. Liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) analysis of several *S. cyanogenus* samples revealed the effects of genotype, growth conditions and extraction on specialized metabolome of this species, setting reference point for further studies.

Keywords: *Streptomyces cyanogenus* S136, genes, physiology, cryptic specialized metabolome

Streptomyces cyanogenus S136 was first described in 1990s as a producer of angucycline polyketides landomycins that exhibit potent antiproliferative properties [1]. No other natural products were known to be produced by S136 until recent report on identification of lucensomy-

cin through manipulation of global transcriptional factor AdpA [2]. However, the aforementioned two classes of small molecules (Fig. 1) are perhaps a tip of an iceberg of natural products encrypted in S136 genome reported to harbour at least 40 BGCs [3]. This situation is typical for streptomycetes, whose genome sequencing routinely uncovers 30-40 BGCs, most of which remain a “white spot” in terms of the structure of encoded small molecule. BGCs, not expressed under laboratory conditions commonly employed to grow streptomycetes, are referred in literature to as dormant, silent or cryptic ones [4], although exact reason for disparate levels of phenotypic expression of a BGCs are not always known.

We are interested in uncovering true potential of S136 for the production of specialized metabolites. On one hand, this may lead to identification of novel natural products desperately needed to combat various diseases, first of all infectious ones. On the other hand, by studying the genetic control of biosynthesis of natural products in S136, we may arrive at novel solutions for landomycin A overproduction (e.g. by elimination of competing metabolic pathways). We applied transcriptomic and metabolomic approaches to S136 to understand which specialized pathways are likely to be expressed concomitantly with landomycin A accumulation, and to lay the ground for further genetic manipulations of selected pathways. Our studies agree that insufficient level of BGC transcription is the key reason for its crypticity. For several cases in S136 genome RNAseq data provide opportunity to better solve the problem of precise mapping of BGC borders, an issue that currently plagues all BGC identification pipelines [4]. Two plasmids for expression of putative cluster-situated regulatory genes have been generated, laying the groundwork for studies of promising naphthomycin-type BGC.

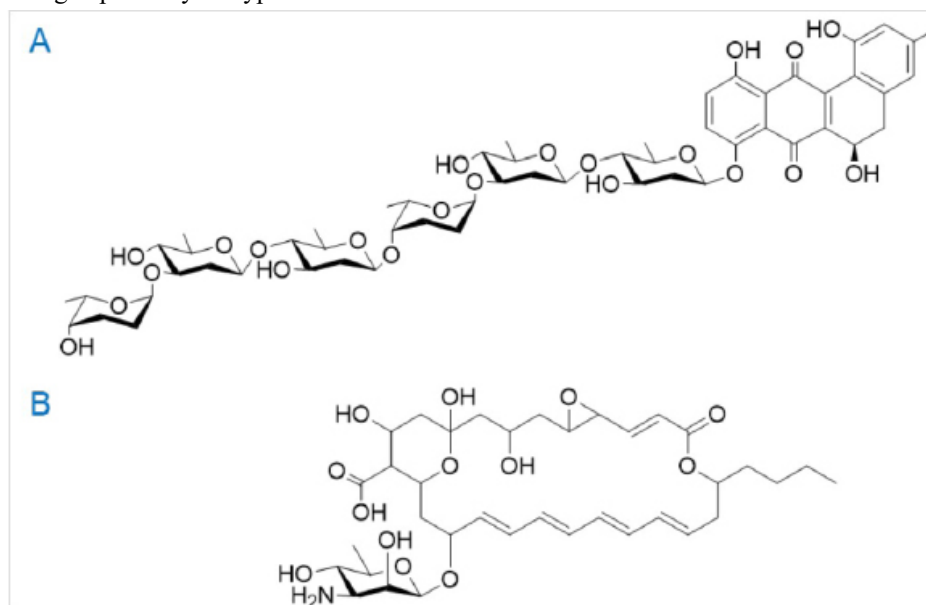


Fig. 1. Structural formulae of landomycin A (A) and lucensomycin (B), the only classes of natural products known to be accumulated by S136

Materials and Methods

Genomes and strains. *S. cyanogenus* S136 genome was accessed through NCBI (accession number CP071839). We used wild type S136 and its landomycin-deficient mutant Δ lanI7 [2] in experimental work, as described below. *E. coli* DH5 α was used in routine cloning while

ET12567 (pUZ8002) [2] was employed to transfer plasmids into *S. cyanogenus*. *Bacillus cereus* ATCC19637 and *Debaryomyces hansenii* VKM-Y9 were used as bioassay strains.

Media. Biomass for RNAseq experiments was grown at 30 °C for 48 hours in medium SG [5] without calcium carbonate, which interferes with mRNA isolation procedures. Solid media OM, TSA, SFM, GYM, R5, GA, SMMS, MM, NL5 [6] were used to grow *S. cyanogenus* strains for agar plug bioassays. Liquid media YMPG, SG were also used to grow recombinant *S. cyanogenus* strains for LC-MS analysis. LB, its solid version LA and tryptic soy agar (TSA) were used to grow *E. coli* strains. To select strains apramycin sulfate (50 mcg/mL) was used.

Methods. For RNAseq analysis mRNA was isolated and purified from frozen mycelial samples and then sequenced (Illumina) essentially as described in [7]. Gene transcription values were calculated as “transcripts per million of mapped reads” (TPM) using Geneious Prime software. Values given in the Table 1 represent averages out of three biological repeats; deviations constitute no more than 20 % of the mean value. Orthologs were identified as a reciprocal BLASTP hits (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) [8]. Routine recombinant DNA techniques (DNA isolation, PCR, other enzymatic DNA treatments) were used to construct plasmids. Conditions of LC-MS experiments are described in [2]. Bioassays were carried out as described in [6]. Raw RNAseq and LC-MS data are available from authors upon request.

Plasmid pTESypdB. Gene *ypdB* (S1361_33920) located on the left fringe of BGC #37 (putative naphthomycin BGC, see Table 1) was amplified with primers *ypdB_29_up* (AAATCTAGA CCGTCGTCGTCGATCTCGAC) and *ypdB_29_rp* (AAAGAATTCCACCGGTTCCGGTTCG CCATAC). The resulting 1.1-kb amplicon was digested with restriction endonucleases XbaI and EcoRI and cloned into respective sites of vector pTES [2], yielding plasmid pTESypdB where the cloned gene is located under control of strong constitutive promoter *ermEp**.

Plasmid pTESalkS. Gene *alkS* (S1361_33925) located near *ypdB* was amplified with primers *alkS_29_up* (AAATCTAGAGTCTTCCGAGCCAGGCCGTTTC) and *alkS_29_rp* (AAAGAATTCGGCATCCCTCAGGTTGGTAG). The resulting 1.5-kb amplicon was digested with restriction endonucleases XbaI and EcoRI and cloned into respective sites of vector pTES, yielding plasmid pTESalkS.

Results and Discussion

RNAseq data portray complex picture of transcription of BGCs across S136 genome under landomycin A production conditions. We were interested to find out which specialized metabolic pathways are expressed under conditions that support high level of landomycin A production. For this purpose, we grew wild type S136 strain for 48 h in medium SG favorable for landomycin A biosynthesis and subjected to RNAseq analysis. Here we mostly focused on transcriptional levels of BGC scattered across S136 chromosome. All relevant data are summarized in Table 1. As a reference we used numbered list of S136 BGCs published in [3]. We have to note here two caveats in analysis of RNAseq data described below. First, BGCs are usually multi-gene units that are not expressed uniformly; for the sake of clarity and brevity (and concealing, to some extent, a true pattern of highly heterogeneous gene expression) we focus therefore on two extreme values – minimal and maximal TPM ones that can be found across each BGC. Second, in some instances in Table 1, e.g. BGC # 6 and 16, we show TPM values for the core biosynthetic genes, which are not necessarily extreme ones in terms of expression, as the latter was for genes with hypothetical function. In this case we prefer to show TPM values for the genes directly relevant for the production of a small molecule.

TPM values of no less than 100 revealed for landomycin biosynthesis set a threshold level of how a BGC is to be expressed to yield a natural product (Table 1). Only a handful of BGC displayed this kind of expression level (#2, 4, 27 and 33; these entries in Table 1 are highlighted in grey). We suggest tentatively that these BGCs are most likely to be actively expressed in parallel to landomycin BGC, and their corresponding product could in principle be identified in the extracts.

Transcriptional activity of specialized metabolic BGCs within S136 genome

BGC	BGC edges, S1361 nnnnn	Type (size, kb)	TPM values, 48 h		Notes ¹
			Min.	Max.	
1	01085 → 01155	PKS I (42)	4 (PKS)	39	
2	01415 → 01435	Xenobiotic transformation? (6)	159	1168	Chlorohexane?
3	03240 → 03255	Melanin (4)	10	15	Tyrosinase-based
4	04560	PKS III (1)		875	Germicidin
5	04600 → 04665	Other + glycoside (24)	12	52	
	S1361_04950	NRPS TycC		20	
6	04955 → 05125	PKS I (91)	18 (PKS)	44 (Reg)	Chlorothricin
7	05240 → 05245	NRPS (36)	290	850	Acyldepsipeptide
8	06195 → 06205	PKS III (3)	9	18	Flaviolin
9	07145 → 07340	PKS I (46)	16 (PKS)	160	
10	10235 → 10250	Amino acid (3)	28	52	Ectoine
11	12040 → 12085	PKS II (9)	17 (KS)	42 (KS)	Curamycin
12	14265 → 14275	Terpene (4)	12	38	Caryolan?
13	14845 → 14850	Melanin (1)	7	21	Melanin
14	15220 → 15240	Hydroxamate, NRPS (6)	11	31	Desferrioxamine
15	18455 → 18670	RiPP? (47)	8	500	Linaridin?
16	20280 → 20335	NRPS (26)	15 (PKS)	479 (AT)	
17	20420 → 20455	Other, lincomycin (9)	21	111	
18	20930 → 20965	Peptide, RiPP (8)	15	26664*	Cold shock prot.
19	22435 → 22460	RiPP (6) + TcmN?	5	42	
20	25895 → 25900	Terpene (2)	16	20	Albaflavenone
21	28760 → 28785	Other (10; + LexA?)	22	109	
22	29070 → 29315	NRPS (67)	8 (PS)	163 (Reg)	
23	29325 → 29345	RiPP (5)	15	242	Lagmysin
24	29465 → 29500	Terpene (8)	8	15	Isorenieratene
25	29610 → 29645	Bacteriocin (9)	19	36	
26	29685 → 29780	NRPS (25)	19 (PS)	31	
27	29845 → 29995	PKS II (32)	128	5292	Landomycin A
28	30205 → 30255	Bacteriocin (10)	12	40	
29	30400	Terpene (2)		21	Geosmin
30	31160 → 31185	Siderophore (7), LucA	17	40	
31	31295 → 31320	Butyrolactone (6)	20	98	
32	31440 → 31475	Betalactone	11	33	
33	32700 → 32720	RiPP (4)	102	4599	Citrulassin
34	32725 → 32750	RiPP, lasso (9)	124	417	
35	33270 → 33330	Terpene (14)	28	103	Hopene
36	33530 → 33555	RiPP, lasso (5)	35	88	
37	33925 → 34055	PKS I (94)	10	27	Naphthomycin
38	34235 → 34320	PKS I (87)	12 (PKS)	33(PKS)	Lucensomycin
39	35330 → 35495	RiPP + NRPS (77)	8	38	
40	36990 → 37065	PKS I (25)	8	20 (PKS)	
41	37150 → 37285	Saccharide (30)	8	184 (GT)	
	<i>hrdB</i> (17215)	Highly expressed control		270	Sigma factor
	<i>rpoB</i> (23335)	Highly expressed control		342	RNAP
	<i>rpsL</i> (23355)	Highly expressed control		1980	S12 protein

Note: ¹The BGC is likely to direct the production of a small molecule identical or similar to the one mentioned in this entry. Grey background marks BGC that is actively expressed or has minimal TPM value over 100, an indicative of active expression (medium SG)

Of course, low TPM value cannot exclude that some of the BGCs are indeed expressed, and lead to compound accumulation. This especially is true for small BGCs often encoded by a single or a few genes (#4, 20, 29). For large BGCs, such as BGC #37 for presumed polyketide of naphthomycin family (94 kb, 26 genes) on the other hand, low TPM values (no more than 27) are most likely a sign of *de facto* transcriptional and phenotypic silence. Overall, we believe that most of the BGCs across S136 genome are not expressed under conditions that support high-titer production of landomycin A.

A few more findings from analysis of RNAseq data analysis are worth noting. In several cases we stumbled upon abrupt changes in gene transcription right on the edge of annotated BGC. For example, BGC #15 for putative ribosomally produced protein (RiPP) was originally annotated as BGC starting on the “left” side from gene *S1361_18430* [3]. The latter gene as well as two genes flanking *S1361_18430* displayed TPM values over 2000 and most likely belong to an operon encoding signal transduction system consisting from single histidine kinase, three apparently paralogous sensory transduction proteins and phosphate transport accessory protein. The rest of the genes from BGC #15 display significantly lower expression levels. We therefore suggest that *S1361_18430* and three downstream genes are not part of the BGC #15, and accordingly revised “left” edge of the latter (see Table 1). Next, we spotted a gene for nonribosomal peptide synthetase (NRPS) *S1361_04950* which was not included in any of the S136 BGCs [3]. This gene forms a separate entry in the Table 1, between BGCs #5 and #6, and most likely is part of the latter BGC; their expression level is within the same range. Then, annotation of BGC #6 would have to be changed from polyketide synthase (PKS) type I to hybrid NRPS-PKS. These examples demonstrate how functional genomic data can be used to better delineate the boundaries of BGCs within bacterial genomes [9].

Attempts to activate BGC #37. Out of several dozens of BGCs scattered over S136 genome we focused our further experimental efforts on BGC #37. According to antiSMASH predictions, this gene cluster directs the biosynthesis of naphthomycin family polyketide. Its overall expression level is low enough to assume that it is phenotypically silent (see Table 1). In the same time, one of the edges of the BGC harbors two genes for transcriptional factors, *S1361_33920* and *S1361_33925*, whose low transcription levels (18-20 TPM) might underlie the crypticity of BGC #37. As a first step to understand this BGC, we cloned the aforementioned genes individually into expression vector pTES and introduced the resulting plasmids (see Methods section) into wild type S136 and its landomycin-deficient mutant Δ lanI7. The initial and recombinant strains were cultivated on a number of solid media, such as GA, SG2, SFM, OM, TSA, SMMS, R5, GYM, MM and Czapek. Then agar plugs were cut off from 120-h-old lawns of the strains and tested against *B. cereus*, *E. coli* and *D. hansenii*. In no case did we detect the differences in the bioactivity of the initial and recombinant strains. Likewise, the tested strains did not differ in their morphology on agar plates, and their resistance to commonly used antibiotics was similar. It appears, at first sight, that our attempts to activate the production of specialized metabolite encoded by BGC #37 were largely unsuccessful. If true, it may be because we missed some important cluster-situated regulatory gene [10], or did not achieve a proper level of overexpression of the target genes. However, it might also be that the expression of BGC #37 was activated and led to a specialized metabolite that is not colored and/or has no activity against the test cultures that we used. Therefore, definitive conclusions will be drawn after rigorous analysis of the recombinant strains with the help of mass spectrometry methods.

Initial insights into specialized metabolism of S136 grown under landomycin A conditions. As a first step towards disentanglement of the complexity of specialized metabolism of S136, we grew the wild type and Δ lanI7 strain under various conditions of submerged fermenta-

tion, and the extracts subjected to liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS). The most notable results are summarized below. In liquid medium YMPG supporting both landomycin and lucensomycin production [2], S136 accumulated a number of unknown compounds as well as some landomycins. Intriguingly, knockout of cluster-situated regulatory gene *lanI* abrogated the production of not only landomycins, but also the other metabolites (Fig. 2), suggesting its cross-regulatory role.

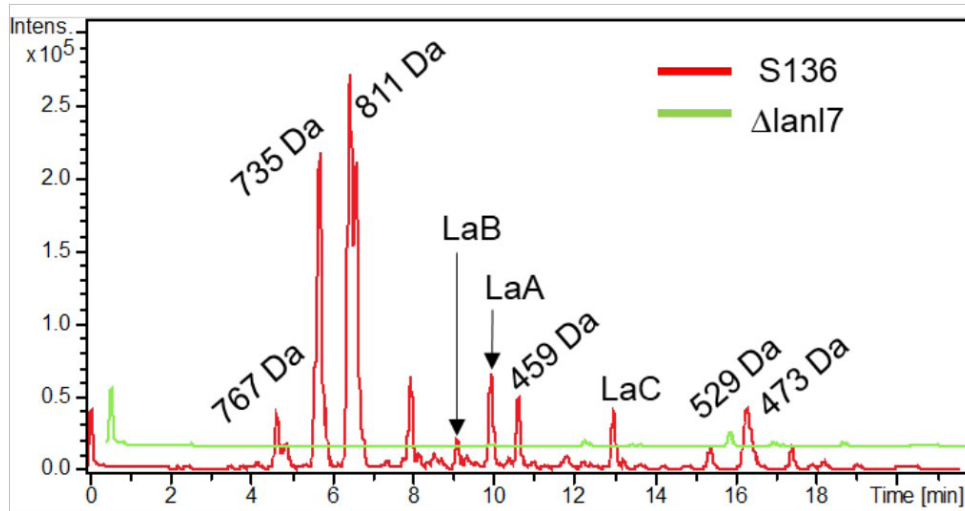


Fig. 2. Overlaid MS traces of ethyl acetate extracts of S136 and $\Delta lanI7$ grown in YMPG for 48 h. Landomycins are marked as LaA, LaB, LaC. The other unknown mass peaks are denoted by the masses (Da) of their anions. Note almost flat trace line (green) for $\Delta lanI7$ strain. Equal amounts of the biomass were used for analysis

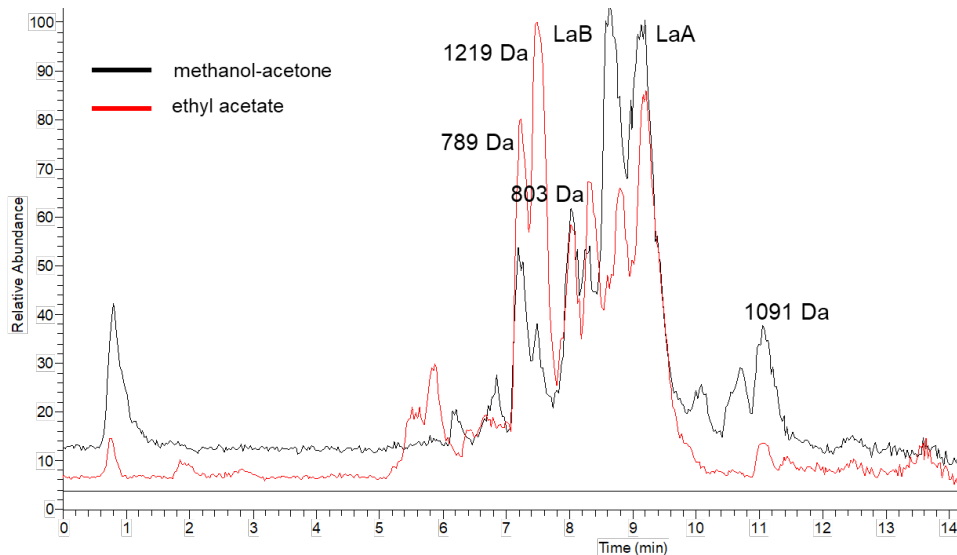


Fig. 3. Overlaid MS traces of ethyl acetate and methanol-acetone (1:1) extracts of S136 grown in SG for 48 h. Landomycins are marked as LaA, LaB. The other unknown mass peaks are denoted by the masses (Da) of their anions

We also prepared methanol-acetone (1:1) and ethyl acetate extracts from the 48-h-old cultures grown in optimal landomycin production medium SG. Choice of the organic solvent had pronounced effect on the spectrum of extracted metabolites, as evident from Fig. 3. Again we detected a number of unknown mass peaks that deserve further in-depth elucidation.

In this work we provide first evidence of disparate patterns of expression of different BGCs found in *S. cyanogenus* S136 genome under conditions conducive of landomycin production. Using landomycin BGC as a reference case of actively expressed pathway, we suggest the threshold transcription levels that define cryptic BGC in this strain, and, most likely, the other streptomycetes. We demonstrate, through LC-MS approach, that several media used to produce landomycins also support the production of a number of unknown compounds, whose identity awaits further experimental scrutiny. It appears therefore that *S. cyanogenus* S136 is a promising source of novel bioactive natural products.

Acknowledgements. B. O. thanks for grant support of the Ministry of Education and Science of Ukraine (BG-21F).

REFERENCES

1. Ostash B., Korynevska A., Stoika R., Fedorenko V. Chemistry and biology of landomycins, an expanding family of polyketide natural products // *Mini Rev. Med. Chem.* 2009. Vol. 9. P. 1040–1051. doi: 10.2174/138955709788922593.
2. Yushchuk O., Ostash I., Mösker E. et al. Eliciting the silent lucensomycin biosynthetic pathway in *Streptomyces cyanogenus* S136 via manipulation of the global regulatory gene *adpA* // *Sci Rep.* 2021. Vol. 11. P. 3507. doi: 10.1038/s41598-021-82934-6.
3. Hrab P., Rückert C., Busche T. et al. Complete genome sequence of *Streptomyces cyanogenus* S136, producer of anticancer angucycline landomycin A // *3 Biotech.* 2021. Vol. 11. P. 282. doi: 10.1007/s13205-021-02834-4.
4. Hemmerling F., Piel J. Strategies to access biosynthetic novelty in bacterial genomes for drug discovery // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022. Vol. 21. P. 359–378. doi: 10.1038/s41573-022-00414-6.
5. Rebets Y., Ostash B., Luzhetskyy A. et al. Production of landomycins in *Streptomyces globisporus* 1912 and *S. cyanogenus* S136 is regulated by genes encoding putative transcriptional activators // *FEMS Microbiol. Lett.* 2003. Vol. 16. P. 149–153. doi: 10.1016/S0378-1097(03)00258-1.
6. Koshla O., Lopatniuk M., Rokytskyy I. et al. Properties of *Streptomyces albus* J1074 mutant deficient in tRNA^{Leu}_{UAA} gene *bldA*. *Arch. Microbiol.* 2017. Vol. 199. P. 1175–1183. doi: 10.1007/s00203-017-1389-7.
7. Koshla O., Rokytskyy I., Ostash I. et al. Secondary metabolome and transcriptome of *Streptomyces albus* J1074 in liquid medium SG2 // *Cyt. Genet.* 2019. Vol. 53. P. 1–7. doi: 10.3103/S0095452719010080.
8. Kuzniar A., van Ham R., Pongor S. et al. 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.
9. Blin K., Shaw S., Kloosterman A. et al. antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities // *Nucleic Acids Res.* 2021. Vol. 49. P. 29–35. doi: 10.1093/nar/gkab335.
10. Liu G, Chater KF, Chandra G, Niu G, Tan H. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in streptomycetes // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2013. Vol. 77. P. 112–143. doi: 10.1128/MMBR.00054-12.

ДОСЛІДЖЕННЯ КРИПТИЧНОГО СПЕЦІАЛІЗОВАНОГО МЕТАБОЛОМУ *STREPTOMYCES CYANOGENUS* S136

І. Осташ^{1,2}, М. Денека¹, М. Лопатнюк², Т. Буше³, Й. Каліновскі³,
А. Лужецький², В. Федоренко¹, Б. Осташ^{1,*}

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

*e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua

²ТОВ «Експлоджен»

вул. Зелена, 20, Львів 79005, Україна

³Університет Саарланду

Кампус С2.3, Саарбрюкен 66123, Німеччина

⁴СеВіТес, Університет Білефельда

25, Університетштрассе, Білефельд 33615, Німеччина

Штам *Streptomyces cyanogenus* S136 відомий як продуцент ландоміцинової речовини антибіотиків, серед яких найбільше синтезується ландоміцин А. За винятком ландоміцинів і люоцензоміцину, зі штаму S136 не виділено жодних інших спеціалізованих метаболітів. Однак геном S136 містить понад 40 генних кластерів біосинтезу (ГКБ) спеціалізованих метаболітів, що робить цей штам недооціненим потенційним продуцентом нових біоактивних природних сполук. Ми вирішили глибше дослідити спеціалізований метаболом цього штаму. Ми проаналізували дані транскриптому штаму S136 за умов продукції ландоміцину та виявили, що більшість ГКБ транскрибується на базальному рівні. Це призводить до фенотипової криптичності більшості ГКБ, виявлених у геномі штаму S136. Втім, є кілька винятків. Кластер генів біосинтезу ландоміцинів експресується на високому рівні (100 транскриптів на мільйон картованих рідів (Transcripts Per Million mapped reads (TPM)) і близько тисячі TPM для генів мінімальної полікетидсинтази *lanFABC*. Подібний рівень експресії спостерігали у ГКБ № 2, 4, 7 і 33, з яких кластер генів № 2 кодує біосинтез невідомого сахариду, який відрізняється від усіх описаних на сьогодні. Дані РНК-секвенування дали можливість чіткіше окреслити межі передбачуваних ГКБ. На наступному етапі цієї роботи ми виокремили кілька цікавих для дослідження ГКБ у геномі S136. Ці кластери містять гени, які мають низьку подібність до відомих генів і, ймовірно, кодують синтез ще невідомих природних сполук. Також у цих кластерах розташовані регуляторні гени, які можна використати для активації криптичних кластерів. Нами сконструйовано плазміди для надекспресії кількох таких регуляторних генів і введено у штам S136 та у мутантний штам, який не здатен продукувати ландоміцини. Проте біотести не показали жодної відмінності між рекомбінантними штамми з плазмідами та вихідними штамми. Втім, аналіз кількох штамів *S. cyanogenus* за допомогою рідинної хроматографії, спряженої з мас-спектроскопією, вказує на вплив генотипу, умов культивування та екстракції на дані метаболому цих штамів. Дані метаболому штамів *S. cyanogenus* є референтними для подальших досліджень цього виду.

Ключові слова: *Streptomyces cyanogenus* S136, гени, фізіологія, криптичний спеціалізований метаболом

COMPARATIVE *IN SILICO* ANALYSIS OF TRANSPORTERS CODED WITHIN BIOSYNTHETIC GENES CLUSTERS FOR RAMOPLANIN AND RELATED ANTIBIOTICS

K. Zhukrovska, V. Fedorenko*

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

Glycopeptide antibiotics (GPAs), like teicoplanin and vancomycin, have been the first-line treatment for infections caused by Gram-positive multidrug-resistant pathogens. GPAs appear to be related to ramoplanin-like lipodepsipeptides (LDPs), yet another significant class of lipid II binders. Major compounds among LDPs are ramoplanin (the key representative), enduracidin, and chersinamycin; each with known biosynthetic gene clusters (BGCs). Five additional BGCs for the putative LDPs were recently described. LDP BGCs are poorly investigated; one particular aspect that deserves further investigation is transporters coded within BGCs. These proteins most likely take part in the export of antibiotics out of the cell, as well as in the producer's resistance to its own secondary metabolite. In this work, we performed *in silico* analysis of genes encoding transporters from ramoplanin and other LDP BGCs. We investigated the domain architecture of these transporters, discovered their homologues in BGCs from MIBiG and beyond, generated models of secondary and tertiary structures, and compared the overall LDP BGCs transport genes blueprint. We were able to identify previously uncharacterized gene encoding ABC transporter within ramoplanin BGC – *ramo3*. *Ramo1* and *Ramo3* in ramoplanin BGC appear to be paralogues coding for a permease subunit of the ABC transporter. In every other LDP BGCs, except for chersinamycin BGC, we found only one corresponding homologue encoding this type of protein. Similarly, we found that *Ramo2* and *Ramo23* are also homologous proteins, which appear to be ATP-binding subunits of the ABC transporter; *Ramo2* and *Ramo23* have only one homologue in each other LDP BGCs. Next, we were able to describe *Ramo8* as ATP-binding ABC transporter, containing both ATPase and transmembrane parts, similar to those encoded in GPA BGCs. For *Ramo8*, we modelled 3D structure as well as quaternary structure for homodimer of this protein. Finally, our *in silico* analysis revealed *Ramo31* to be a proton membrane antiporter, having distant homologue only in chersinamycin BGC; most likely *Ramo31* is not connected to ramoplanin biosynthesis.

Keywords: biosynthetic gene clusters, ramoplanin, membrane transport proteins, secondary metabolites, soil microorganisms

The fast rise of bacteria resistant to existing antibiotics outpaces the present pipeline of new drugs, creating a severe danger to our ability to treat infections successfully. In fact, the antibiotic pipeline is unequipped to deal with the growing bacterial resistance of current antimicrobials. For a long time, glycopeptide antibiotics (GPA), teicoplanin and vancomycin particularly, have represented the frontline treatment of infections caused by Gram-positive multidrug-resistant (MDR) pathogens. The potent action of GPA antibiotics against Gram-positive bacteria depends on their remarkable ability to disrupt cell wall biosynthesis by specifically binding to the D-Ala-D-Ala motif of lipid II [34]. However, teicoplanin and vancomycin-resistant strains of staphylococci and enterococci have continued to emerge in the last decades [30].

Another promising class of antimicrobials are lipodepsipeptides (LDPs), exemplified with ramoplanin. The latter is produced by a soil-dwelling «rare» actinobacterium *Actinoplanes ramo-*

planinifer ATCC 33076. Mode of action of this antibiotic is considered promising for the treatment of infections caused by Gram-positive MDR pathogens. Ramoplanin inhibits cell wall biosynthesis by binding to the lipid II and consequential inhibition of transglycosylation reactions [31]. The clinical development of ramoplanin was initially hampered due to its low local tolerability when injected intravenously. More recently, this LDP has been evaluated to treat *Clostridioides difficile* infections since ramoplanin is not-absorbable and achieves high colonic concentrations [25].

Today, except for ramoplanin, chemical structures for only two ramoplanin-like LDPs are known: enduracidin, which is produced by *Streptomyces fungicidicus* ATCC 21013 [8], and the recently discovered chersinamycin, produced by *Micromonospora chersina* DSM 44151 [23]. In addition, five more biosynthetic gene clusters (BGCs) of potential LDPs have recently been described *in silico* [23]. Despite antimicrobial potential of LDPs, corresponding BGCs remain poorly explored. To date, few aspects of ramoplanin and enduracidin biosynthesis, such as non-ribosomal synthesis of aglycone [10], mannosylation [4], halogenation [15], pathway-specific regulation [5] (only for enduracidin), and some others, have already been studied experimentally. However, the mechanisms that can potentially ensure the producer's resistance to its own secondary metabolite have escaped comprehensive elucidation.

Although extracellular lipid II is the most probable target of LDPs, evidence exists that LDPs can also bind lipid I, inhibiting intracellular lipid II biosynthesis [31]. Hence, intracellular accumulation of LDPs might be an issue for the producing culture. Transmembrane transporters encoded within LDP BGCs might contribute to the self-resistance of LDP producers. Some transport proteins have been associated with bacterial self-resistance to synthesized product, such as DrrA and DrrB in daunorubicin and doxorubicin producer *Streptomyces peucetius* ATCC 27952 [13]. DrrA and DrrB interact to generate an ATP-dependent efflux pump that transports daunorubicin and doxorubicin out of the cell, thereby conferring resistance [13]. With overexpression of *arrA* and *arrB*, doxorubicin synthesis was increased by a factor of 2,2 [18].

Recently, the features of the distribution, structure and phylogeny of ABC transporters in GPA and related peptide antibiotics BGCs were investigated [35]. Notably, these transporters share similarities in their amino acid composition, and categorization as MdlB(MsbA)-like, characterized by a six-helix N-terminal transmembrane domain [35]. Despite their widespread presence, experimental investigations into these transporters have primarily focused on *tba* gene from the BGC of balhimycin in *Amycolatopsis balhimycina* DSM 5908. This protein likely functions as a homodimer, and the knockout of the corresponding gene leads to an increased intracellular and decreased extracellular concentration of balhimycin [21].

The ramoplanin BGC was first described in 2005 [24], and after studies of mannosylation and halogenation of ramoplanin aglycone in 2016 [16, 17], no *in silico* or *in vitro* studies of the functions of the genes responsible for the synthesis of this antibiotic has been performed. Modern bioinformatics analysis benefits from a broad and constantly growing toolbox of data analysis resources and algorithmic approaches. Therefore, the purpose of this work was to investigate the properties of genes and encoded transport proteins in ramoplanin and related LDP BGCs using contemporary *in silico* methods. Such an evaluation can reveal new peculiarities of transporters encoded in ramoplanin and related LDP BGCs. Also, in this work, we offer the detailed description of all genes that code for transport proteins in the ramoplanin BGC, a comparison of the domain structures of their products, and distribution among other LDP BGCs.

Methods

BGC analysis. For nucleotide and amino acid sequence analysis, the nucleotide sequence of ramoplanin BGC (DD002243) [24] was used. All other LDP BGCs were obtained from genome sequences deposited in GenBank or the MIBiG repository under accession numbers:

VFOE01000001 (*Streptomyces* sp. SLBN-134 Ga0314649_11), BGC0000341 (*S. fungicidicus* ATCC 21013), NZ_KB913037 (*Amycolatopsis balhimycina* FH 1894), CP016174 (*Amycolatopsis orientalis* B-37), LT629775 (*Streptomyces* sp. TLI_053), NZ_FMIB01000002 (*M. chersina* DSM 44151). Analysis of BGCs was carried out using the AntiSMASH 6.0.1 [1] and Geneious 4.8.5 [14] software.

Search for homologous proteins. A search for homologues of all genes encoding transport proteins of the ramoplanin BGC was conducted using the MIBiG repository [20] and the Protein BLAST [27]. The search for homologous proteins encoded in known LDP BGCs was performed using the built-in algorithm in the Geneious 4.8.5 software.

Predicting the domain organization of exporter proteins and modeling their location in the cell membrane. The presence of conservative domains was determined using CD-search algorithm from NCBI [17]. The transmembrane α -helices within the amino acid sequences of ABC transporters were identified using the TMHMM 2.0 software [16]. Subsequently, the two-dimensional topology of these transporters relative to the cytoplasmic membrane was reconstructed using TMRPres2D [29].

Modeling of the tertiary and quaternary structure of the ABC transporter Ramo8. The tertiary structure of Ramo8 was modeled based on of the experimentally determined crystal structure of the ABC transporter 9ACTN from *Streptomyces* sp SLBN-134 using the Swiss-mode server [32]. To model the quaternary structure – the Ramo8 homodimer – AlphaFold2-based prediction and visualization of secondary and 3D structures of proteins were used [26–28]. The best model according to AlphaFold2, was visualized using Mol* Viewer [28].

Results and Discussion

We began by *in silico* searching for genes encoding transport proteins in ramoplanin BGC. In addition to the previously identified *in silico* putative transport protein genes – *ramo1*, *ramo2*, *ramo8*, *ramo23*, and *ramo31* [6, 7, 17] – we discovered one more gene with a similar function in ramoplanin BGC, namely, *ramo3*. The literature lacks detailed functional characterization of these genes; however, given the domain structure of their products and similarity to ABC transporters, it is likely that they play a role in ramoplanin export. With these prerequisites, we will further describe the above-mentioned probable transporter genes, the domain structures of their encoded proteins, the homologous proteins found in MIBiG and using BLAST search, and, in particular, homologues found in other LDP BGCs using Geneious 4.8.5. This information, along with amino acid sequence identity (a.s.i.) to transporter proteins from ramoplanin BGC, is summarized in Table 1 and Table 2.

The *ramo1* gene is 1002 bp long (the product is 333 aa). The protein encoded by this gene contains the ABC-2 transporter permease domain (75-198 aa, Fig. 1). The most similar described protein in the MIBiG database is the transmembrane transport protein from the BGC of dynemicin in *M. chersina* (64 % a.s.i., 331 aa), and the closest homologue we found using the BLAST algorithm is the permease subunit of the ABC transporter in *S. vitiensis* (WP_018215178, 81 % a.s.i., 336 aa). According to the AntiSMASH analysis of *S. vitiensis* genome sequence (GenBank NZ_KB900388), no secondary metabolite BGCs are detected in this region (Table 2).

We found six similar gene products in the BGCs of LDP: TQL19422 (50,3 % a.s.i.) from *Streptomyces* sp. SLBN-134 Ga0314649_11, ABD65951 (50,0 % a.s.i.) from *S. fungicidicus* ATCC 21013, ctg1_5219 (48,8 % a.s.i.) from *Am. balhimycina* FH 1894, WP_037306103 (48,2 % a.s.i.) from *Am. orientalis* DSM 40040/KCTC 9412, ANN17109 (47,6 % a.s.i.) from *Am. orientalis* B-37, and SDT44233 (43,5 % a.s.i.) from *Streptomyces* sp. TLI_053. It is worth noting that no such protein was discovered in chersinamycin BGC (Table 1).

Table 1

Homologues of ramoplanin BGC transporter proteins encoded in other LDP BGCs

Organism with LDP BGC	Ramo1 (Permease subunit of the ABC2-family transporter)	Ramo2 (ATP-binding subunit of the ABC transporter)	Ramo3 (Permease subunit of the ABC2-family transporter)	Ramo8 (An ATP-binding ABC transporter protein containing both ATPase and transmembrane parts)	Ramo23 (ATP-binding subunit of the ABC transporter)	Ramo31 (Proton membrane antiporter)
<i>A. ramoplaninifer</i>	Ramo3	Ramo23	Ramo1		Ramo2	
ATCC 33076	(54,0% a.s.i.)	(59,9% a.s.i.)	(54,0% a.s.i.)	Not found	(59,9% a.s.i.)	Not found
<i>M. chersina</i> DSM 44151	Not found	WP_091305522 (73,8% a.s.i.)	Not found	WP_091321314 (77,3% a.s.i.)	WP_091305522 (61,1% a.s.i.)	WP_091305532 (34,8% a.s.i.)
<i>S. fungicidicus</i> ATCC 21013	ABD65951 (50,0% a.s.i.)	ABD65952 (71,3% a.s.i.)	ABD65951 (56,0% a.s.i.)	ABD65953 (72,5% a.s.i.)	ABD65952 (55,6% a.s.i.)	Not found
<i>Streptomyces</i> sp. SLBN-134	TQL19422 (50,3% a.s.i.)	TQL19421 (71,0% a.s.i.)	TQL19422 (56,3% a.s.i.)	TQL19420 (72,5% a.s.i.)	TQL19421 (55,6% a.s.i.)	Not found
Ga0314649_11	a.s.i.)	a.s.i.)	a.s.i.)	a.s.i.)	a.s.i.)	Not found
<i>Streptomyces</i> sp. TLI_053	SDT44233 (43,5% a.s.i.)	SDT44257 (67,1% a.s.i.)	SDT44233 (44,0% a.s.i.)	SDT44201 (63,3% a.s.i.)	SDT44257 (54,6% a.s.i.)	Not found
<i>Am. balhimycina</i> FH 1894	ctgl_5219 (48,8% a.s.i.)	ctgl_5220 (71,4% a.s.i.)	ctgl_5219 (58,2% a.s.i.)	ctgl_5221 (74,4% a.s.i.)	ctgl_5220 (55,3% a.s.i.)	Not found
<i>Am. orientalis</i> DSM 40040/ KCTC 9412	WP_037306103 (48,2% a.s.i.)	WP_051173842 (71,3% a.s.i.)	WP_037306103 (58,3% a.s.i.)	WP_037306101 (73,7% a.s.i.)	WP_051173842 (54,8% a.s.i.)	Not found
<i>Am. orientalis</i> B-37	ANN17109 (47,6% a.s.i.)	ANN17110 (71,0% a.s.i.)	ANN17109 (57,7% a.s.i.)	ANN21821 (73,7% a.s.i.)	ANN17110 (54,4% a.s.i.)	Not found

Table 2

Homologues of ramoplanin BGC transporter proteins found
in MIBiG repository and using the BLAST search

Protein encoded in ramoplanin BGC	Homologue from MIBiG	MIBiG BGC, organism	Homologue found using BLAST	GenBank accession number, organism
Ramo1	ACB47084 (64% a.s.i.)	dynemicin, BGC0001060, <i>M. chersina</i>	WP_018215178 (81% a.s.i.)	NZ_KB900388, <i>Salinispora vitiensis</i>
Ramo2	ACB47083 (77% a.s.i.)	dynemicin, BGC0001060, <i>M. chersina</i>	WP_018215179 (89% a.s.i.)	NZ_KB900388, <i>S. vitiensis</i>
Ramo3	ACB47082 (71% a.s.i.)	dynemicin, BGC0001060, <i>M. chersina</i>	WP_223874070 (83% a.s.i.)	NZ_KB900388, <i>S. vitiensis</i>
Ramo8	ABD65953 (72,5% a.s.i.)	enduracidin, BGC0000341, <i>S. fungicidicus</i>	WP_107078706 (78% a.s.i.)	NZ_MUYZ00000000, <i>Micromonospora</i> sp. MH33
Ramo23	ACB47083 (59% a.s.i.)	dynemicin, BGC0001060, <i>M. chersina</i> tiacumicin B, BGC0000165,	WP_254341048 (60% a.s.i.)	NZ_JANAVK000000000, <i>Micromonospora</i> sp. A3M-1-15
Ramo31	ADU86006 (82% a.s.i.)	<i>Dactylosporangium aurantiacum</i> subsp. <i>hamdenensis</i>	WP_203777073 (81% a.s.i.)	NZ_BOMI01000186, <i>Actinoplanes deccanensis</i>

Proteins of this type are typically one of the components of transport complexes of the ABC-2 type, which facilitate ATP-mediated transport of one or more diverse substrates. Well-known examples of such proteins include CcmB, responsible for transporting haeme in *Escherichia coli* and *Mycobacterium tuberculosis*, or DrrB in the doxorubicin producer *S. peucetius* [3].

Based on previous reports, *ramo2* is predicted to code for an ATP-binding subunit of the ABC transporter complex [10]. The 915 bp coding sequence of this gene translates into a 304 aa polypeptide. In the MIBiG database, the most similar protein is also from the BGC of dynemicin, namely ACB47083 (77 % a.s.i., 305 aa). According to BLAST results, a similar protein is present in the genome of *S. vitiensis* (WP_018215179, 89 % a.s.i., 304 aa). The gene encoding this protein in *S. vitiensis* genome is located alongside the gene encoding Ramo1 homologue and is also not a part of any secondary metabolite BGC. Homologues are present in all LDP BGCs (Table 1).

The ATP-binding subunit of the ABC transporter protein has no transmembrane regions and operates by a mechanism that enables movement across membranes of almost any type of molecule, from large polypeptides to small ions. It can use a large number of other proteins as mediators [9]. Thus, a particular ABC-ATPase evolved specifically to function in complex with its cognate membrane protein. Together, they form a transport pathway necessary for the transport of a specific type of molecule, or in the case of some ABC transporters, multiple types of molecules. Specific transport molecules possess recognition motifs that allow them to bind selectively to their cognate transporters. Binding triggers conformational changes in the transporter, activating the ATPase activity and initiating the appropriate transport pathway for the bound substrate [11]. Ramo2 is most likely an ABC-ATPase capable of establishing one transport mechanism with a membrane transport protein; however, the precise function of such a protein in ramoplanin biosynthesis remains unknown.

We discovered a previously unidentified gene encoding an ABC transporter within ramoplanin BGC – *ramo3*. The nucleotide sequence of *ramo3* (1011 bp) codes for a protein with 54 % a.s.i. to Ramo1. Accordingly, the products of these genes both have six transmembrane α -helices and the ABC-2 transporter permease domain (Fig. 1, the ABC-2 domain is marked in green).

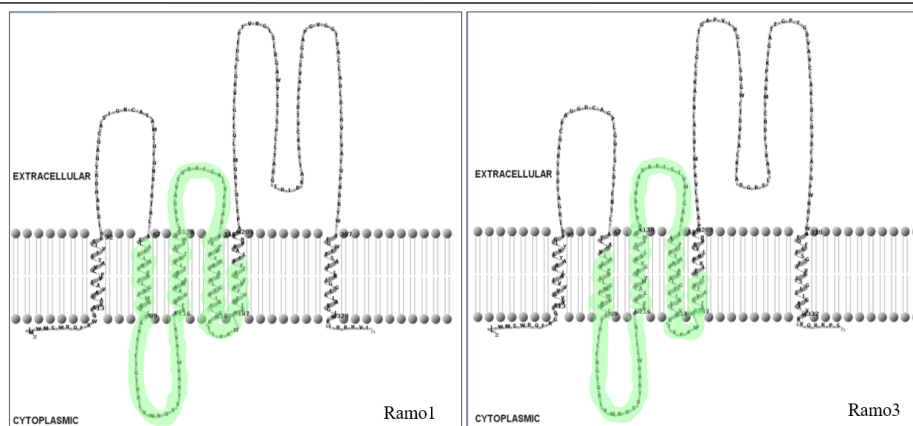


Fig. 1. Secondary structure of ABC transporters Ramo1 (336 aa) and Ramo3 (321 aa). Prediction of transmembrane α -helices and placement of proteins in the cell membrane was carried out as described in Methods section. The ABC-2 domain of Ramo1 (75-198 aa) and Ramo3 (70-201 aa) is marked in green

As summarized in Table 2, the closest hit in the MIBiG database is the protein from the dynemicin BGC ACB47082 (71 % a.s.i., 339 aa). The closest homologue found using the BLAST algorithm is the protein WP_223874070 in *S. vitiensis* (83 % a.s.i., 336 aa), located not in secondary metabolite BGC. Analyzing Table 1, we can conclude that except for chersinamycin, all the other LDP BGCs contain only one homologue to both Ramo1 and Ramo3. Six similar gene products in the BGCs of LDP with a.s.i. percentage are listed: WP_037306103 (58,3 % a.s.i.) from *Am. orientalis* DSM 40040/KCTC 9412, ctg1_5219 (58,2 % a.s.i.) from *Am. balhimycina* FH 1894, ANN17109 (57,7 % a.s.i.) from *Am. orientalis* B-37, TQL19422 (56,3 % a.s.i.) from *Streptomyces* sp. SLBN-134 Ga0314649_11, ABD65951 (56,0 % a.s.i.) from *S. fungicidicus* ATCC 21013, and SDT44233 (44,0 % a.s.i.) from *Streptomyces* sp. TLI_053.

The *ramo8* gene (1923 bp long) codes for the most similar protein to the typical ABC transporters present in GPA BGCs. This gene product contains the MdB (MsbA) superfamily domain, characterizing this protein as an ATP-binding ABC transporter containing both ATPase and transmembrane parts. The presence of this domain characterizes this protein as a probable component of the antibiotic transport system [35]. Genes encoding exporter proteins with the described structure are present in all sequenced glycopeptide BGC [6].

As seen in Table 2, in the MIBiG database, the greatest similarity of Ramo8 was found with the ABC transporter present in the BGC of enduracidin (ABD65953, 651 aa, 72,5 % a.s.i.). The most similar ABC transporter found using BLAST belongs to *Micromonospora* sp. MH33 (WP_107078706, 642 aa, 78 % a.s.i.). In this region of the *Micromonospora* genome, AntiSMASH annotates possible BGC for type III polyketide synthase metabolite. Homologous proteins are also present in all other LDP BGCs (Table 1): WP_091321314 (77,3 % a.s.i.) from *M. chersina* DSM 44151, WP_037306101 (73,7 % a.s.i.) from *Am. orientalis* DSM 40040/KCTC 9412, ANN21821 (73,7 % a.s.i.) from *Am. orientalis* B-37, ctg1_5221 (74,4 % a.s.i.) from *Am. balhimycina* FH 1894, TQL19420 (72,5 % a.s.i.) from *Streptomyces* sp. SLBN-134 Ga0314649_11, and SDT44201 (63,3 % a.s.i.) from *Streptomyces* sp. TLI_053. For comparison, we also chose previously described [35] ABC transporter encoded in teicoplanin BGC Tei4*, which has 54,3 % a.s.i. to Ramo8.

The secondary structure of Ramo8, ABD65953, WP_091321314, PSK62646, and Tei4* ABC transporters with color-coded functional motifs is shown in Fig. 2. The C-terminal ATPase domains have a complete set of motifs [33] necessary for their functioning, these include the Walker motif A (P-loop), the Q-loop, the Walker motif B, the D-loop, the H-loop, and the signature motif of the ABC transporter [35].

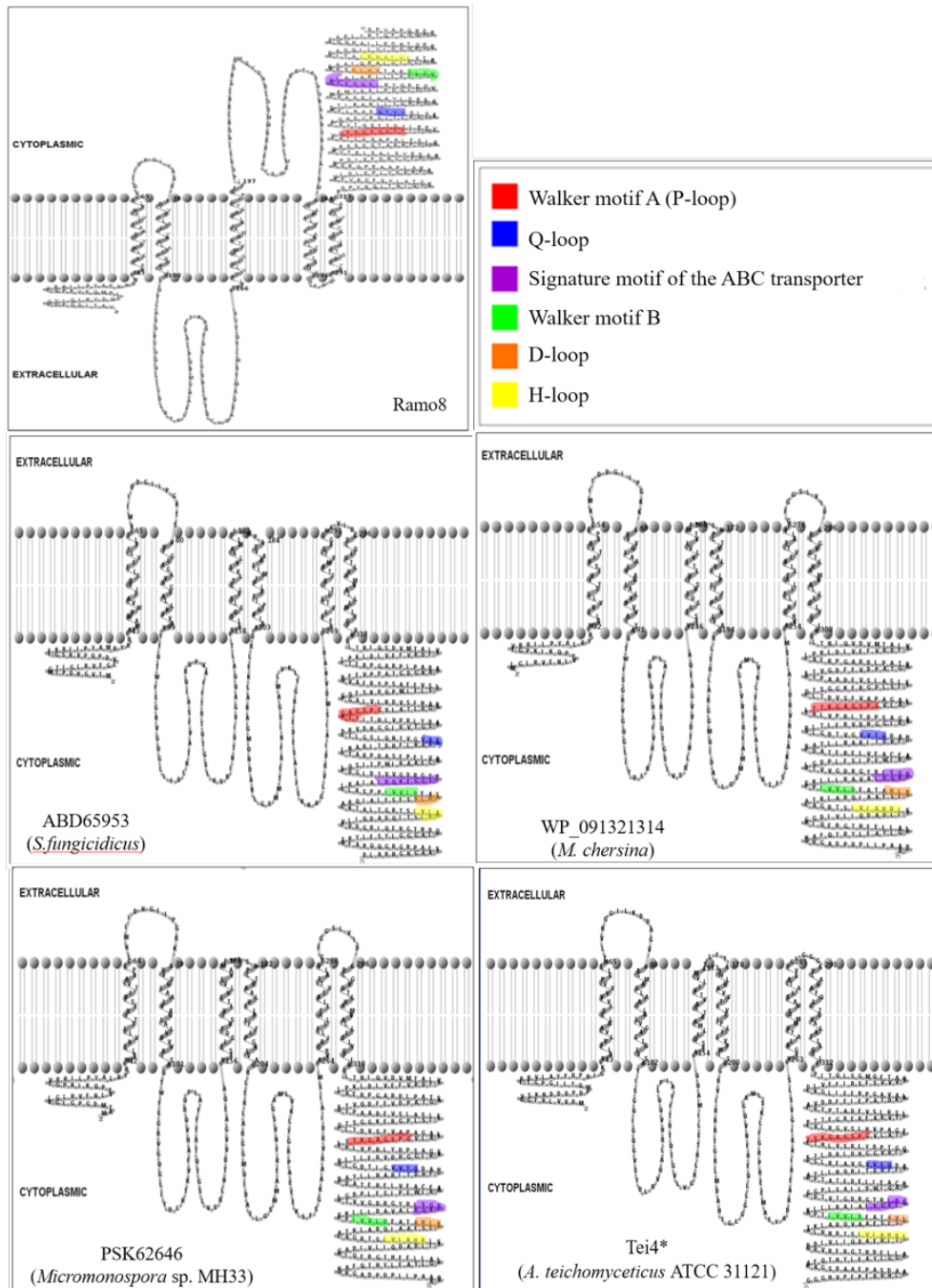


Fig. 2. Secondary structure of ABC transporters Ramo8, ABD65953, WP_091321314, PSK62646, and Tei4*. Prediction of transmembrane α -helices and placement of proteins in the cell membrane was carried out as described in Methods section. Colors indicate C-terminal functional motifs (see the legend to the figure)

It is interesting to note that almost all ABC transporters encoded in the glycopeptide antibiotics BGCs have an N-terminal transmembrane domain with six α -helices, in contrast to the ABC transporter encoded in the ramoplanin BGC, which, according to the prediction of the secondary structure, has a transmembrane domain consisting of five α -helices (the region corresponding to the fourth transmembrane α -helix is missing). Corresponding ABC transporters encoded in chersinamycin and enduracidin BGCs have six α -helices. This arrangement of α -helices in Ramo8 can be explained by the inaccuracy of the construction of the secondary structure model. When constructing the 3D model of Ramo8, the third and fourth α -helices are formed but do not cross the membrane completely (Fig. 3). They can form a kind of «anchor», which may be important for stabilizing the protein structure in the membrane.

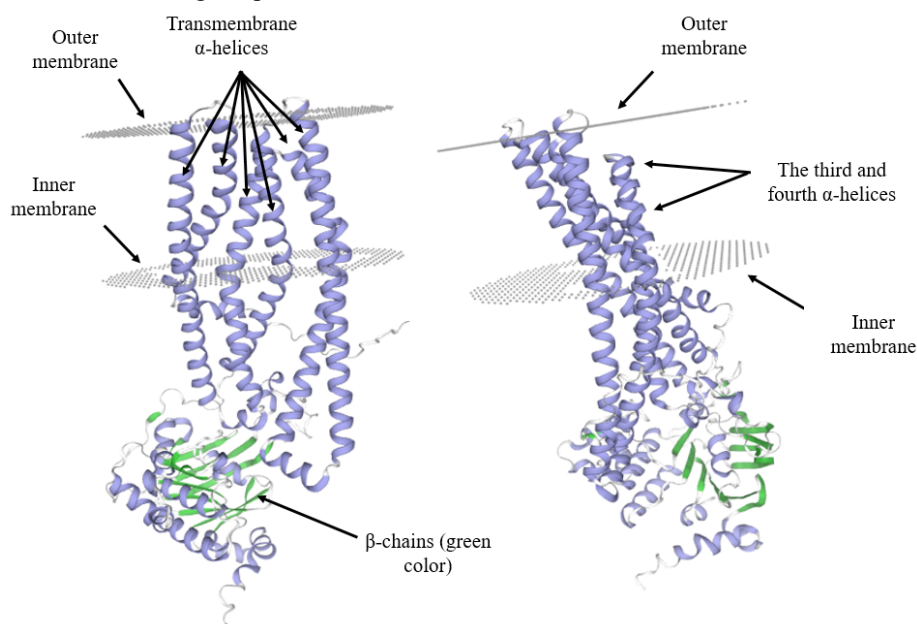


Fig. 3. Model of the tertiary structure of the ABC transporter Ramo8. The tertiary structure of Ramo8 was modeled based on the experimentally established crystal structure of the ABC transporter 9ACTN from *Streptomyces* sp SLBN-134 using the Swiss-mode server [32]. Elements of secondary structures are highlighted in colors

Based on the observed homodimer behavior of many ABC transporters [21], we constructed a homodimer model for Ramo8. AlphaFold2 analysis reveals a highly plausible homodimeric architecture for Ramo8, characterized by precise positioning of all transmembrane α -helices and critical components within the C-terminal ATPase domain active site (Fig. 4). The quaternary structure of Ramo8, as illustrated in Fig. 4, conforms to the characteristic features of ABC exporters. They are homodimers, each transmembrane domain contains six transmembrane α -helices [36].

The *ramo23* (930 bp) gene codes for the ATP-binding subunit of the ABC transporter, as discovered previously *in silico* [23]. The product of the *ramo23* gene contains the CcmA domain, which is also observed in Ramo2. As summarized in Table 2, the most similar described protein in the MIBiG database is the ATP-binding subunit of the ABC transporter encoded in the BGC of dynemicin in *M. chersina* (59 % a.s.i.). The closest homologue found by the BLAST algorithm is the ATP-binding subunit of the ABC transporter in *Micromonospora* sp. A3M-1-15 (WP_254341048, 60 % a.s.i.). The gene for this transporter is not located in any secondary

metabolite BGC. The exact functions of these transporter proteins are not known, but it is most likely that they participate in the transport of substances through the membrane in a complex with a membrane protein.

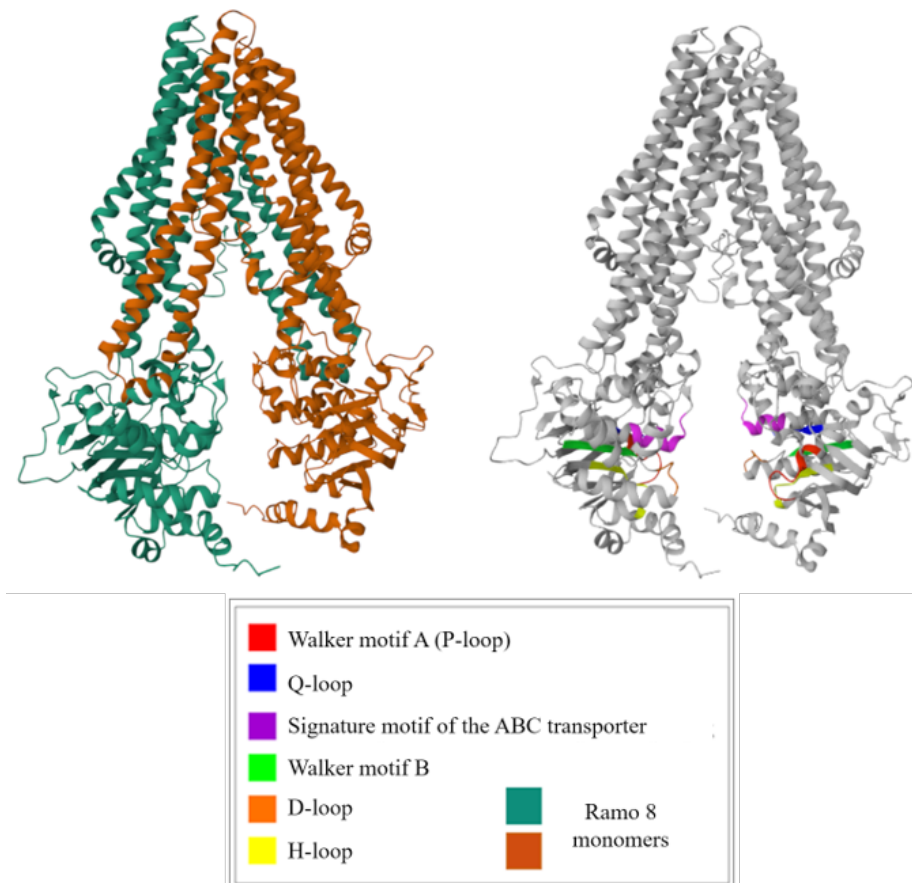


Fig. 4. Model of the quaternary structure of the ABC transporter Ramo8. The model was built using the AlphaFold2 service [12]. Structural elements are highlighted in colors (see the legend to the figure)

The Ramo23 shares 59,9 % a.s.i. to Ramo2. Correspondingly, in each LDP BGCs, there is one gene encoding homologue of both Ramo23 and Ramo2.

The last gene encoding a transport protein in the ramoplanin BGC is *ramo31* (1290 bp). The *in silico* predicted product of this gene is a proton membrane antiporter. The most similar described protein in the MIBiG database is a membrane antiporter protein encoded in tiacumicin B BGC in *D. aurantiacum* subsp. *hamdenensis* (82 % a.s.i.), and the closest homologue found by the BLAST algorithm is a proton antiporter in *A. deccanensis* (81 % a.s.i.), which gene is located in tiacumicin-like BGC (see Table 2).

Ramo31 contains the domain of the PLN03159 superfamily, characterized by the CD-search algorithm as a cation-proton antiporter that performs the functions of maintaining cation homeostasis and cell pH. Among all LDP BGCs, only chersinamycin BGC encodes a homologous protein WP_091305532 with 34,8 % a.s.i. to Ramo31 (Table 1). The secondary structures of mentioned proteins are shown in Fig. 5.

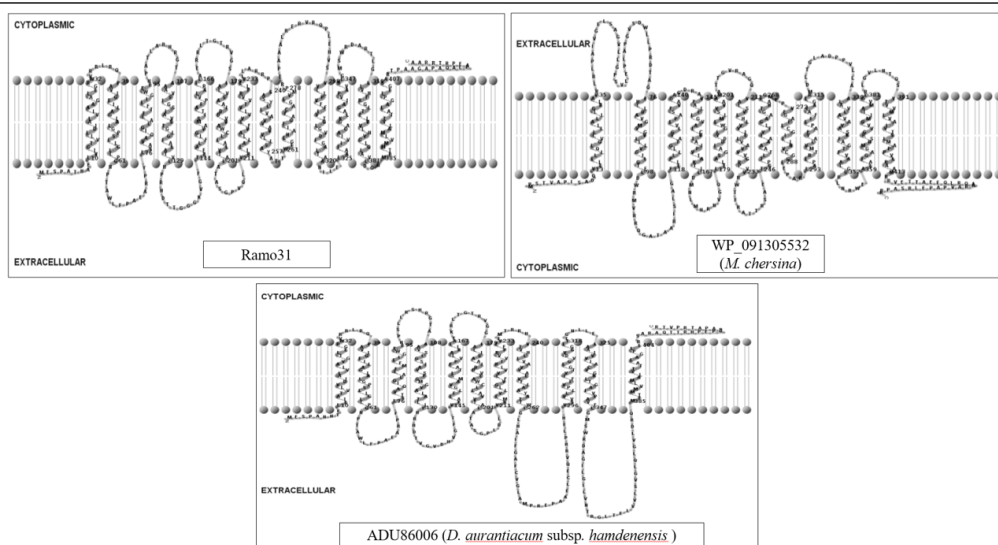


Fig. 5. Secondary structure of antiporter proteins Ramo31 (429 aa), WP_091305532 (*M. chersina*, 453 aa), ADU86006. (*D. aurantiacum* subsp. *hamdenensis*, 428 aa). The prediction of transmembrane α -helices and the localization of proteins in the cell membrane was performed as described in Materials section

The structure of the above-mentioned proteins is partially different. Ramo31 has 13 transmembrane α -helices, WP_091305532 has 12 transmembrane α -helices, and ADU86006 has 11 transmembrane α -helices. In addition to the PLN03159 superfamily domain, Ramo31 also contains KefB domains (typical for the potassium ion transport system described in *E. coli*, involved in the transport and metabolism of inorganic ions) and the Na^+ - H^+ exchanger domain cl01133. The canonical *E. coli* KefB protein has a structure similar to Ramo31, with 13 transmembrane α -helices, but is characterized by the presence of the PRK03659 superfamily domain instead of PLN03159. The PRK03659 domain is typical for proteins responsible for potassium exchange and is regulated by glutathione adducts, leading to transient acidification of the cytoplasm [2].

The *ramo31* gene product appears to be involved in cation transport and the regulation of homeostasis and pH. However, whether this protein is directly related to ramoplanin biosynthesis and whether its inclusion in the ramoplanin BGC is warranted remains to be determined.

Analysis of LDP BGCs reveals a single gene encoding a protein homologous to *ramo1* and *ramo3* products in all cases, except for chersinamycin BGC, which does encode a similar protein at all (Fig. 6).

From Fig. 6 we can also conclude that there is only one corresponding protein homologous to the *ramo2* and *ramo23* gene products in all LDP BGCs. All BGCs, except for chersinamycin, also lack a homologue of the proton membrane antiporter encoded by the *ramo31* gene.

It is intriguing to consider that some gene products in the ramoplanin biosynthetic pathway might not be directly involved in the final product export, but their contributions to other vital processes are likely significant.

In all LDP BGCs, except for ramoplanin BGC, only one gene encoding ATP-binding subunit and one gene for permease subunit of the ABC transporter are present. In these BGCs, the corresponding genes are located side by side, and corresponding proteins likely form one transport system, although the substrate of this system is unclear. This is why it is difficult to explain

the presence of the two genes for ATP-binding subunit and two for permease subunit in ramoplanin in BGC. It is possible that one functional pair is not essential for antibiotic export.

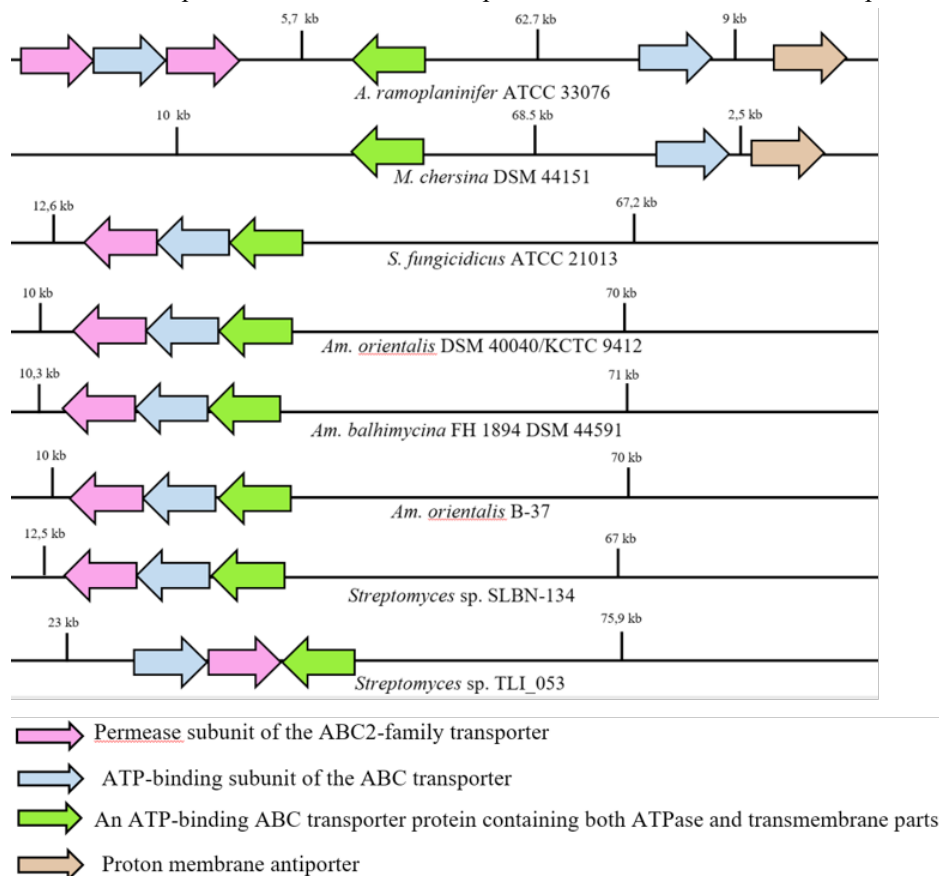


Fig. 6. Schematic arrangement of genes encoding transport proteins in LDP BGCs. Different types of transport proteins are indicated by colors (see the legend to the figure)

The precise explanation for this phenomenon is yet to be determined, but the chersinamycin BGC lacks the gene encoding the permease subunit, although it possesses a gene for the ATP-binding subunit of the ABC transporter. We did not find a corresponding gene for the permease subunit of the ABC transporter in the genomic region near chersinamycin BGC either.

The Ramo31 homologue is present only in chersinamycin BGC with low percentage of a.s.i. (34,8 %). Also, considering the probable function and location of the genes encoding these transport proteins on the edges of both BGCs, we can assume that they do not participate in the export of the corresponding antibiotics.

On the contrary, the observed features of Ramo8, including its potential for homodimerization, suggest it plays a crucial role in ramoplanin transport, likely acting as a key component of the antibiotic's export system across the cell membrane.

Financing

This work was supported by grant N/309-2003 from Ministry of Education and Science of Ukraine (to V. F.).

Acknowledgments

The authors extend their sincere gratitude to Dr. Oleksandr Yushchuk, whose insights and dedication significantly shaped the direction and outcome of this research.

REFERENCES

1. Blin K., Shaw S., Kloosterman A. M. et al. AntiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities // *Nucleic Acids Res.* 2021. Vol. 49. P. 29–35. doi: 10.1093/nar/gkab335
2. Booth I. R. The regulation of intracellular pH in bacteria // *Novartis Found. Symp.* 1999. Vol. 221. P. 19–28. doi: 10.1002/9780470515631.ch3.
3. Chang G., Chen L., Dassa E. et al. Structural and functional diversity calls for a new classification of ABC transporters // *FEBS Letters.* 2021. Vol. 594. P. 3767–3775. doi: 10.1002/1873-3468.13935.
4. Chen J. S., Wang Y.-X., Shao L. et al. Functional identification of the gene encoding the enzyme involved in mannosylation in ramoplanin biosynthesis in *Actinoplanes* sp. // *Biotechnol. Lett.* 2013. Vol. 35. P. 1501–1508. doi: 10.1007/s10529-013-1233-3.
5. Chen Y. W., Liu X. C., Lv F. X., Li P. Characterization of three regulatory genes involved in enduracidin biosynthesis and improvement of enduracidin production in *Streptomyces fungicidicus* // *J. Appl. Microbiol.* 2019. Vol. 127. P. 1698–1705. doi: 10.1111/jam.14417.
6. Donadio S., Sosio M., Stegmann E. et al. Comparative analysis and insights into the evolution of gene clusters for glycopeptide antibiotic biosynthesis // *Mol. Genet. Genomics.* 2005. Vol. 274. P. 40–50. doi: 10.1007/s00438-005-1156-3.
7. Han J., Chen J., Shao L. et al. Production of the ramoplanin activity analogue by double gene inactivation // *PLoS One.* 2016. Vol. 11. P. 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0154121.
8. Higashide E., Hatano K., Shibata M., Nakazawa K. Enduracidin, a new antibiotic. *Streptomyces fungicidicus* no. b 5477, an enduracidin producing organism // *J. Antibiot.* 1968. Vol. 21. P. 126–137. doi: 10.7164/antibiotics.21.126.
9. Higgins C. F. ABC transporters: from microorganisms to man // *Annu. Rev. Cell Biol.* 1992. Vol. 8. P. 67–113. doi: 10.1146/annurev.cb.08.110192.000435.
10. Hoertz A. J., Hamburger J. B., Gooden D. M. et al. Studies on the biosynthesis of the lipodepsipeptide antibiotic ramoplanin A2 // *Bioorganic Med. Chem.* 2012. Vol. 20. P. 859–865. doi: 10.1016/j.bmc.2011.11.062.
11. Holland I. B., Blight M. A. ABC-ATPases, adaptable energy generators fuelling transmembrane movement of a variety of molecules in organisms from bacteria to humans // *J. Mol. Biol.* 1999. Vol. 293. P. 381–399. doi: 10.1006/jmbi.1999.2993.
12. Jumper J., Evans R., Pritzel A. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold // *Nature.* 2021. Vol. 596. P. 583–589. doi: 10.1038/s41586-021-03819-2.
13. Kaur P. Expression and characterization of DrrA and DrrB proteins of *Streptomyces peuceitius* in *Escherichia coli*: DrrA is an ATP binding protein // *J. Bacteriol.* 1997. Vol. 179. P. 569–575. doi: 10.1128/jb.179.3.569-575.1997.
14. Kearse M., Moir R., Wilson A. et al. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data // *Bioinformatics.* 2012. Vol. 28. P. 1647–1649. doi: 10.1093/bioinformatics/bts199.
15. Kittila T., Kittel C., Tailhades J. et al. Halogenation of glycopeptide antibiotics occurs at the amino acid level during non-ribosomal peptide synthesis // *Chem. Sci.* 2017. Vol. 8. P. 5992–6004. doi: 10.1039/c7sc00460e.
16. Krogh A., Larsson B., Von Heijne G., Sonnhammer E. L. L. Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes // *J. Mol. Biol.* 2001. Vol. 305. P. 567–580. doi: 10.1006/jmbi.2000.4315.

17. Lu S., Wang J., Chitsaz F. et al. CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020 // *Nucleic Acids Res.* 2020. Vol. 48. P. 265–268. doi: 10.1093/nar/gkz991.
18. Malla S., Niraula N. P., Liou K., Sohng J. K. Self-resistance mechanism in *Streptomyces peucetius*: overexpression of *drxA*, *drxB* and *drxC* for doxorubicin enhancement // *Microbiol. Res.* 2010. Vol. 165. P. 259–267. doi: 10.1016/j.micres.2009.04.002.
19. McCafferty D. G., Cudic P., Frankel B. A. et al. Chemistry and biology of the ramoplanin family of peptide antibiotics // *Biopolym. - Pept. Sci. Sect.* 2002. Vol. 66. P. 261–284. doi: 10.1002/bip.10296.
20. Medema M. H., Kottmann R., Yilmaz P. et al. Information about a biosynthetic gene cluster // *Nat. Chem. Biol.* 2017. Vol. 11. P. 625–631. doi: 10.1038/nchembio.1890.Minimum.
21. Menges R., Muth G., Wohlleben W., Stegmann E. The ABC transporter Tba of *Amycolatopsis balhimycina* is required for efficient export of the glycopeptide antibiotic balhimycin // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007. Vol. 77. P. 125–134. doi: 10.1007/s00253-007-1139-x.
22. Mirdita M., Schutze K., Moriwaki Y. et al. ColabFold: making protein folding accessible to all // *Nat. Methods.* 2022. Vol. 19. P. 679–682. doi: 10.1038/s41592-022-01488-1.
23. Morgan K. T., Zheng J., McCafferty D. G. Discovery of six ramoplanin family gene clusters and the lipoglycopeptide chersinamycin // *ChemBioChem.* 2021. Vol. 22. P. 176–185. doi: 10.1002/cbic.202000555.
24. Pat. EP 1 326 983 B1 European Union. Gene cluster for ramoplanin biosynthesis / Farnet C. M., zazopulous E., Staffa A. Stat. 15.10.2001. Pub. 18.04.2002. P.1–222. WO 2002/031155.
25. Petrosillo N., Granata G., Cataldo M. A. Novel antimicrobials for the treatment of *Clostridium difficile* infection // *Front. Med.* 2018. Vol. 5. doi: 10.3389/fmed.2018.00096.
26. Pettersen E. F., Goddard T. D., Huang C. C. et al. UCSF ChimeraX: structure visualization for researchers, educators, and developers // *Protein Sci.* 2021. Vol. 30. P. 70–82. doi: 10.1002/pro.3943.
27. Sayers E. W., Bolton E. E., Brister R. J. et al. Database resources of the national center for biotechnology information // *Nucleic Acids Res.* 2022. Vol. 50. P. 20–26. doi: 10.1093/nar/gkab1112.
28. Sehna D., Bittrich S., Deshpande M. et al. Mol. Viewer: modern web app for 3D visualization and analysis of large biomolecular structures // *Nucleic Acids Res.* 2021. Vol. 49. P. W431–W437. doi: 10.1093/nar/gkab314.
29. Spyropoulos I. C., Liakopoulos T. D., Bagos P. G., Hamdrakas S. J. TMRPres2D: High quality visual representation of transmembrane protein models // *Bioinformatics.* 2004. Vol. 20. P. 3258–3260. doi: 10.1093/bioinformatics/bth358.
30. Unni S., Siddiqui T. J., Bidaisee S. et al. Reduced susceptibility and resistance to vancomycin of *Staphylococcus aureus*: a review of global incidence patterns and related genetic mechanisms // *Cureus.* 2021. Vol. 13. doi: 10.7759/cureus.18925.
31. Walker S., Chen L., Hu Y. et al. Chemistry and biology of ramoplanin: a lipoglycopeptide with potent antibiotic activity // *Chem. Rev.* 2005. Vol. 105. P. 449–475. doi: 10.1021/cr030106n.
32. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S. et al. Swiss-model: homology modelling of protein structures and complexes // *Nucleic Acid Res.* 2018. Vol. 46. P. 296–303. doi: 10.1093/nar/gky427.
33. Westfahl K. M., Merten J. A., Buchaklian A. H., Klug C. S. Functionally important ATP-binding and hydrolysis sites in *Escherichia coli* // *Biochem.* 2008. Vol. 47. P. 13878–13886. doi: 10.1021/bi801745u
34. Yushchuk O., Ostash B., Truman A. W. et al. Teicoplanin biosynthesis: unraveling the interplay of structural, regulatory, and resistance genes // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020. Vol. 104. P. 3279–3291. doi: 10.1007/S00253-020-10436-Y.

35. Yushchuk O., Zhukrovska K., Fedorenko V. Insights into the phylogeny of transporters coded within biosynthetic gene clusters for glycopeptides and related antibiotics // *Visnyk Lviv Univ. Biol. Ser.* 2022. Vol. 86. P. 33–46. doi.org/10.30970/vlubs.2022.86.
36. Zolnerciks J. K., Andress E. J., Nicolaou M., Linton J. K. Structure of ABC transporters // *Essays Biochem.* 2011. Vol. 50. P. 43–61. doi: 10.1042/BSE0500043.

Стаття надійшла до редакції 04.01.24

прийнята до друку 26.01.24

ПОРІВНЯЛЬНИЙ *IN SILICO* АНАЛІЗ БІЛКІВ-ТРАНСПОРТЕРІВ, ЗАКODOВаних У КЛАСТЕРАХ БІОСИНТЕТИЧНИХ ГЕНІВ РАМОПЛАНІНУ ТА СПОРІДНЕНИХ АНТИБІОТИКІВ

К. Жукровська, В. Федоренко*

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

Глікопептидні антибіотики (ГПА), такі як тейкопланін і ванкомицин, є одними з препаратів першої лінії для лікування інфекцій, спричинених грамположитивними мікроорганізмами, стійкими до різних лікарських засобів. ГПА пов'язані з ліподепептидами (ЛДП), ще одним важливим класом антибіотиків, здатних зв'язувати ліпід II. Основними сполуками, що належать до групи ЛДП, є рамопланін (ключовий представник), ендурацидин і черсинаміцин. Для цих антибіотиків відомі кластери біосинтетичних генів (КБГ), що кодують їхній біосинтез. Нещодавно було описано п'ять додаткових КБГ, які кодують імовірні ЛДП. КБГ ЛДП недостатньо досліджені; одним із аспектів, які потребують подальшого вивчення, є білки-транспортери, закодовані в межах цих КБГ. Ці білки, скоріш за все, беруть участь в експорті антибіотиків із клітини, а також у забезпеченні стійкості продуцента до власного вторинного метаболіту. У цій роботі ми провели *in silico* аналіз генів, які кодують транспортери, в межах КБГ рамопланіну й інших ЛДП. Ми дослідили доменну архітектуру цих транспортних білків, виявили їхні гомологи в КБГ, депоновані у репозиторії MIBiG та за його межами, створили моделі вторинних і третинних структур, і порівняли розташування транспортних генів у КБГ ЛДП. Нам вдалося ідентифікувати раніше неохарактеризований ген, що кодує ABC-транспортер у КБГ рамопланіну – *ramo3*. *Ramo1* і *Ramo3* у КБГ рамопланіну є паралогами, що кодують пермеазну субодиницю ABC-транспортера. У всіх інших КБГ ЛДП, окрім КБГ черсинаміцину, ми знайшли тільки один відповідний гомолог, який кодує цей тип білка. Подібним чином ми виявили, що *Ramo2* і *Ramo23* також є гомологічними білками, які, найімовірніше, є АТФ-зв'язуючими субодиницями ABC-транспортера; *Ramo2* і *Ramo23* мають лише по одному гомологу в інших КБГ ЛДП. Ми описали *Ramo8* як АТФ-зв'язуючий ABC-транспортер, що містить як АТФазу, так і трансмембранну частину, і виявляє схожість до транспортерів, що кодуються в КБГ ГПА. Для *Ramo8* ми змоделювали третинну структуру мономера, а також четвертинну структуру гомодимера цього білка. Також аналіз *in silico* виявив, що *Ramo31* є протонним мембранним антипортером, віддалений гомолог якого закодований лише в КБГ черсинаміцину та, скоріш за все, цей білок не пов'язаний із біосинтезом рамопланіну.

Ключові слова: кластери біосинтетичних генів, рамопланін, мембранні транспортні білки, вторинні метаболіти, ґрунтові мікроорганізми

СИНДРОМ СНАЙДЕРСА БЛОКА-КАМПО – НОВЕ ГЕНЕТИЧНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ, ЩО СПРИЧИНЯЄ РОЗЛАДИ НЕЙРОРОЗВИТКУ

О. Юшук*, І. Руда, В. Федоренко

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

Синдром Снайдерса Блока-Кампо – це нещодавно відкрите генетичне захворювання, ключовими ознаками якого є прояви дитячої апраксії мовлення й інтелектуальної недостатності, а також цілий спектр інших розладів нейророзвитку (напр., порушення зору), опорно-рухового апарату (знижений тонус м'язів) та ін. Синдром Снайдерса Блока-Кампо спричиняють мутації в гені *CHD3* (найчастіше *de novo*), що кодує CHD3 – хромодомен-геліказний ДНК-зв'язувальний білок 3 (chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3). Однак трапляються й успадковані мутації в гені *CHD3*; в цьому разі у гетерозиготних за мутантним алелем гена *CHD3* батьків синдром Снайдерса Блока-Кампо не проявляється (або цей прояв слабкий), проте у нащадків, які також гетерозиготні за мутантним алелем гена *CHD3* і мають таку ж мутацію, синдром Снайдерса Блока-Кампо проявляється повною мірою. Цей феномен досі не пояснено. У літературі також описано два випадки осіб зі синдромом Снайдерса Блока-Кампо, у яких мутацію знайдено в гомозиготному стані. Переважна більшість описаних у літературі варіантів гена *CHD3* є точковими міссенс замінами. CHD3 належить до білків ремодельєрів хроматину і є складовою комплексу ремодельювання й ацетилювання нуклеосом (NuRD), що важливо для регуляції експресії генів упродовж розвитку мозку. Ключовою ділянкою білка CHD3 є дводоменна ділянка з АТФ-залежною геліказною активністю. Хоча більшість описаних варіантів і локалізовані в ділянці гена, який кодує дводоменну ділянку з геліказною активністю, та чіткої кореляції між локалізацією мутації і важкістю фенотипу встановити не вдалося. В Україні досі немає задокументованих випадків синдрому Снайдерса Блока-Кампо. У цьому огляді ми ставимо за мету детально описати особливості синдрому Снайдерса Блока-Кампо, його генетичні причини, що має полегшити ідентифікацію та генетичну діагностику випадків цієї патології, оскільки є маркери, що дають змогу запідозрити її ще у пренатальному періоді.

Ключові слова: синдром Снайдерса Блока-Кампо, генетичні синдроми, *CHD3*, апраксія, хромодоменний-геліказний ДНК-зв'язувальний білок 3

Дитяча апраксія мовлення (ДАМ) є розладом, за якого порушується комплекс рефлексів мовленнєвого апарату без інших помітних нейром'язових розладів; пацієнти із ДАМ або повністю не здатні до усного мовлення, або їхні здібності є обмеженими. Прийнято вважати, що в осіб із ДАМ порушення нейропланування і нейропрограмування часо-просторових властивостей послідовності рухів мовлення призводять до помилок у звукоутворенні та просодії (<https://www.asha.org/practice-portal/clinical-topics/childhood-apraxia-of-speech/>). Ознаки ДАМ варіабельні, а нейробіологічні механізми та генетичні причини цього порушення вивчені недостатньо. Однак у деяких випадках дане порушення спричиняють мутації в гені *FOXP2* (forkhead box protein P2) [17]. *FOXP2* кодує транскрипційний фактор родини FOX (forkhead box), критичний для нормального розвитку мозку, мовлення та синаптичної пластичності людини [19]. Окрім мутацій у гені *FOXP2*, є й інші

генетичні причини ДАМ. Зокрема, нещодавній скринінг генетичних причин ДАМ серед 19-ти пробандів виявив новий ген *CHD3* (chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3), мутації в якому викликають ДАМ (траплялись у трьох пробандів) [10]. Один із виявлених пробандів із варіантом гена *CHD3* послужив індекс-кейсом для формування когорти з 35 пробандів із рядом варіантів гена *CHD3*, в яких були характерні одноманітні фенотипові прояви. Комплекс ознак, спричинених мутаціями в *CHD3*, отримав назву синдрому Снайдерса Блока-Кампо (ССБК, ОМІМ #602120), що було опубліковано в 2018 р. [31]. Згідно із базою даних ОМІМ, ССБК є автосомно-домінантним захворюванням. У подальших дослідженнях виявлено й інші випадки ССБК і розширено спектр мутацій, а також ознак, зумовлених ними, про що в деталях йтиметься нижче.

Білок *CHD3* належить до *CHD*-родини (за деякими повідомленнями – підродини) АТФ-залежних комплексів ремоделювання хроматину (або ремодельєрів) [35]. Це мультидоменні білки, для яких характерна наявність двох доменів-модифікаторів організації хроматину (хромодоменів) у N-термінальній ділянці, а також ділянки з геліказною активністю у складі SNF2-подібного АТФазного домена і С-термінального доменів [6, 24]. Відповідно до цих ознак родина й отримала назву хромодомен-геліказні ДНК-зв'язувальні білки. Дев'ять білків *CHD*-родини у людини поділяються на три підродини, для представників яких характерні унікальні комбінації функціональних доменів [34, 35]. Зокрема, *CHD1* і *CHD2* належать до першої підродини; це єдині *CHD* білки із чітко вираженим SANT/SLIDE-подібним ДНК-зв'язувальним доменом [35]. Другу підродину утворюють *CHD3*, *CHD4* і *CHD5*; у цих білків відсутній ДНК-зв'язувальний домен (позаяк вони функціонують у складі мультимерних комплексів), але наявні два домени типу PHD (plant homeodomain) [26]. До третьої підродини належать білки *CHD6*, *CHD7*, *CHD8* і *CHD9*; у них також відсутній ДНК-зв'язувальний домен, але характерні консервативні С-термінальні BRK (Brahma-Kismet [1])-домени [30]. Важливо, що варіанти генів *CHD2*, *CHD6*, *CHD7* і *CHD8* знайдено у пацієнтів із розладами аутистичного спектру (РАС), порушеннями інтелектуального розвитку й епілепсією [21]. Варіанти гена *CHD7* пов'язують із розвитком синдрому CHARGE, що характеризується колоболою, дефектами серця, атрезією хоан, дефектами росту і розвитку, дефектами розвитку сечостатевої системи, аномаліями слуху та глухотою [5], а також синдрому Калмана, для якого властивий ідіопатичний гіпогонадотропний гіпогонадизм [16]. Отже, значення білка *CHD3* для інтелектуального розвитку не є унікальним.

Враховуючи час відкриття, сьогодні мало відомо про молекулярні механізми розвитку ССБК. Цікаво, що білок *CHD3*, за результатами двогібридного аналізу ряду білків людини, здійсненого у клітинах дріжджів, є одним із білків-партнерів FOXP2 [11].

Клінічна картина ССБК. Хоча розлади мовлення індекс-кейсу ССБК і послужили ініціатором для вивчення синдрому, та клінічна картина є ширшою (див. таблицю). Проте розлади мовлення є найважливішою клінічною ознакою ССБК. Експресивна складова мовлення порушена більше, ніж рецептивна складова. Окрім саме апраксії, зафіксовано такі ознаки як дизартрія, проблеми з оромоторними актами, затинання.

Загалом, у літературі станом на лютий 2024 р. описано 126 випадків ССБК [8, 9, 12, 13, 18, 20, 22, 25, 28, 31–33]. Для осіб із ССБК характерна інтелектуальна недостатність (IQ в межах 35–85) і затримка нейророзвитку; аутистичні ознаки, такі як стереотипна поведінка і часте плескання в долоні.

У осіб із ССБК спостерігають макроцефалію (хоч і описано рідкісні випадки мікроцефалії [31]), а результати МРТ показують збільшений об'єм спинномозкової рідини, зокрема, розширені шлуночки мозку [9, 31, 32]. Для обличчя характерні такі ознаки: широко розставлені очі, широкий і нависаючий лоб, набряки навколо очей, звужені очні щілини, зменшення щільності

або кількості та/або зменшення діаметра бічних волосків брів, низько розміщені вуха, гіпоплазія середньої частини обличчя, тонка верхня губа, повні щоки та ін. [9, 28, 31, 32].

З боку опорно-рухового апарату спостерігається атонія, в'ялість зв'язок і гіпермобільність суглобів (дисплазія сполучної тканини) [8, 9, 12, 18, 20, 22, 25, 28, 31–33]. Деяким особам із ССБК властиві вроджені вади серця [9]. Для багатьох осіб із ССБК характерна непевна хода [28]. Описано випадки пахвинних і пупкових гриж, крипторхізму [9, 28, 31, 32].

Перелік симптомів і їхня частота в осіб із ССБК, описаних у літературі; окремо подано інформацію для осіб із *de novo* варіантами гена *CHD3*, осіб із успадкованими варіантами та для гетерозиготних батьків-носіїв мутації

Джерела	[8, 9, 12, 18, 20, 22, 25, 28, 31–33]	[9, 13, 32]	[9, 13, 32]
Особливості мутації	Діти, в яких виникла мутація <i>de novo</i>	Діти, які успадкували мутацію від гетерозиготних батьків-носіїв	Гетерозиготні батьки-носії
Розвиток			
Інтелектуальна недостатність	61/71	13/16	4/19
Порушення інтелектуального розвитку	78/79	23/23	3/18
Розлади мовлення	73/73	22/22	4/17
Ознаки аутизму	21/73	10/19	3/17
Нейрологічні ознаки			
Гіпотонія	55/71	17/19	2/12
Макроцефалія	18/23	9/19	8/16
Збільшений об'єм спинномозкової рідини, випадки епілепсії, запізнення мієлінізації	9/20	9/15	2/12
Проблеми із годуванням у неонатальний період	11/52	4/19	1/16
Дизморфії обличчя			
Високий, широкий і/чи виступаючий лоб	46/57	17/20	2/12
Широко розставлені очі	53/76	15/22	4/17
Глибоко посаджені очі	15/42	9/19	8/16
Тонка верхня губа	25/40	12/22	8/17
Широке перенісся	20/44	18/22	5/19
Повні щоки	20/40	14/20	2/16
Проблеми зору (далекозорість, близькозорість, косоокість, вади зору, спричинені порушеннями в зоровій корі, астигматизм)	44/76	6/22	9/17
Інше			
В'ялість зв'язок і гіпермобільність суглобів	30/72	8/20	4/14
Порушення розвитку геніталій у чоловіків	14/46	2/9	0/5
Грижі (пахвинні, пупкові, діафрагмальні)	12/68	2/20	1/15

Часто трапляються такі порушення зору як короткозорість, далекозорість і косоокість, рідше – вади зору внаслідок порушень у зоровій корі, астигматизм [9, 28, 31, 32]. Рідкісні випадки епілепсії та конвульсій у новонароджених [9, 28], а також запізнення мієлінізації [9]. Описано випадки паркінсонізму в осіб старшого віку [31]. Принаймні у деяких випадках особи із ССБК демонструють ознаки гіперсоціальності [8]. Також в одному із випадків описано передчасне статеве дозрівання у пацієнтки жіночої статі, на додаток до м'яких проявів типових симптомів ССБК [18].

Патологічні зміни за ССБК, схоже, є незворотними; із даних літератури поки що незрозуміло, наскільки особи з ССБК піддаються реабілітації, а також як прояви синдрому впливають на тривалість життя [9, 31, 32].

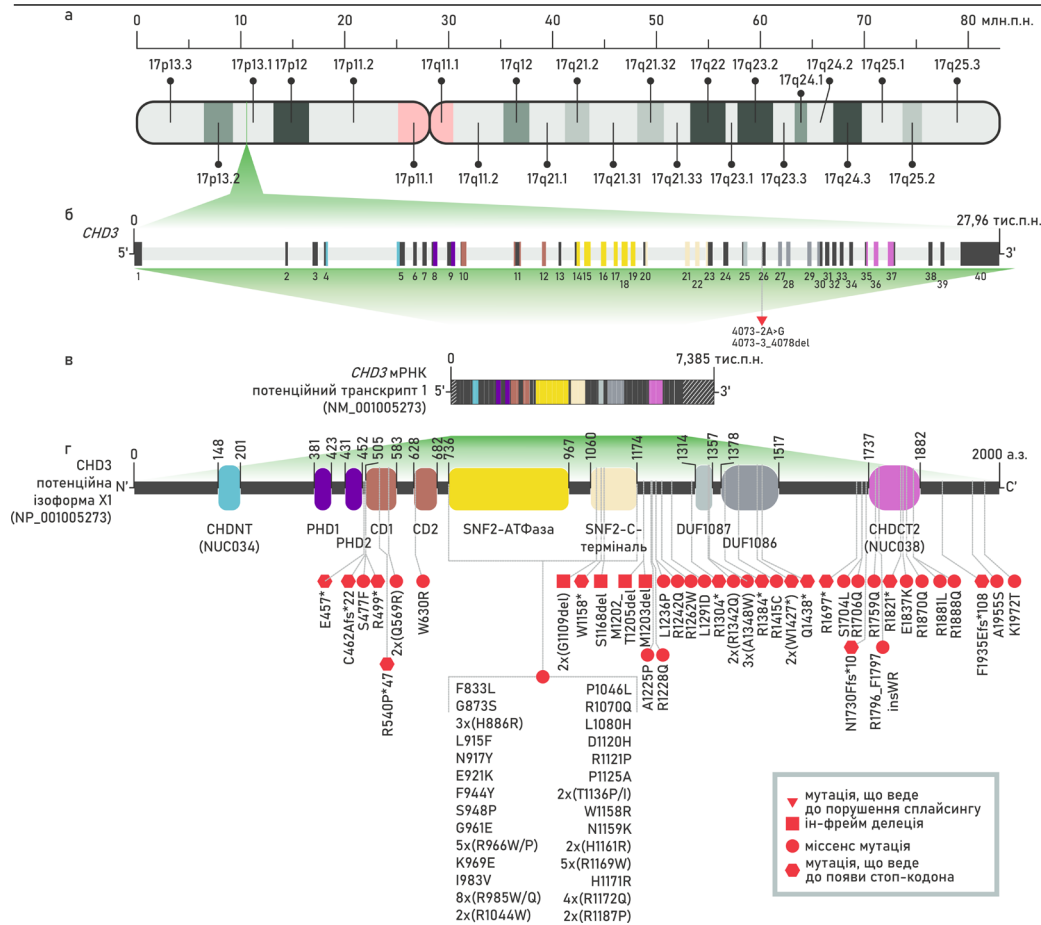
Організація гена і білка CHD3. Ген *CHD3* розташований на короткому плечі 17-ї хромосоми (17p13.1) (див. рисунок, а). Це ген завдовжки близько 28 тис. п. н., що складається зі 40 екзонів і 39 інтронів (рисунок, б). Ймовірно, найбільш важливий потенційний транскрипт гена *CHD3* (NM_001005273) після сплайсингу має розмір 7,385 тис. п. н. (рисунок, в) і транслюється в білок (NP_001005273) розміром 2000 амінокислотних залишків (а. з.).

Доменна організація *CHD3* (передбачена за допомогою CD-Search [23]) представлена 10-ма доменами (рисунок, г). У N-термінальній ділянці білка розміщений CHDNT домен, консервативний для усіх CHD-білків; роль його незрозуміла. Далі є два PHD-домени типу «цинковий палець», які беруть участь у розпізнаванні триметильованих N-термінальних ділянок гістонів H3 [14], тоді як наступна пара хромодоменів взаємодіє з цими ділянками H3 [24]. Центральними доменами *CHD3* є SNF2-подібні АТФазний і С-термінальний домени, які необхідні для АТФ-залежної ДНК-транслокації [29]. Відразу після SNF2-подібного С-термінального домена розміщені два домени невідомої функції – DUF1087 і DUF1086. С-кінцевим доменом *CHD3* є CHDCT2-домен, який, імовірно, відіграє регуляторну роль [3].

Види мутацій, що призводять до ССБК. Переважна більшість описаних варіантів гена *CHD3*, що призводять до виникнення ССБК, є варіантами *de novo* [31, 9]. Рідше спостерігається успадкування варіантів від гетерозиготних батьків [9, 32]. Для мутацій, що призводять до ССБК, не характерне менделівське успадкування. Часто батьки дітей із явним проявом ССБК самі є гетерозиготними носіями мутантного алелю гена *CHD3*, але мають слабкий і майже непомітний (або взагалі відсутній) фенотиповий прояв ССБК. Хоча їхні нащадки також є гетерозиготними носіями мутантного алелю гена *CHD3*, у них ССБК проявляється повною мірою [9, 32]. Таку варіабельність експресивності мутацій до сьогодні не пояснено. Висунуто припущення, що варіанти інших генів (успадкованих не від носія варіанта *CHD3*), неідентифіковані однонуклеотидні поліморфізми регуляторних ділянок геному тощо, створюють сприятливий генетичний фон для високої експресивності варіантів *CHD3* [32].

Цікаво, що описано лише два випадки мутації гена *CHD3* в гомозиготному стані у нащадків двох гетерозиготних носіїв (які були двоюрідними братом і сестрою) [13]. У них спостерігали важкий фенотиповий прояв зі значним порушенням інтелектуального розвитку, численними дизморфіями обличчя і тіла [13].

Серед варіантів *CHD3* найчастіше спостерігають точкові міссенс-мутації в ділянках гена, що кодують SNF2-АТФазний і сусідній SNF2-С-термінальний домени (рисунок, г). Подібні міссенс-мутації трапляються і в інших ділянках гена *CHD3* (рисунок, г), проте відсутність чіткої кореляції між ділянкою, де сталася мутація, і клінічним фенотипом не дає змоги охарактеризувати ті чи інші ділянки гена *CHD3* як більш чи менш важливі для клінічного прояву ССБК [9, 32]. Рідше трапляються делеції, які не ведуть до зсуву рамки зчитування, а також заміни, інсерції чи делеції, що призводять до появи передчасних стоп-кодонів і трансляції вкорочених варіантів білка (рисунок, г). Найрідкіснішим класом точкових мутацій (описано лише два випадки) є мутації, які порушують донорний або акцепторний сайти інтронів (сплайс варіанти), ведучи до вирізання одного з екзонів під час сплайсингу (рисунок, б) [9, 31]. Нарешті, в одному випадку описано делецію завдовжки 0,5 млн п. н., включно з геном *CHD3*, у результаті якої було втрачено деякі інші важливі гени, тоді як у другому випадку описано велику (6,5 млн п. н.) дуплікацію, що також включала *CHD3* [9]. В обох випадках спостерігали більш складні клінічні фенотипи, а недостатність проведених досліджень не дала змоги повністю оцінити вплив таких хромосомних перебудов [9].



Розташування гена *CHD3*, його інтрон-ексонна організація, організація білка *CHD3*, а також мутації, які зафіксовані в осіб із ССБК: а – ідіограма 17-ї хромосоми людини, що показує G-комплекс поперечних міток (850 поперечних міток на гаплоїдний набір), на якій вказано розташування гена *CHD3*; б – інтрон-ексонна організація гена *CHD3*, де позначено дві описані мутації, що призводять до порушення сплайсингу мРНК [4, 16]; в – один із потенційних транскриптів *CHD3* (NM_001005273) (кольорами показано ділянки, що кодують різні домени *CHD3*); г – схема доменної організації *CHD3* (потенційна ізоформа X1, NP_001005273), де показано мутації, описані в осіб із ССБК [4, 16–26]

Молекулярні основи патогенезу ССБК. Білок *CHD3* входить до складу комплексу ремоделювання і деацетилювання нуклеосом, або NuRD (nucleosome remodeling and deacetylase). NuRD є мультимерним комплексом, у якому *CHD* білок (*CHD3* або *CHD4*) відіграє роль АТФ-залежного молекулярного мотора, що ремоделює хроматин за допомогою ковзання нуклеосом [2]. У свою чергу, у ссавців NuRD є важливим регулятором експресії генів і бере участь у всіх стадіях розвитку мозку, починаючи з експансії клітин-попередників нейронів, їхньої диференціації та міграції, в утворенні й підтримуванні синаптичних зв'язків [4]. Зокрема, NuRD із *CHD3* бере участь у формуванні неокортексу, координуючи радіальну міграцію клітин-попередників нейронів і спеціалізацію шарів неокортексу [27]. Експерименти *in vitro* з варіантами *CHD3*, у яких реконструйовані клінічно-значущі мута-

ції в SNF2-подібних АТФ-азному і С-термінальному доменах, показали, що клітинна локалізація таких білків не порушена, але вони мають помітно нижчу або відсутню АТФазну активність і порушену здатність до ремоделювання хроматину [31]. Таким чином, логічно припустити, що подібні мутації ведуть до порушення здатності CHD3 до АТФ-залежної ДНК-транслокації, а отже, і до нефункціональності CHD3-NuRD комплексу. Не відомо, як мутації в інших ділянках білка CHD3 впливають на його функції.

Згідно з базою даних ОМА Orthology database (omabrowser.org), ортологи гена *CHD3* наявні в більшості представників *Metazoa*. Проте даних експериментального вивчення ролі ортологів гена *CHD3* майже немає. У модельному об'єкті *Drosophila melanogaster* делеція гена *Chd3* (ортолога *CHD3* людини) не мала впливу на життєздатність і фертильність, а поведінкові тести для таких мутантів не проводили [7]. Ортолог гена *CHD3* в *Caenorhabditis elegans* – *chd-3* – відповідає за диференціацію нейронів, а також за формування стравоходу і кишки [15]. Зрештою, мутантам *Mus musculus* із делеціями обох алелів *Chd3* була властива часткова ембріональна летальність (частоту не встановлено) [36]. Поведінкові тести для таких мутантів не проводили. Виходячи з цих даних, наразі важко сформулювати оптимальну тваринну модель для вивчення ССБК.

Висновки. Комплекс діагностичних ознак ССБК сьогодні є добре описаним, що дає змогу використовувати такі симптоми як розлади мовлення, атонія м'язів і характерні дизморфії обличчя для ідентифікації ССБК. Застосування повноекзомного секвенування дає змогу виявити мутації в гені *CHD3* для підтвердження діагнозу. Каріотипування не є ефективним методом діагностики ССБК, оскільки в літературі описано поодинокі випадки хромосомних аберацій, які спричиняють це захворювання. Для ССБК характерна варіабельна експресивність мутацій; відповідно, генотипування батьків пробанда має сенс проводити з метою виявити ймовірне гетерозиготне носійство під час планування наступної вагітності, незважаючи на те, що більшість описаних варіантів *CHD3* виникали *de novo*.

Причини такої варіабельної експресивності незрозумілі. Також не зовсім зрозуміла кореляція між розташуванням мутації в білка CHD3 і фенотиповим проявом, як і роль CHD3-NuRD комплексу в розвитку мозку. Усі ці аспекти заслуговують на подальше експериментальне вивчення задля кращого розуміння молекулярних основ етіології ССБК і створення генно-терапевтичних підходів до лікування цього захворювання.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Allen M. D., Bycroft M., Zinzalla G. Structure of the BRK domain of the SWI/SNF chromatin remodeling complex subunit BRG1 reveals a potential role in protein-protein interactions // *Protein. Sci.* 2020. Vol. 29. P. 1047–1053. <https://doi.org/10.1002/pro.3820>.
2. Basta J., Rauchman M. The nucleosome remodeling and deacetylase complex in development and disease // *Transl. Res.* 2015. Vol. 165. P. 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.05.003>.
3. Bouazoune K., Mitterweger A., Längst G. et al. The dMi-2 chromodomains are DNA binding modules important for ATP-dependent nucleosome mobilization // *EMBO J.* 2002. Vol. 21. P. 2430–2440. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.10.2430>.
4. Boulasiki P., Tan X. W., Spinelli M., Riccio A. The NuRD complex in neurodevelopment and disease: a case of sliding doors // *Cells.* 2023. Vol. 12. P. 1179. <https://doi.org/10.3390/cells12081179>.
5. Brajadenta G.S., Bilan F., Gilbert-Dussardier B. et al. A functional assay to study the pathogenicity of CHD7 protein variants encountered in CHARGE syndrome patients // *Eur. J. Hum. Genet.* 2019. Vol. 27. P. 1683–1691. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0465-7>.

6. Clapier C.R., Iwasa J., Cairns B. R., Peterson C. L. Mechanisms of action and regulation of ATP-dependent chromatin-remodelling complexes // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2017. Vol. 18. P. 407–422. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.26>.
7. Cooper M. T., Conant A.W., Kennison J. A. Molecular Genetic analysis of *Chd3* and polytene chromosome region 76B-D in *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. 2010. Vol. 185 (3). P. 811–822. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.115121>.
8. Coursimault J., Lecoquierre F., Saugier-Veber P. et al. Hypersociability associated with developmental delay, macrocephaly and facial dysmorphism points to CHD3 mutations // *Eur. J. Med. Genet.* 2021. Vol. 64. P. 104166. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2021.104166>.
9. Drivas T. G., Li D., Nair D. et al. A second cohort of CHD3 patients expands the molecular mechanisms known to cause Snijders Blok-Campeau syndrome // *Eur. J. Hum. Genet.* 2020. Vol. 28. P. 1422–1431. <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0654-4>.
10. Eising E., Carrion-Castillo A., Vino A. et al. A set of regulatory genes co-expressed in embryonic human brain is implicated in disrupted speech development // *Mol. Psychiatry*. 2019. Vol. 24. P. 1065–1078. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0020-x>.
11. Estruch S. B., Graham S. A., Deriziotis P., Fisher S. E. The language-related transcription factor FOXP2 is post-translationally modified with small ubiquitin-like modifiers // *Sci Rep*. 2016. Vol. 6. P. 20911. <https://doi.org/10.1038/srep20911>.
12. Fan X.-Y. Snijders Blok-Campeau syndrome caused by CHD3 gene mutation: a case report // *Zhongguo. Dang. Dai. Er. Ke. Za. Zhi*. 2021. Vol. 23. P. 965–968. <https://doi.org/10.7499/j.issn.1008-8830.2106091>.
13. Goldfarb Yaacobi R., Sukenik Halevy R. A severe neurocognitive phenotype caused by bi-allelic CHD3 variants in two siblings // *Am. J. Med. Genet. A*. 2023. Vol. 194. P. e63503. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63503>.
14. Iwase S., Lan F., Bayliss P. et al. The X-linked mental retardation gene SMCX/JARID1C defines a family of histone H3 lysine 4 demethylases // *Cell*. 2007. Vol. 128. P. 1077–1088. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.017>.
15. Käser-Pébernard S., Pfefferli C., Aschinger C. et al. Fine-tuning of chromatin composition and Polycomb recruitment by two Mi2 homologues during *C. elegans* early embryonic development // *Epigenetics Chromatin*. 2016. Vol. 9. P. 39. <https://doi.org/10.1186/s13072-016-0091-3>.
16. Kim H.-G., Kurth I., Lan F. et al. Mutations in CHD7, encoding a chromatin-remodeling protein, cause idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2008. Vol. 83. P. 511–519. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.09.005>.
17. Lai C. S., Fisher S. E., Hurst J. A. et al. A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder // *Nature*. 2001. Vol. 413. P. 519–523. <https://doi.org/10.1038/35097076>.
18. LeBreton L., Allain E. P., Parscan R. C. et al. A novel CHD3 variant in a patient with central precocious puberty: expanded phenotype of Snijders Blok-Campeau syndrome? // *Am. J. Med. Genet. A*. 2023. Vol. 191. P. 1065–1069. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63096>.
19. Lennon P. A., Cooper M. L., Peiffer D. A. et al. Deletion of 7q31.1 supports involvement of FOXP2 in language impairment: clinical report and review // *Am. J. Med. Genet. A*. 2007. Vol. 143A. P. 791–798. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31632>.
20. Li Y., Wang X., Liu M. et al. [Clinical characteristics and genetic variant analysis of a child with Snijders Blok-Campeau syndrome] // *Chinese J. Med. Genet.* 2023. Vol. 40. P. 402–407. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn511374-20221108-00768>.
21. Liu C., Kang N., Guo Y., Gong P. Advances in chromodomain helicase DNA-binding (CHD) proteins regulating stem cell differentiation and human diseases // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. Vol. 9. P. 710203. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.710203>.

22. *Malinger G., Hoffmann C., Achiron R., Berkenstadt M.* Prenatal diagnosis of Snijders Blok-Campeau syndrome in a fetus with macrocephaly // *Fetal Diagn. Ther.* 2021. Vol. 48. P. 407–410. <https://doi.org/10.1159/000514326>.
23. *Marchler-Bauer A., Bryant S. H.* CD-Search: protein domain annotations on the fly // *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32. P. 327–331. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh454>.
24. *Marfella C. G. A., Imbalzano A. N.* The Chd family of chromatin remodelers // *Mutat. Res.* 2007. Vol. 618. P. 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.07.012>.
25. *Mizukami M., Ishikawa A., Miyazaki S.* et al. A de novo CHD3 variant in a child with intellectual disability, autism, joint laxity, and dysmorphisms // *Brain Dev.* 2021. Vol. 43. P. 563–565. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2020.12.004>.
26. *Murawska M., Brehm A.* CHD chromatin remodelers and the transcription cycle // *Transcription.* 2011. Vol. 2. P. 244–253. <https://doi.org/10.4161/trns.2.6.17840>.
27. *Nitarska J., Smith J. G., Sherlock W. T.* et al. A functional switch of NuRD chromatin remodeling complex subunits regulates mouse cortical development // *Cell Rep.* 2016. Vol. 17. P. 1683–1698. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.10.022>.
28. *Pascual P., Tenorio-Castano J., Mignot C.* et al. Snijders Blok-Campeau syndrome: description of 20 additional individuals with variants in CHD3 and literature review // *Genes (Basel).* 2023. Vol. 14. P. 1664. <https://doi.org/10.3390/genes14091664>.
29. *Ryan D. P., Owen-Hughes T.* Snf2-family proteins: chromatin remodellers for any occasion // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2011. Vol. 15. P. 649–656. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.07.022>.
30. *Schuster E. F., Stöger R.* CHD5 defines a new subfamily of chromodomain-SWI2/SNF2-like helicases // *Mamm. Genome.* 2002. Vol. 13. P. 117–119. <https://doi.org/10.1007/s00335-001-3042-6>.
31. *Snijders Blok L., Rousseau J., Twist J.* et al. CHD3 helicase domain mutations cause a neurodevelopmental syndrome with macrocephaly and impaired speech and language // *Nat. Commun.* 2018. Vol. 9. P. 4619. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06014-6>.
32. *van der Spek J., den Hoed J., Snijders Blok L.* et al. Inherited variants in CHD3 show variable expressivity in Snijders Blok-Campeau syndrome // *Genet. Med.* 2022. Vol. 24. P. 1283–1296. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.02.014>.
33. *Varughese R. T., Cohen D. J., Kothare S. V., Maytal J.* Prenatal external hydrocephalus in Snijders Blok-Campeau syndrome // *Neurol. India.* 2023. Vol. 71. P. 863. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.383859>.
34. *Wilson M.-M., Henshall D. C., Byrne S. M., Brennan G. P.* CHD2-related CNS pathologies // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. P. 588. <https://doi.org/10.3390/ijms22020588>.
35. *Woodage T., Basrai M. A., Baxevanis A. D.* et al. Characterization of the CHD family of proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. P. 11472–11477. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.21.11472>.
36. *Xie J., Gao S., Schafer C.* et al. The chromatin-remodeling enzyme CHD3 plays a role in embryonic viability but is dispensable for early vascular development // 2020. *PloS One.* Vol. 15 (7). P. e0235799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235799>.

Стаття надійшла до редакції 19.03.24

доопрацьована 04.04.24

прийнята до друку 05.04.24

**SNIJDERS BLOK-CAMPEAU SYNDROME:
A NOVEL NEURODEVELOPMENTAL GENETIC DISORDER****O. Yushchuk*, I. Ruda, V. Fedorenko***Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: oleksandr.yushchuk@lnu.edu.ua

Snijders Blok-Campeau syndrome is a recently discovered genetic disorder characterized by childhood apraxia of speech, delays in intellectual development, and a plethora of other neurodevelopmental disorders (e.g., vision disorders, muscle atony, etc.). In most cases, Snijders Blok-Campeau syndrome results from *de novo* mutations in the *CHD3* gene, which encodes chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3 (CHD3). However, the literature also describes cases of inherited mutations in *CHD3*. In these cases, heterozygous parents carrying a mutant variant in the *CHD3* gene may lack features of Snijders Blok-Campeau syndrome or exhibit a mild manifestation of the syndrome, while their offspring, carrying the same *CHD3* mutations in heterozygous form, exhibit a complete set of features of Snijders Blok-Campeau syndrome. This phenomenon has yet to be clearly explained. Only two cases of Snijders Blok-Campeau syndrome caused by homozygous *CHD3* mutations have been described in the literature. Notably, the majority of described mutations in *CHD3* are point missense mutations. CHD3 is a chromatin remodeling protein and a crucial component of the nucleosome remodeling and deacetylase (NuRD) complex, which is important for gene regulation during brain development. The two-domain region of CHD3 with ATP-dependent helicase activity is the most important part of the protein. Although the majority of mutations causing Snijders Blok-Campeau syndrome are found in the part of *CHD3* encoding this region with ATP-dependent helicase activity, it has been impossible to draw a clear correlation between the localization of the mutations and the severity of the phenotype. To date, no documented cases of Snijders Blok-Campeau syndrome have been reported in Ukraine. In this work, we aim to provide a comprehensive review of the features of Snijders Blok-Campeau syndrome to facilitate identification and genetic diagnostics of the syndrome.

Keywords: Snijders Blok-Campeau syndrome, genetic disorder, *CHD3*, chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3

**МОХОПОДІБНІ ПАРКУ-ПАМ'ЯТКИ САДОВО-ПАРКОВОГО МИСТЕЦТВА
МІСЦЕВОГО ЗНАЧЕННЯ «СНОПКІВСЬКИЙ» (М. ЛЬВІВ)**

З. Мамчур¹, М. Рагуліна^{1,2}, О. Орлов², Ю. Драч¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна

²Державний природознавчий музей НАН України

вул. Театральна, 18, Львів 79008, Україна

e-mail: zvenyslava.mamchur@lnu.edu.ua

maryna.rahulina@lnu.edu.ua

orlov0632306454@gmail.com

Наведено видовий склад і субстратну приуроченість мохоподібних на території парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення «Снопківський» в урбоекосистемі Львова. Бріофлора території Снопківського парку налічує 61 вид мохоподібних із відділів Marchantiophyta і Bryophyta. Розподіл провідних родин у флористичному спектрі відображає специфіку локальних умов парку через високі положення родин *Brachytheciaceae*, *Orthotricaceae*, *Pottiaceae*, *Bryaceae*. Саме ці родини охоплюють 45,9 % загального видового багатства, характерного для більш посушливих зон, що вказує на аридизованість міського мікроклімату. Водночас, хороша представленість неморально- та бореально-лісових родин *Mniaceae*, *Amblystegiaceae*, *Hypnaceae* (21,3 % загального видового багатства) відображає природні особливості території (зона широколистяних лісів), які спонтанно відтворилися на частині території парку або були створені штучно в декоративних насадженнях. Саме у спонтанно залісненій частині парку зосереджена найбільша кількість видів мохоподібних із найряснішим покривом. Слабка представленість маршанціофітів свідчить про значний ступінь антропоїзації досліджуваної міської екосистеми. У парку мало місце збільшення кількості антропогенних екоотопів, для бріофітів це проявляється у значному збільшенні частки епілітних видів. Така тенденція загалом характерна для багатьох міст і міських парків.

Зі созологічної точки зору, найбільшу цінність мають ділянки природної мохової рослинності, що збереглися у ярах і на старих кар'єрах. Там у складі епігейних, епіфітних і епіксільних обростань трапляються антропофобні види, не характерні для інтенсивно урбанізованих територій. Раритетних видів мохоподібних у межах парку не виявлено, проте в озері «Зелене око» знайдено рідкісний для урбанізованих територій вид плейстонного печіночного моху *Riccia fluitans*. Специфічним субстратом для мохоподібних є вапняковий туф, який відкладається у руслі твердоводних струмків на витоках Снопківського потоку, де виявлено діагностичні для туфогенних джерел рівнинних і передгірських районів Європи види: *Apopellia endiviifolia*, *Cratoneuron filicinum* та *Platyhypnidium riparoides*. Амфібійні (насамперед кальцієфільні туфоутворювачі) і вільноплавучі види мохоподібних однаково не є типовими для урбанізованих екосистем і трапляються тут лише спорадично, що підкреслює природоохоронну роль досліджуваного парку для збереження їхніх мікрооселищ у межах міста. Для повноцінного функціонування Снопківського парку як напівприродної екосистеми важливим є збереження заліснених територій,

а наявність, видовий склад і просторове покриття мохоподібних є індикаційними ознаками їхньої природної цілісності.

Ключові слова: мохоподібні, субстратні групи, частота трапляння, антропогенна трансформація, Снопківський парк, урбоекосистема, м. Львів

Мохоподібні – обов’язковий компонент як природних, так і урбанізованих екосистем, який бере безпосередню участь у підтриманні їхньої стійкості й розширює загальне біорізноманіття. Важливість мохоподібних в антропоценозах зумовлена їхніми піонерними властивостями (зокрема, здатністю заселяти різноманітні субстрати, навіть штучні), адаптацією до специфіки міського мікроклімату (з підвищеною стосовно зональних норм температурою та сухістю), витривалістю до різного роду забруднень тощо. Останніми десятиліттями мохоподібні викликають посилений інтерес дослідників біорізноманіття, оскільки вони є середовищем життя для інших організмів, а також стали об’єктом зацікавлення ландшафтних дизайнерів [12, 19].

В урбоекосистемі Львова створилися різноманітні умови для розвитку мохоподібних. Щоби відповісти на складне питання, як пристосувати цю групу рослин до умов із різним рівнем антропогенного тиску в умовах урбоекосистеми, насамперед важливо встановити видовий склад і субстратну приналежність мохоподібних на території, яка піддавалася антропогенним змінам упродовж тривалого часу. Саме для парку-пам’ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення «Снопківський» характерні значні зміни природних екосистем, де на сучасному етапі наявні переважно штучні насадження.

Вивчення бріофлори Львова й околиць відомі зі середини XIX ст. [4], однак із території Снопківського парку даних немає. Наші дослідження передбачали інвентаризацію видового складу мохоподібних, аналіз літературних джерел, вивчення характеру та закономірностей субстратного розподілу видів мохоподібних.

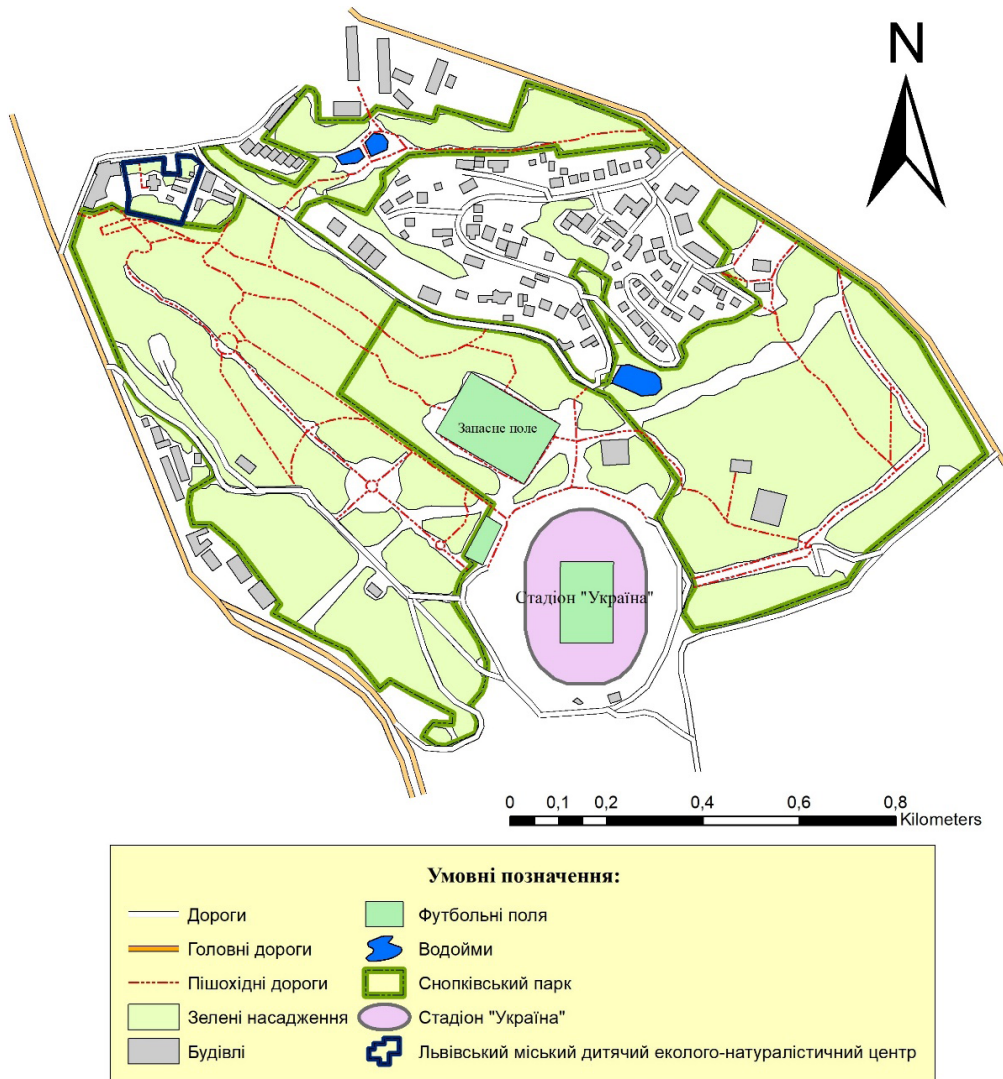
Матеріали та методи

Польові дослідження проводили традиційним маршрутним методом упродовж вегетаційного періоду 2016–2022 рр. у різні сезони. У роботі використано матеріали власних польових досліджень, збір зразків включав детальні описи субстратів. У парку обстежено різні за гетерогенністю насаджень і функційним поділом території, зокрема: спонтанного заліснення (яри та кар’єри, де рослинність відновилася самочинно), партерну зону декоративних насаджень і зону навколо водойм: озер та твердоводних струмків, що їх живлять. За приуроченістю до певного типу субстрату виділяли такі групи: St – камінь; StA – штучний кам’янистий; SG – ґрунт із гравієм або піщаний; SO – оголений ґрунт; SV – серед трав’яних рослин на ґрунті; WR – гнила деревина; WL – форофіти (стовбури); WS – форофіти (окоренки); AM – водне та навколоводне середовище, T – вапняковий туф. Сума відсотків усіх субстратних груп перевищує 100 %, тому що значна кількість видів заселяє більш ніж один тип субстрату (2–3) або є полісубстратними (>3). Частоту трапляння вказано в межах від 1 до 3: 1 – поодинокі, 2 – спорадично, 3 – часто (звичайний вид). Зразки мохоподібних ідентифікували у лабораторних умовах за морфологічними й анатомічними особливостями, використовуючи як визначники, так і описи з різних джерел літератури. Назви таксонів мохоподібних прийнято за N. Hodgetts [9] та В. Вірченко [3]. Аналіз рідкісних і зникаючих видів здійснено за працею М. Бойка [2].

Територія досліджень

Парк «Снопківський» – лісопарк у Галицькому районі Львова, пам’ятка садово-паркового мистецтва місцевого значення, закладений у 1958 р. як функціональний

спортивний парк площею 35,66 га між вулицями Липова Алея, Стуса, Кримська та Зелена. Назва походить від місцевості Снопків. Зазнала значних змін і територія Снопківського узгір'я: природна лісова рослинність Львівського плато (букові та дубово-грабові ліси) не збереглась, і до початку ХХ ст. територія парку розвивалась як активна промислова зона Львова, де виготовляли будівельні матеріали. Джерела й потічки давали воду численним водоймам, у тому числі технічним ставкам і озерам. На території штучного каскаду озер «Зелене око» у першій третині ХХ ст. збудовано невеличку купальню з пляжем і дерев'яним купальним будинком. Після Другої світової війни на території сучасного парку був пустир із піщаними та глиняними кар'єрами колишніх цегельних і кахельних заводів. Упродовж 1960–1963 рр. на Снопківських пагорбах збудували найбільший на ті часи стадіон «Дружба»



Картосхема парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення «Снопківський» (49° 49' 14.1" N, 24° 2' 38.6" E)

(тепер «Україна»). Одночасно зі стадіоном на місці колишніх кар'єрів цегляних заводів розпланували парк «Дружба». Вже в 1959 р. було цілковито вирівняно територію в 60 га, заповнено колишні кар'єри, насипано шар ґрунту, придатний для зелених насаджень. У середині ХХ ст. в парку висадили понад 200 видів дерев і чагарників. У 1984 р. цей комплекс став пам'яткою садово-паркового мистецтва місцевого значення. У 90-х рр. ХХ ст. його перейменували на «Снопківський». У 2022 р. рішенням Львівської обласної ради площу парку збільшено до 47,1853 га за рахунок земель комунальної власності Львівської міської ради. Частина території парку займають Львівський міський еколого-натуралістичний центр і Дендропарк імені Бенедикта Дибовського (див. рисунок). На сьогодні парк відіграє вагомую роль як рекреаційний і природоохоронний об'єкт урбанізованої екосистеми Львова [8].

Верхнє плато від вул. Стуса і нижнє від вул. Зеленої мають регулярне планування, решта території спланована у ландшафтному стилі. На верхньому та нижньому плато створено регулярну мережу алей і доріжок. Насадження Снопківського парку – це декоративні алеї, біогрупи, окремі солітерні посадки із *Acer platanoides* L., *Tilia cordata* Mill., *Aesculus hippocatanum* L. і різноманітних деревних інтродуцентів. Головні алеї складаються із *Chamaecyparis pisifera* (Siebold & Zucc.) Endl. (з боку вул. Зеленої), біля стадіону – понищена лінійна посадка *Picea glauca* (Moench) Voss, алея із *Acer platanoides* і *Aesculus hippocatanum*. Екзотами є *Abies concolor* (Gordon & Glend.) Lindl. ex Hildebr., *Picea pungens* Engelm. ф. *glauca*, *Pinus nigra* J.F. Arnold, *P. ponderosa* Douglas ex Lawson, *Cotinus coggygria* Scop. та ін.

Результати і їхнє обговорення

За даними наших досліджень встановлено видовий склад мохоподібних: 61 вид із двох відділів: Marchantiophyta (6 видів) та Bryophyta (55 видів).

Розподіл провідних родин у флористичному спектрі відображає специфіку локальних умов парку через високі положення ксеротермофільних родин *Brachytheciaceae* (11 видів), *Orthotricaceae* (7), *Pottiaceae* (6), *Bryaceae* (4). Саме ці родини охоплюють 45,9 % загального видового багатства, характерного для більш посушливих зон, що вказує на аридизованість міського мікроклімату порівняно із зональним. Водночас, хороша представленість неморально- та бореально-лісових родин *Mniaceae* (6), *Amblystegiaceae* (4), *Hypnaceae* (3) (21,3 % загального видового багатства) відображає природні особливості території (зона широколистяних лісів), які спонтанно відтворилися на частині території парку або були створені штучно у декоративних насадженнях.

Для повноцінного функціонування Снопківського парку як напівприродної екосистеми важливим є збереження заліснених територій, а наявність, видовий склад і проєктивне покриття мохоподібних є індикаційними ознаками їхньої природної цілісності [10].

Найбільша кількість видів мохоподібних (46 видів) із найряснішим покривом (проєктивне вкриття становить до 90 %) зосереджено у спонтанно залісненій частині парку. Специфічним складом відзначається старий піщаний кар'єр, розташований на мисі між двома ярами, що прилягають до партерної частини по вул. Зеленої і тягнуться по схилу до вул. Кримської, де закінчуються невеличким озером. На кар'єрі трапляються такі нетипові для міської території види мохів як лісові *Rhytidiadelphus squarrosus*¹, *Thuidium delicatulum* і *Abietinella abietina*, що преферують легкі (піщані) субстрати, серед трави знайдено *Climacium dendroides*. Також тут виявлено лучні види – *Homalothecium lutescens*, *Brachythecium campestre*.

У заліснених ярах трапляються типово лісові види на відслоненнях ґрунту й окоренках дерев: *Atrichum undulatum*, *Plagiomnium* sp. тощо. На відмерлій деревині

¹ Автори видів наведені у таблиці.

крайніх стадій розкладу знайдено облігатно-кислофільний печіночний мох *Lepidozia reptans*. Поширені полісубстратні види *Hypnum cupressiforme* та *Brachythecium rutabulum*. На старому згарищі знайдено рясні обростання *Funaria hygrometrica*, *Ceratodon purpureus* і *Ptychostomum imbricatum* – типових постпірогенних піонерів космополітного поширення.

У партерній частині парку зафіксовано 34 види. Більшість мохоподібних тут зосереджено на корі дерев, особливо старих. Мохоподібні заселяють як вертикальні поверхні – стовбури дерев, так і горизонтальні – скелетні гілки та коріння (окоренки). На освітлених поверхнях стовбурів, що добре прогріваються, найчастіше трапляються обростання за домінування представників ксеротермофільної родини *Orthotricaceae*. На окоренках дерев, як правило, оселяються *Hypnum cupressiforme* та *Brachythecium rutabulum* з незначною домішкою інших видів – *Pseudoleskeella nervosa*, *Leskea polycarpa*; ці ж види панують в обростаннях мертвої деревини. Значні площі партерної частини зайняті асфальтованими доріжками та різного роду бетонними конструкціями (сходами, бордюрами та ін.), що є сприятливим субстратом для поселення космополітних видів (*Bryum argenteum*, *Ceratodon purpureus*, *Grimmia pulvinata*, *Schistidium apocarpum*, *Syntrichia ruralis*, *Tortula muralis*).

На території навколо озер і струмків знайдено 17 видів мохоподібних. Трапляються як амфібійні види мохів (*Drepanocladus aduncus*, *Hygroamblystegium varium* і *Calliergonella cuspidata*), так і бріофіти широкої екології (*Ceratodon purpureus*, *Bryum argenteum*, *Ptychostomum imbricatum* тощо). В озері «Зелене око» виявлено рідкісний для урбанізованих територій вид плейстонного печіночного моху – *Riccia fluitans*. Поширення *Apopellia endiviifolia*, *Cratoneuron filicinum* і *Platyhypnidium riparoides* приурочено до специфічного оселища джерел твердої води, що височуються на північній межі парку та на витоках озер «Зелене око» при вул. Кримській. Усі виходи джерел є помітно антропоізовані, кілька з них – каптовані металевими трубами. Туфові формації, що маркують раритетне оселище (Natura-2000: petrifying springs with tufa formation – 7220), розвинені тут надзвичайно слабо і представлені дрібними ініціальними формами переважно хомогенного характеру. Первинні слабкозцементовані бріоліти утворюються лише «точково» під дернинами *Cratoneuron filicinum* і *Platyhypnidium riparoides* та не формують суцільного масиву. Все це не дає підстави ідентифікувати цей локус як осередок «Natura-2000: 7220», хоча такий тип оселища все ж трапляється на теренах м. Львова (РЛП «Знесіння» [13] та лісопарк Винниківський [6]).

За даними наших досліджень зазначимо, що найсприятливіший субстрат для мохоподібних у межах парку – це деревина (жива і мертва), що загалом є зональною нормою для зони широколистяних лісів, у межах якої розташоване м. Львів. Загалом виявлено 30 видів епіфітів і епіксилів (див. таблицю). Серед мохоподібних, які заселяють живі дерева (WL, WS), відзначено 27 видів. Найчастіше вони колонізують *Acer platanoides*, *A. pseudoplatanus* L., *A. negundo*, *Fraxinus excelsior* L., *Populus alba* L., *P. nigra*, *Tilia cordata* – на цих форофітах видовий склад бріоугруповань є найбагатшим, а епіфітні обростання найряснішими. На інших видах дерев (*Aesculus hippocatanum*, *Crataegus* sp., *Fagus silvatica* L.) мохоподібні трапляються рідше. Мертва деревина (пеньки, повалені стовбури, обламані гілки тощо) здебільшого зосереджена у спонтанно залісненій зоні парку і набагато слабше представлена у партерній, звідки її вилучають під час упорядкування території. На цьому субстраті (WR) знайдено 18 видів мохоподібних. Зазначимо, що облігатних епіксилів, строго приурочених до деревних решток середніх ступенів розкладу, відзначено лише два види: *Lepidozia reptans* і *Herzogiella seligeri*. На пнях і колодах переважно трапляються звичайні екологічно-пластичні види мохоподібних, такі як *Amblystegium serpens*, *Hypnum*

cupressiforme, *Brachytheciastrum velutinum*, *Brachythecium rutabulum*, *Pyloisia polyantha*, *Platygyrium repens*. Слабка представленість маршанціофітів свідчить про значний ступінь антропоїзації досліджуваної міської екосистеми, що впливає як прямо (брак відповідних оселищ), так і опосередковано (через загальну ксерофітизацію умов виростання). Така тенденція властива багатьом містам і міським паркам [14, 17, 18]. Для флори епіфітних і епіксільних мохоподібних Снопківського парку характерні такі ж процеси, як і для урбоекосистеми Львова загалом. Насамперед це спрощення структури флори та втрата її специфічності [4, 5, 13–16].

Ґрунтові відслонення (SO, SG) у Парку трапляються на стежках і обабіч них, серед газонів, на еродованих стрімких схилах тощо. Рухомі (піщані та гравійні) й переушліненні субстрати (спортивні майданчики) колонізують невибагливі піонерні види: *Bryum argenteum*, *Ceratodon purpureus*, *Ptychostomum imbricatulum* тощо. Еродовані ділянки схилів у залісненій частині парку заселяють *Atrichum undulatum* і *Plagiomnium* sp. – типово лісові види, які активно репарують різного виду ґрунтові відслонення, як природні, так і антропогенні [7]. У наземному покриві газонів (SV) звичайними є лучні види (*Brachythecium campestre*, *B. glareosum*, *Homalothecium lutescens*, *Oxyrrhynchium hians*), серед трави трапляються лісові *Rhytidiadelphus squarrosus* і *Abietinella abietina*. Всього епігейна група в умовах парку налічує 23 види мохоподібних, із них на ґрунті з гравієм або на піщаному ґрунті 14, на оголеному ґрунті 6 та серед трави 13.

Кам'яністі субстрати заселяють 19 видів: переважна більшість надає перевагу природному камінню (18 видів), тоді як на штучних поверхнях (асфальт, цемент, бетон) трапляються 13 видів. Серед останніх – переважно невибагливі рудеральні мохоподібні, характерні для території міста. На вапняковій брилі в кар'єрній виїмці знайдено літофільний кальцієфіл *Fissidens crispus*. Збільшення кількості та площ техногенних екоотопів, придатних для заселення мохоподібними, проявляється у значному збільшенні частки епілітних видів у міських бріофлорах [11, 13–15].

Специфічним субстратом для мохоподібних є вапняковий туф (Т), який відкладається у руслі твердоводних струмків на витоках Снопківського потоку, зокрема – під дернинами мохоподібних за їхньої безпосередньої участі. Тут трапляються 12 видів, із них 3 – діагностичні для туфогенних джерел рівнинних і передгірських районів Європи: печіночник *Apopellia endiviifolia*, листкостеблові мохи *Cratoneuron filicinum* і *Platyhypnidium riparoides* [6]. Водні та навколводні види (АМ) представлені двома підгрупами: амфібійною та плейстонною. Першу в умовах парку формують 6 видів за домінування *Drepanocladus aduncus* і *Calliergonella cuspidata*, другу – лише вид *Riccia fluitans*. Зауважимо, що амфібійні (насамперед кальцієфільні туфоутворювачі) й вільноплавучі види мохоподібних однаково не є типовими для урбанізованих екосистем і трапляються тут лише спорадично, що підкреслює природоохоронну роль досліджуваного парку для збереження їхніх мікрооселищ у межах міста.

Зі созологічної точки зору, найбільшу цінність мають ділянки старих кар'єрів і яри, де склались умови, наближені до природних, а також витоки твердоводних струмків. Тут, у складі епігейних, епіфітних і епіксільних обростань трапляються антропофобні види, не характерні для інтенсивно урбанізованих площ. Проте раритетних видів мохоподібних у межах парку не виявлено.

Загалом, урбанобріофлорам властиве переважання ксерофітів і випадання вологолюбних видів [1, 13]. Зазначимо, що мохоподібні в урбанізованій екосистемі лімітовані цілою низкою екологічних чинників – від наявності відповідних субстратів до мікрокліматичних умов. Інтенсивність міського «теплого острова» трохи згладжується

у парках і лісопарках. Таким чином, паркам і лісопаркам в умовах урбоєкосистем властиве значне різноманіття бріофітів, які зайняли свою нішу і не лише стали певним доповненням до фототрофного блоку, але і слугують розширенню біорізноманіття, створюючи умови для заселення іншою біотою [15, 16].

Збереження зелених зон у щільній міській забудові необхідне як для різноманітності й багатства флори мохоподібних, так і для створення комфортних кліматичних і естетичних цінностей для міських жителів [20].

Поширення та частота трапляння мохоподібних
на різних типах субстратів парку «Снопківський»

Вид	St	StA	SG	SO	SV	WR	WL	WS	AM	T
Marchantiophyta										
<i>Apopellia endiviifolia</i> (Dicks.) Nebel & D.Quandt										1
<i>Conocephalum conicum</i> (L.) Dum.									1	
<i>Lepidozia reptans</i> (L.) Dumort.								1		
<i>Marchantia polymorpha</i> L.									1	
<i>Radula complanata</i> (L.) Dumort.						1				
<i>Riccia fluitans</i> L.									1	
Bryophyta										
<i>Abietinella abietina</i> (Hedw.) Fleisch.					2					
<i>Amblystegium serpens</i> (Hedw.) Schimp.	1	2		2	2	2	2	1		
<i>Atrichum undulatum</i> (Hedw.) P. Beauv.			2					2		
<i>Barbula unguiculata</i> Hedw.	2	3	2							
<i>Brachytheciastrum velutinum</i> (Hedw.) Ignatov et Huttunen	1				1	1	3	2		1
<i>Brachythecium albicans</i> (Hedw.) Schimp.			1							
<i>Brachythecium campestre</i> (Müll. Hal.) Schimp.			1		1					
<i>Brachythecium glareosum</i> (Bruch ex Spruce) Schimp.			1	1	1					
<i>Brachythecium rutabulum</i> (Hedw.) Schimp.	1	1				2	2	3		2
<i>Brachythecium salebrosum</i> (Hoffm. ex F. Weber & D. Mohr) Schimp.			1		1	1		1		
<i>Bryum argenteum</i> Hedw.	2	3								
<i>Calliergonella cuspidata</i> (Hedw.) Loeske					1				1	1
<i>Ceratodon purpureus</i> (Hedw.) Brid.	2	3	2	2	2					
<i>Climacium dendroides</i> (Hedw.) F. Weber & D. Mohr					1					
<i>Cratoneuron filicinum</i> (Hedw.) Spruce			1							2
<i>Dicranella varia</i> (Hedw.) Schimp.						1				
<i>Drepanocladus aduncus</i> (Hedw.) Warnst.									1	
<i>Fissidens crispus</i> Mont.	1									1
<i>Fissidens taxifolius</i> Hedw.			2						1	2
<i>Funaria hygrometrica</i> Hedw.		2	2						1	
<i>Grimmia pulvinata</i> (Hedw.) Sm.	1	1								
<i>Herzogiella seligeri</i> (Brid.) Z. Iwats.						1				
<i>Homalothecium lutescens</i> (Hedw.) H. Rob.					2					
<i>Hygroamblystegium varium</i> (Hedw.) Mönk.	1					2	1	2		3
<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw.	2	2				2	2	3		
<i>Leskea polycarpa</i> Hedw.						2	3	3		
<i>Lewinskya affinis</i> (Schrad. Ex Brid.) F. Lara, Garilleti & Goffinet							1			
<i>Lewinskya speciosa</i> (Nees) F. Lara, Garilleti & Goffinet						3	2			
<i>Lewinskya striata</i> (Hedw.) F. Lara, Garilleti & Goffinet							3			
<i>Mnium marginatum</i> (Dicks.) P. Beauv.	1									
<i>Nyholmiella obtusifolia</i> (Brid.) Holmen & E. Warncke						1	1			
<i>Orthotrichum diaphanum</i> Brid.	2					1	3			
<i>Orthotrichum pallens</i> Bruch ex Brid.						2	2			
<i>Orthotrichum pumilum</i> Sw. exanon.							3			
<i>Oxyrrhynchium hians</i> (Hedw.) Loeske				1	2					
<i>Plagiomnium cuspidatum</i> (Hedw.) T. Kop.			2		1	2		2		1
<i>Plagiomnium elatum</i> (Bruch & Schimp.) T. J. Kop.								1		

Закінчення таблиці

Вид	St	StA	SG	SO	SV	WR	WL	WS	AM	T
<i>Plagiomnium rostratum</i> (Schröd.) T.J.Kop	1							2		2
<i>Plagiomnium undulatum</i> (Hedw.) T.J.Kop.			2	1		1		3		3
<i>Platygyrium repens</i> (Brid.) Schimp.						2	3			
<i>Platyhypnidium riparoides</i> (Hedw.) Dixon										2
<i>Pseudoleskeella nervosa</i> (Brid.) Nyholm							1	2		
<i>Ptychostomum capillare</i> (Hedw.) Holyoak & N.Pedersen							2	2		
<i>Ptychostomum imbricatum</i> (Müll.Hal.) Holyoak & N.Pedersen	2	2								
<i>Ptychostomum moravicum</i> (Podp.) Ros et Mazimpaka						1				
<i>Pylaisia polyantha</i> (Hedw.) Schimp.						3	2			
<i>Rhynchostegium murale</i> (Hedw.) Schimp.	2	1								
<i>Rhytidiadelphus squarrosus</i> (Hedw.) Warnst.					2					
<i>Schistidium apocarpum</i> (Hedw.) Bruch et Schimp.	2	2								
<i>Sciuro-hypnum populeum</i> (Hedw.) Ignatov & Huttunen							2			
<i>Syntrichia papillosa</i> (Wilson) Jur.							1			
<i>Syntrichia ruralis</i> (Hedw.) F.Weber & D.Mohr	2	2	2							
<i>Tortula lindbergii</i> Broth.			1							
<i>Tortula muralis</i> Hedw.	2	2								
<i>Tortula truncata</i> (Hedw.) Mitt.				1						

Примітки: Субстрати: St – камінь; StA – штучний кам'янистий; SG – ґрунт із гравієм або піщаний; SO – оголений ґрунт; SV – серед трав'яних рослин на ґрунті; WR – гнила деревина; WL – форофіти (стовбури); WS – форофіти (окоренки); AM – водне та навколоводне середовище, T – вапняковий туф.

Частоту трапляння вказано в межах від 1 до 3: 1 – поодинокі, 2 – спорадично, 3 – часто (звичайний вид).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барсуков О. О. Бріофлора урбанізованих територій Харківської області // Чорноморськ. ботан. журнал. 2014. 10. № 3. С. 305–321.
2. Бойко М. Ф. Червоний список мохоподібних України. Рідкісні та зникаючі види мохоподібних України / відп. ред. О. Є. Ходосовцев. Херсон: Айлант, 2010. 112 с.
3. Вірченко В. М., Нипорко С. О. Продромус спорових рослин України: мохоподібні. К.: Наук. думка, 2022. 177 с.
4. Мамчур З. І. Антропогенна трансформація епіфітної бріофлори м. Львова та його околиць // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 135–141.
5. Мамчур З. І. Урбаніфіційні епіфітні мохоподібні // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 54. С. 115–122.
6. Орлов О. Л., Рагуліна М. Є., Дмитрук Р. Я. та ін. Травертинові джерела східних околиць Львова – цінні об'єкти живої та неживої природи // Проблеми геоморфології і палеогеографії Українських Карпат і прилеглих територій. 2023. Вип. 1 (15). С. 133–153. <https://doi.org/10.30970/gpc.2023.1.3952>
7. Рагуліна М. Є. Наземні мохи (Bryophyta) як індикатори рекреаційних впливів на лісові екосистеми (на прикладі Яворівського національного парку) // Наукові основи збереження біотичної різноманітності: темат. зб. Ін-ту екології Карпат НАН України. 2010. 1 (8). № 1. С. 117–124.
8. Снопківський парк. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://parky.lviv.ua/parky-lvova/snopkivskyu-park/>
9. Hodgetts N. G., Söderström L., Blockeel T. L. et al. Annotated checklist on bryophytes on Europe, Macaronesia and Cyprus // J. Bryol. 2020. Vol. 42 (1). P. 1–116. <https://doi.org/10.1080/03736687.2019.1694329>

10. *Frego K. A.* Bryophytes as potential indicators on forest integrity // *Forest ecology and management*. 2007. Vol. 242 (1). P. 65–75.
11. *Fudali E.* Influence on city on the floristical and ecological diversity on bryophytes on parks and cemeteries. *Biodivers. Res. Conservation*, 2006. Vol. 1–2. P. 131–137.
12. *Garrard G.E., Williams N.S.G., Mata L.* et al. Biodiversity Sensitive Urban Design // *Conserv. Lett.* 2018. P. 1–10.
13. *Mamchur Z., Chuba M.* The ecological features on synanthropic flora on dense housing area on Lviv // *Biol. Stud.* 2016. Vol. 10 (1). P. 143–154.
14. *Mamchur Z., Drach Yu., Danylkiv I.* Bryoflora on the “Pohulyanka” forestpark (Lviv city). I. Changes on taxonomic composition under antropogenic transformation // *Biol. Stud.* 2018. Vol. 12 (1). P. 99–112. <https://doi.org/10.30970/sbi.1201.542>
15. *Mamchur Z., Drach Yu., Antonyak H.* Ecological features and synanthropization on bryoflora on the Pohulyanka forest park (Lviv city, Ukraine). *Contribuții Botanice*. 2020. Vol. 55. P. 83–95. <https://doi.org/10.24193/Contrib.Bot.55.5>
16. *Mamchur Z., Drach Yu., Ragulina M.* et al. Substrate groups of bryophytes on the territory on the Znesinnya regional landscapepark (Lviv, Ukraine) // *Contribuții Botanice*. 2021. Vol. 56. P. 65–77. <https://doi.org/10.24193/Contrib.Bot.56.7>
17. *Sabovljević M., Grdović S.* Bryophyte Diversity Within Urban Areas: Case Study on the City on Belgrade (Serbia) // *Internat. Journ. on Botany*. 2009. Vol. 5. P. 85–92.
18. *Sabovljević M., Sabovljević A.* Biodiversity within urban areas: A case study on bryophytes on the city on Cologne (NRW, Germany) // *Plant Biosystems*. 2009. Vol. 143. N 3. P. 473–481.
19. *Zechmeister H. G., Kropik M.* The Bryophyte Flora of Vienna // *Plants*. 2023. Vol. 12 (16). 3002. <https://doi.org/10.3390/plants12163002>
20. *Żołnierz L., Fudali E., Szymanowski M.* Epiphytic Bryophytes in an Urban Landscape: Which Factors Determine Their Distribution, Species Richness, and Diversity? A Case Study on Wrocław, Poland // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022. Vol. 19. N 10. P. 6274. <https://doi.org/10.3390/ijerph19106274>

Стаття надійшла до редакції 18.03.24

доопрацьована 02.05.24

прийнята до друку 08.05.24

**BRYOPHYTES OF LOCAL PARK – MONUMENT
OF LANDSCAPE GARDENING “SNOPKIVSKY” (LVIV CITY)****Z. Mamchur¹, M. Ragulina^{1,2}, O. Orlov², Yu. Drach¹**¹ *Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*² *State Museum of Natural History, NAS of Ukraine
18, Teatralna St., Lviv 79008, Ukraine**e-mail: zvenyslava.mamchur@lnu.edu.ua
maryna.rahulina@lnu.edu.ua
orlov0632306454@gmail.com*

The species diversity and substratum preferences of Bryophytes in the territory of the local park-monument park “Snopkivsky” in the urban ecosystem of Lviv are given in the article. The bryoflora of the Snopkivsky Park includes 61 species of bryophytes from the divisions Marchantiophyta and Bryophyta. The high position of the families *Brachytheciaceae*, *Orthotricaceae*, *Pottiaceae*, *Bryaceae* in the floristic spectrum reflects the specificity of the park’s local conditions. The percentage of these families in the floristic spectrum is 45.9 % of the total species richness. This distribution is characteristic of aridic natural zones, which indicates the dry condition of the urban microclimate. At the same time, a good representation of the boreal and nemoral forest families such as *Mniaceae*, *Amblystegiaceae*, *Hypnaceae* (21.3 % of the total species richness) reflects the natural features of the territory (the zone of broad-leaved forests), which spontaneously reproduced on part of the Park territory or were created artificially in ornamental gardening. In this part of the Park with spontaneous silvatisation the largest number of bryophyte species is concentrated and the moss cover is the most abundant. Poor representation of Marchantiophytes indicates a significant degree of anthropization of the studied urban ecosystem. There is an increase in the number of anthropogenic ecotopes in the Park, which is reflected in a significant upgrowth in the fraction of epilithic bryophyte species. Ravines and abandoned quarries have the greatest conservation value for mosses on the Park territory. Some anthropophobic species as components of epigeic, epiphytic and epixylic substrates groups, which are not characteristic of intensively urbanized areas, are occur here. No rare bryophyte species were found within the park. However, floating liverwort *Riccia fluitans*, which is not typical for urban areas in general, was found in the Zelene Oko lake. Calcareous tufa deposited in the bed of hard-water streams at the headwaters of the Snopkivsky stream is a specific habitat for bryophytes. Indicators for hard-water springs with tufa formation of European lowland arias bryophytes species (*Apopellia endiviifolia*, *Cratoneuron filicinum* and *Platyhypnidium riparoides*) were found here. Amphibious (primarily calciphilic tufa-forming) and free-floating bryophyte species are equally not typical for urbanized ecosystems and occur here only sporadically: this fact underlines the conservation value of the researched park for the preservation of bryophytes microhabitats within the city boundaries. The conservation of silvatic areas, both spontaneous and artificial, is an important condition for the effective functioning of the park as a semi-natural ecosystem. The diversity of bryophytes, their species composition and cover abundance are indicative of the integrity of urban ecosystems on the territory of the park “Snopkivsky”.

Keywords: Bryophytes, substrata groups, abundance, anthropogenic transformation, park “Snopkivsky”, Lviv urboecosystem

ТРАНСФОРМАЦІЯ ОСЕЛИЩ І ЇЇ ВПЛИВ НА ЗООБІОТУ

**Й. Царик, О. Решетило, О. Іванець, К. Назарук, О. Гнатина,
І. Шидловський, В. Лєснїк**

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

Розглянуто історію використання терміна «оселище» як відповідника терміна «habitat». Наголошено, що цей термін позначає середовище існування певного виду чи популяції тварин і визначається їхніми ареалами. Вказано на чинники, які зумовлюють руйнування оселищ багатьох популяцій на рівнині й у високогір'ї Українських Карпат. Звернуто увагу на деградацію гірських озер і потоків як оселищ водних гідробіонтів. Серед чинників, які призводять до руйнування оселищ, виділено чинники як природного, так і антропоїчного характеру: зміна клімату, абсолютне заповідання територій, демуаційні процеси, нерегульована рекреаційна діяльність, зміна традиційного землекористування, хімізму води, її засмічення, поява інвазійних рослин, урбанізація тощо. Синергізм впливу цих чинників спричиняє швидко зміну оселищ, а відтак – втрату адаптаційної спроможності особин різних видів до змінених умов середовища їхнього існування. Серед об'єктів нашого вивчення – такі таксони як планктонні ракоподібні (Cladocera), мурашки (Formicidae), круглороті (Cyclostomata), променепері (Actinopterygii), земноводні (Amphibia) та птахи (Aves). Встановлено, зокрема, що широколистяні лісові оселища є найбільш сприятливими для існування значного різноманіття мурашок. Виділено мегаоселища для земноводних як комплекс змінних протягом вегетаційного сезону окремих оселищ, пов'язаних між собою міграційними шляхами. На ужиткових територіях, як приклад, ключовим оселищем Західного Полісся може бути урочище Уничі – місце існування низки раритетних видів птахів. Гніздобудівна поведінка птахів під впливом антропоїчного чинника також зазнає змін – видоспецифічний вигляд гнізда і склад гніздових матеріалів трансформуються у відповідь на засмічення оселищ. Окрім цього, дослідження показало, що використання інтродуцентів для озеленення міста має негативний вплив на різноманіття урбоорнітофауни, оскільки, як не парадоксально, це зменшує кількість гніздопридатних і кормових оселищ птахів. Запропоновано провести виділення ключових оселищ для популяцій рідкісних і раритетних видів тварин на теренах як заповідного фонду, так і ужиткових територій, вказати на місця перебування їх та способи менеджменту (охорона, відновлення, реконструкція тощо).

Ключові слова: оселище, мегаоселище, ключові оселища, екологічні чинники, тварини

Проблема аналізу оселищ для різних видів рослин і тварин стала одним із пріоритетних напрямів досліджень у контексті збереження популяційного різноманіття біоти. Використання в українській екологічній і природоохоронній літературі терміна «оселище» (аналог англійського «habitat») має свою історію.

У 80-х роках ХХ ст. Й. В. Царик доповідав на засіданні Відділення загальної біології НАН України про результати досліджень популяцій рослин і тварин у високогір'ї Українських Карпат, де вперше і вжив термін «оселище», яке в його розумінні означало місце перебування популяції та наявність у ньому всіх необхідних для її життєдіяльності (само-

відновлення) умов. Водночас у Європі було створено спеціальні класифікації типів біотопів, які ототожнювали з терміном «оселище» як дослівним перекладом слова «habitat», зокрема, CORINE, EUNIS та низку національних класифікацій, які використовують окремі країни [18, 19, 21]. В Україні цей термін спочатку застосовували як синонім біотопу, хоч останній стосується опису середовища біотичного угруповання конкретної території, тобто середовища існування. У той же час термін «оселище» означає дещо інше, а саме опис середовища певного виду чи популяцій тварин, і визначається їхніми ареалами в межах конкретних ландшафтів рослинних угруповань, в яких відбуваються адаптаційні процеси живого.

Таке ж розуміння значення «оселища» під час аналізу цих же понять наводить М. Udvardy [цит. за 2], вказуючи, що говорити про біотоп доречно тоді, коли йдеться про біоценотичний (біоценоз), але не видовий чи популяційний рівні. Трохи пізніше євроінтеграційні процеси дали поштовх до розробки національного каталогу біотопів України [8].

Одним з ідеологів концепції терміна «habitat» у світі є Ілкка Ганскі (Ilkka Hanski), монографія якого опубліковано на межі тисячоліть [22, 23 та ін.]. Згідно з ним, термін «habitat» означає місце, життєвий простір, де живе вид, набір природних умов середовища, які визначають існування, виживання і відтворення *популяції* (курсив наш) [23].

Таким чином, наше розуміння терміна «оселище» та поняття Ілкка Ганскі «habitat» цілком узгоджуються між собою. У цій роботі ми власне в такому розумінні й будемо використовувати термін «оселище».

Мета нашої роботи – привернути увагу дослідників до потреби вивчення оселищ як місць функціонування популяцій видів; охарактеризувати оселища деяких видів тварин і вказати причину їхньої деградації, запропонувати інвентаризацію оселищ рідкісних та раритетних видів тварин у межах об'єктів природозаповідного фонду й ужиткових територій з метою їхнього збереження.

Матеріали та методи

Властивості оселищ вивчали в різних осередках високогір'я Українських Карпат і рівнинних територій Львівської та Волинської областей.

Компонентами оселищ було обрано групи особин тварин, які за формальними ознаками (щільність, характер розміщення особин, вікова, статева структури, здатність до самовідновлення) можна вважати популяціями – елементарними одиницями еволюції.

Дослідження особливостей оселищ і їхніх популяцій тварин проводили за загальноприйнятими в зоології та екології методами [16, 17, 24, 27, 30 та ін.].

Результати і їхнє обговорення

Основною причиною занепаду популяцій рослин і тварин є руйнування або знищення їхніх оселищ [29]. Знищення оселищ можливе внаслідок природних явищ (зсувів, лавин, паводків, повеней тощо) та дії антропогенних чинників (вирубання лісів, витоупування, надмірна рекреація, забруднення територій тощо).

Так, у 2023 р. під час вегетаційного сезону у високогір'ї Українських Карпат здійснено наукову експедицію з метою аналізу туристичного навантаження на гірські екосистеми від г. Петрос і Говерла до г. Піп Іван Чорногірський. Встановлено, що протягом світлового дня липня на туристичній стежці, яка бере свій початок від с. Ясіня, пролягає через вершини гір головного Чорногірського хребта і закінчується в с. Бистрець, налічується до 600 туристів, які таборуються у різних місцях. Крім цього, у районі г. Туркул, Данцер, Брескул працюють нелегальні заготівельники ісландського моху *Cetraria islandica*. Цей туристичний маршрут пролягає через вразливі до дії антропогенних чинників лучні, чагарникові, лишайникові, мохові та наскельні екосистеми.

Встановлено, що безсистемна нерегульована рекреація у високогір'ї Чорногори призводить до руйнування рослинного покриву, забруднення гірських водних екосистем (оз. Несамовите та інші) органічними рештками, а відтак – до втрати оселищ рідкісних видів безхребетних і хребетних тварин [28].

Що стосується водних екосистем загалом, то трохи меншого негативного впливу зазнають оселища тварин, які населяють високогірні гірські потоки (в межах висот 1500–1800 м н. р. м.). На нижчих гіпсометричних рівнях (300–1500 м н. р. м.) гідробіонтів узагалі критично мало, оскільки до чинників рекреації додаються ще й ті, які зумовлені діяльністю місцевих громад (засмічення потоків і річок побутовим сміттям, руйнування русел тощо).

Не менш важливим чинником зміни оселищ тварин є синергізм чинників – заповідання територій і зміна клімату. Заповідання території, різке зменшення поголів'я корів, овець, коней призвело до зміни традиційної форми землекористування (випасу) й зумовило підтримку демуаційних процесів у напрямі сільватизації полонин (вторинних екосистем) – оселищ рідкісної біоти, зокрема, й елементів ентомофауни. Цей процес, що триває вже майже 40 років, призвів до відновлення різновікових смерекових насаджень із *Picea abies* на північному макросхилі Чорногори й букових *Fagus sylvatica* – на південному. Сукцесійні процеси, які проявляються в автотрофному й гетеротрофному блоках, призводять до зміни біоти, а відтак і їхніх біотопів (суми оселищ популяцій різних видів).

Що ж стосується гідроекосистем Львівщини, то встановлено, що майже 130 років тому Б. Дибовський і М. Гроховський зареєстрували на цих теренах [20], які належать до Львівського Розточчя [5], 21 рід *Cladocera*, згідно з їхньою сучасною систематикою [17]. Нашими теперішніми дослідженнями у водоймах Українського Розточчя виявлено 18 родів *Cladocera* [3, 26]. Такі зміни у кількості родів *Cladocera* можна пояснити зміною абіотичних і біотичних параметрів водних оселищ гідробіонтів. У цьому аспекті на особливу увагу заслуговує аналіз тренду зміни температури водойм зі зміною клімату і їхня антропогенна евтрофікація.

Дослідженням мірмекофауни у трьох оселищах (болото, ліс, лука) природного заповідника Розточчя на основі зборів серпня–вересня 2022 р. виявлено 18 видів мурашок, які належать до восьми родів і трьох підродин: *Formicinae*, *Murmeicinae* та *Dolichoderinae*. Згідно з результатами обчислень індексу Сьоренсена, подібність видового складу мурашок болота і лісу становить 0,44, лісу та луки 0,57, луки та болота 0,53. Таким чином, ці три ділянки різняться за видовим складом, добре репрезентуючи види мурашок, що характеризують різні оселища. На заболоченій ділянці знайдено 6 видів мурашок. Така бідність мірмекофауни суперечить даним роботи за 2000 р. [14]. Це можна пояснити як тим, що за більш ніж 20 років оселище могло сильно трансформуватися, так і тим, що у роботі не згадано окремі види, а лише родина *Formicidae*. Більшість зі знайдених нами видів – евритопні опортуністичні, що характерні для деградованих територій і є антропофілами, наприклад, *Lasius niger* і *Tetramorium caespitum*. У цьому оселищі виявлено також *Dolichoderus quadripunctatus*, який хоч і не є рідкісним на території України, але трапляється лише спорадично [7]. Отримані дані підтверджують загальну тенденцію до вишого різноманіття мірмекофауни на території широколистяного лісу, а саме те, що 12 із 18 видів мурашок траплялися саме в цьому оселищі. Результати досліджень підтверджують важливість багатовікових насаджень у збереженні біорізноманіття, в тому числі безхребетних тварин. На цій ділянці дуже часто траплялися види підроду *Serviformica* s. str (4 види). Окрім цього, 4 види роду *Lasius* також знайдено на цій ділянці. Лучне оселище теж можна характеризувати значним різноманіттям мурашок (9 видів), серед яких переважають представники роду *Formica*, що утворюють складний мірмекокомплекс, домінантом котрого є *F. polyctena*. Враховуючи знахідки малопредставлених видів, поширеність видів ентомофагів і загаль-

ний видовий склад мурашок на досліджуваних ділянках, можна стверджувати про важливість природного заповідника «Розточчя» як системи оселищ мурашок на цій території.

Нами також проаналізовано структуру оселищ червонокнижного виду міноги української *Eudontomyzon mariae* у водотоках басейну Західного Бугу, зокрема, гранулометричні характеристики піщано-галькових наносів і детритних компонентів з метою індикації та виявлення в подальшому її нових потенційних оселищ. Зауважено, що придатні для заселення міногою ділянки русла мають у складі намулів помітно більше решток вищих, судинних рослин, тоді як для намулів у водотоках регіону загалом характерне переважання дрібнодисперсних залишків прокаріот, зелених і діатомових водоростей тощо. Гідрологічні умови угруповань бентосу з біотопів, що різняться за згаданими ознаками, у першому випадку набагато привабливіші для переважної більшості гідробіонтів.

Візуальне й оцідне інструментальне вивчення ділянки русла р. Прут у 2023 р. в околицях Чорногірського стаціонару географічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка з метою актуалізації даних про стан іхтіофауни й оселищ риб виявило розріджену, але повночленну популяцію форелі струмкової *Salmo trutta m. fario*, і значно збіднену – бабця строкатогого *Cottus poecilopus*. Оселища цих риб хоч і розташовані у заповідній зоні, проте низькі показники щільності їхніх популяцій свідчать, що формального статусу заповідності недостатньо для забезпечення задовільного стану як самого оселища, так і популяцій досліджуваних видів риб.

Проаналізовано чинники, що впливають на репродуктивні оселища земноводних, якими є насамперед астатичні водойми – калюжі різного походження, колісні колії польових і лісових доріг тощо. Такі репродуктивні оселища є важливим елементом комплексних видових оселищ амфібій (мегаоселищ), які протягом сезону неодноразово змінюють свої локації: розмноження у воді, живлення на луці / в лісі / у водоймі / на полях і городах, гібернація у лісі / у водоймах / у підвалах чи інших придатних антропоічних конструкціях. Окрім цього, всі елементи одного мегаоселища пов'язані між собою міграційними коридорами, які забезпечують цілісність і функціональність такої просторової структури.

Кліматичні зміни мають безпосередній вплив на оселища. Насамперед, мова йде про два основних базових чинники: середня температура повітря і кількість опадів протягом сезону активності земноводних (березень–листопад). Відтак, основними причинами деградації згаданих вище астатичних водойм є часте пересихання, особливо навесні та на початку літа, заростання водною і навколоводною рослинністю, що нерідко має синергічний ефект, різноманітне забруднення води (хімічне, побутове), а також безпосереднє руйнування (забудова пустищ і закинутих ділянок, лісозаготівля, транспортне навантаження, рекреаційний вплив тощо).

Звісно ж, не всі згадані причини деградації пов'язані зі зміною клімату, але багато з них є супутніми, які посилюють негативний вплив кліматичних чинників. Прикладом такої тенденції може бути низка змін репродуктивних оселищ земноводних, які вже призвели до втрати відомих раніше локацій існування видів. Так, у регіональному ландшафтному парку «Знесіння» біля озера ще років з 10 тому була система калюж, де регулярно траплялася кумка звичайна *Bombina bombina*. На сьогодні особин виду в цьому оселищі вже немає у зв'язку з цілковитою його трансформацією під впливом затінення, заростання, висихання і з перетворенням його на зневоднену лучну ділянку. Понад те, екологічною особливістю вимогливої до умов середовища кумки звичайної є неможливість розмножуватись у великих статичних водоймах типу озер, ставів тощо, які саме й розташовані поруч зі зниклими калюжами [6].

Подібним чином можна стверджувати про цілковите зникнення низки астатичних водойм на пустищі неподалік Центру обслуговування платників Львівської податкової інспекції внаслідок поступового висихання, заростання і часткової забудови. У цих водоймах протягом тривалого часу (15–25 років тому) щороку фіксували наявність трьох видів земноводних: тритона звичайного *Lissotriton vulgaris*, квакші східної *Hyla orientalis* і тритона гребінчастого *Triturus cristatus*. Останній із них станом на сьогодні є видом Червоної книги України. Зникнення цього оселища, як і в попередньому випадку, призвело до зникнення низки локальних популяцій земноводних.

Ще один приклад занепаду оселищ, де одним із негативних чинників впливу є кліматична складова, – це мережа калуж на туристичному маршруті від підніжжя г. Говерли з боку спортивної бази «Заросляк» до оз. Несамовитого. На схилі г. Пожижевської, яку траверсує згаданий маршрут, протягом тривалого часу спостережень (від 2003 р.) фіксували низку калуж і старих колісних колій, які слугували основним репродуктивним центром для популяції тритона карпатського *Lissotriton montandoni*, а також місцем розмноження для інших видів Червоної книги України: тритона альпійського *Ichthyosaura alpestris* і кумки гірської *Bombina variegata*. Унаслідок сукупності причин (кліматичних, демуаційних, рекреаційних), які мали довготривалий спрямований негативний вплив на цю мережу калуж, вони фактично зникли, що спричинило і зникнення земноводних у цій локації [4].

Представлені нами в цій статті матеріали є фрагментарними й потребують подальшого вивчення. На особливу увагу заслуговують дослідження оселищ конкретних популяцій видів, але таких даних обмаль. Більше уваги в літературі приділяли класифікації оселищ чи біотопів як потенційних місць життя тих чи інших видів [9, 10].

Реальне збереження популяцій видів потребує актуальних даних про їхні оселища та про тренди і чинники, які призводять до їхніх змін. Безумовно, це складна проблема, але, на нашу думку, цю ідею необхідно втілювати у практику природоохоронної діяльності. Наведемо приклад оселищ птахів, які трапляються на теренах природозаповідного фонду й на ужиткових територіях. Вибір оселищ для гніздування у репродуктивному процесі птахів має вирішальне значення. Розташування та маскування гнізда може забезпечити максимальний успіх розмноження, а може і призвести до повної невдачі. Дослідження впливу алохтонних видів рослин в екосистемах на привабливість оселищ для представників дендрофільних видів птахів проводили в селітебній частині міста Львова в парках, лісопарках, вуличних алеях і садах. За останні десятиліття серед зелених насаджень у Львові та багатьох населених пунктах регіону істотно почала зростати частка алохтонних видів: магнолії (*Magnolia* spp.), катальпи (*Catalpa* spp.), сумаха (*Rhus* spp.), рододендрона (*Rhododendron* spp.) тощо, які негативно впливають на різноманіття птахів. Це вказує на важливість культивування в зелених насадженнях населених пунктів місцевих видів рослин. Інтродуценти, як правило, є центрами консорцій для значно меншої кількості видів безхребетних, ніж автохтонна флора [31–33].

Щоб з'ясувати значення різних деревних рослин у гніздовій біології птахів Львова, ми проаналізували таксони дерев і кущів у місті, які мають найбільше значення як місця облаштування гнізд. Проаналізовано 3864 випадки розташування гнізд 43 дендрофільних видів птахів у селітебних межах міста Львова. Для облаштування гнізд птахи обирали 53 види й роди дерев і кущів.

Згідно з нашими даними, найбільшу кількість гнізд птахи облаштовують на дубі звичайному *Quercus robur* (n=747). Однак 97 % гнізд належить граку *Corvus frugilegus*, одному з небагатьох колоніальних видів у Львові, чій колонії добре помітні й вирізняються

значною щільністю. На дубах у Львові виявлено 43,5 % усіх відомих гнізд граків. Ще 6 видів птахів використовують цей рід дерев рідко, і лише сорока звичайна *Pica pica* та вивільга звичайна *Oriolus oriolus* надають йому перевагу як види, що в умовах міста розташовують гнізда на значній висоті від землі. Цікаво, що на алохтонному виді дуба червоного *Quercus rubra* у Львові не виявлено жодного гнізда.

Друга за чисельністю виявлених гнізд – тополя *Populus* sp. (n=636). І тут левова частка (80 %) припадає на гнізда грака. Проте на ній гніздиться ще 11 інших видів. Найчастіше – сорока звичайна (10 %) і горлиця садова *Streptopelia decaocto* (5 %).

Третім за чисельністю, але лідером за кількістю гніздових видів є клен *Acer* sp. На ньому виявили гнізда особин 21 виду (n=383). Ймовірно, це найчисленніший у місті вид дерев, тому його птахи використовують найчастіше: грак (28 %), горлиця садова і сорока звичайна (по 18 %), дрізд чикотень *Turdus pilaris* і дрізд чорний *T. merula* (по 9 %).

Серед чинників, які сприяють гніздуванню на певних видах дерев, можна виділити два: архітектоніку самого дерева (щільність прилягання гілок до стовбура, густина кроки) і шорсткість кори, що дає птахам змогу надійно зафіксувати гніздо. Оскільки птахи для гніздування переважно обирають дерева автохтонного походження й уникають дерев, введених у культуру за останні десятиліття, то варто висаджувати в містах для озеленення дерева та кущі місцевого походження. Це сприятиме привабленню на гніздування більшої кількості птахів.

Таким чином, доведено, що використання інтродуцентів для озеленення міста має негативний вплив на різноманіття орнітофауни Львова, оскільки зменшує кількість гніздопридатних і кормових оселищ птахів [1].

Ще один аспект досліджень оселищ птахів за умов сучасної трансформації середовища існування – встановити якісний і кількісний вміст антропогенних матеріалів у гніздах горобцеподібних птахів заходу України. Традиційно птахи будують гнізда з природних матеріалів, які зазвичай знаходять неподалік місць облаштування майбутнього гнізда. Однак у трансформованому та засміченому побутовими відходами середовищі птахи вибірково почали використовувати їх для будівництва гнізд навіть за достатньої кількості природних матеріалів. Штучні матеріали виявлено у гніздах 26 видів горобцеподібних птахів заходу України. Серед них дрозди (чорний *Turdus merula*, співочий *T. philomelos*, чикотень *T. pilaris*, дрізд-омелюх *T. viscivorus*, родина Turdidae), синиці (велика *Parus major*, блакитна *Cyanistes caeruleus*, Paridae), сорокопуди (терновий *Lanius collurio*, сірий *L. excubitor*, Laniidae), шпак звичайний (*Sturnus vulgaris*, Sturnidae), горихвістки (звичайна *Phoenicurus phoenicurus*, чорна *Ph. ochruros*, Muscicapidae), мухоловки (сіра *Muscicapa striata*, строка-та *Ficedula hypoleuca*, Muscicapidae), кропив'янки (чорноголова *Sylvia atricapilla*, прудка *S. curruca*, рябогруда *Curruca nisoria*, Sylviidae) та очеретянки (чагарникова *Acrocephalus palustris*, велика *A. arundinaceus*, ставкова *A. scirpaceus*, Sylviidae), сорока (*P. pica*, Corvidae) та деякі інші. Проте найчастіше штучні матеріали у гніздові конструкції влітають синантропні птахи родини Fringillidae (коноплянка *Linaria cannabina* становить 85,7 % проаналізованих гнізд цього виду, зеленяк *Chloris chloris* 71,4 %, зяблик *Fringilla coelebs* 66,7 %). Перелік штучних матеріалів, які птахи використовують для будівництва гнізд, чималий. Серед них переважно схожі до природних матеріали, які птахи певного виду традиційно використовують для гнізда. Найпопулярніші матеріали – нитки (у 47,1 % гнізд зі штучними матеріалами) і синтетичні волокна (31,7 %), а також пух (штучний пух, вата, скловата, 20,2 %), поліетиленова плівка (17,3 %) та мотузки (14,4 %). Поки що важко прогнозувати, яке значення це матиме для птахів у майбутньому, але вже можна констатувати, що у

більш ніж 16 % гнізд зі штучними матеріалами їхня кількість становила від 20 до 100 % за об'ємом, а це суттєво змінює видоспецифічний вигляд гнізда. Засмічення середовища впливає на склад гніздових матеріалів і вигляд гнізд горобцеподібних птахів. Отже, можна передбачити, як антропогенні зміни оселищ впливають на гніздобудівну поведінку різних видів птахів і видоспецифічний вигляд гнізда [25]. Можна зробити припущення, що саме оселище є тригером адаптаційних процесів живого.

Дослідження оселищ популяцій різних видів тварин нашою командою на думку про необхідність виділити ключові оселища рідкісних і раритетних видів тварин, які потребують особливої уваги з позиції їхнього збереження.

Пропонуємо розробити програму інвентаризації ключових оселищ популяцій видів, які потребують збереження, нанесення цих оселищ на карти з інформацією, які популяції видів там трапляються, який менеджмент для них необхідний.

На ужиткових територіях, як приклад, ключовими репродуктивними оселищами для деяких земноводних можуть бути тимчасові водойми (калюжі тощо). Для птахів такими оселищами на території Шацького національного природного парку може бути урочище Уничі – оселище для журавля сірого *Grus grus*, очеретянки прудкої *Acrocephalus paludicola* (Vieillot, 1817), підорлика малого *Clanga pomarina*, лелеки чорного *Ciconia nigra*, змієїда *Circaetus gallicus* і низки видів куликів, які стали тут рідкісними та гніздяться лише в окремих локалітетах, на периферії. Основними причинами деградації оселищ куликів в ур. Уничі, а також оселищ болотяних і лучних видів птахів на території парку є наслідки меліоративних робіт, зміни традиційного природокористування (припинення викошування і випасання) та зміни клімату. Ці чинники призвели до висихання болотного масиву урочища і заростання його високою трав'янистою та дерево-чагарниковою рослинністю, що зробило непридатними оселища для чайки *Vanellus vanellus*, коловодника звичайного *Tringa totanus* і грицика великого *Limosa limosa*, малоприсадибними – для щеврика лучного *Anthus pratensis* та очеретянки прудкої. За межами ПЗФ відбуваються подібні процеси втрати оселищ куликів через припинення викошування та випасання великої рогатої худоби, що викликає сукцесії – як наслідок, території заростають високою рослинністю. Зокрема, упродовж 2019–2020 рр. ми спостерігали деградацію оселища баранця великого *Gallinago media* в долині р. Стир біля с. Годомичі Луцького р-ну Волинської обл. За дослідженнями М. Сенік [11], саме фактор висоти травостою, що проявляється через зростання пасовищного навантаження, позитивно корелює з чисельністю гніздових видів – чайки, коловодника звичайного і баранця звичайного *Gallinago gallinago*. Саме ці види куликів обирають для гніздування розріджений і невисокий травостій. Зростання ж висоти травостою на луках призводить до втрати лук як придатних гніздових оселищ.

Аналогічно з трансформацією оселищ земноводних у РЛП «Знесіння», для лучних птахів у долині р. Прип'ять (Волинь) чи в орнітологічному заказнику «Чолгинський» (Львівщина): раніше вологі угіддя стають зневодненими і зарослими ділянками [6, 12, 13]. Яскравим прикладом такого синергізму чинників стали й результати експедиції у прикордонних з Польщею районах Львівщини, проведені у 2020 р., які показали, що всі болота в долинах річок Любачівка, Бронка, Блех, Гребелька, Смолінка, Телиці, Рата, Болотня, Солюкія і Варенжанка виявилися сухими. Навіть поблизу Західного Бугу мокрими зі збереженою водою залишилися тільки глибокі стариці, а мілкі стариці й луки пересохли [15].

Підводячи загальний підсумок, констатуємо, що вивчення структури оселищ, їхніх змін під впливом різних чинників (природних, антропогенних), виділення ключових оселищ має загальнобіологічне значення з позиції еволюції видів і збереження біотичного різноманіття як основи функціонування екосистем різних ступенів організації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бокотей А. А.* Антропогенна трансформація гніздових орнітокомплексів заходу України: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 06.03.03. Львів, 2021. 42 с.
2. *Дідух Я. П.* Проблеми співвідношення між деякими ключовими поняттями в екосистемології // Біотопи (оселища) України: наукові засади їх дослідження та практичні результати інвентаризації: мат-ли роб. сем. К., 2012. С. 14–28.
3. *Іванець О. Р.* Гіллястовусі раки Львівщини (Crustacea: Cladocera) у гідробіологічних дослідженнях Б. Дибовського та М. Гроховського (за матеріалами круглого столу Екологічної комісії Наукового товариства ім. Шевченка) // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2023. Вип. 89. С. 37–48. [HTTPS://DOI.ORG/10.30970/VLUBS.2023.89.04](https://doi.org/10.30970/VLUBS.2023.89.04)
4. *Кияк В., Кобів Ю., Жилиєв Г.* та ін. Популяційні основи уникнення втрат біорізноманіття у високогір'ї Українських Карпат. Львів: Простір-М, 2022. 166 с.
5. *Ковальчук І., Петровська М.* Геоекологія Розточчя. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2003. 192 с.
6. *Максимів Х., Решетило О.* Фауна земноводних Регіонального ландшафтного парку «Знесіння» // Збереження та охорона унікальних природно-історичних комплексів Регіонального ландшафтного парку «Знесіння»: мат-ли наук.-практ. конф. Львів: Растр-7, 2023. С. 152–153.
7. *Радченко А. Г.* Муравьи (Hymenoptera, Formicidae) Украины. К., 2016. 480 с.
8. *Куземко А. А., Дідух Я. П., Онищенко В. А., Шеффер Я.* Національний каталог біотопів України. К.: ФОП Клименко Ю. Я., 2018. 442 с.
9. *Онищенко В. А.* Оселища України за класифікацією EUNIS. К.: Фітосоціоцентр, 2016. 56 с.
10. *Проць Б., Кагало О., Мочарська Л.* та ін. Бернська конвенція та оселищна концепція збереження біорізноманіття: майбутнє для України. Львів: Вид-во ЗУКЦ, 2011. 28 с.
11. *Сеник М. А.* Орнітофауна як індикатор стану лучних екосистем // Наук. вісн. Ужгор. ун-ту. Сер. біол. Вип. 23. 2008. С. 125–128.
12. *Струс Ю. М., Шидловський І. В., Горбань І. М.* Лучні кулики в басейні Верхньої Прип'яті: просторове розміщення і динаміка чисельності // Бранта. Збірник наукових праць Азово-Чорноморської орнітологічної станції. 2018. Вип. 21. С. 51–69.
13. *Струс Ю., Шидловський І.* Стан гніздових популяцій лучних видів куликів на Львівщині упродовж 2009–2014 рр. та рекомендації щодо їхньої охорони // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 72. С. 168–179.
14. *Філик Р. А., Різун В. Б.* Ентомокомплекси різних типів лісу і їх значення у функціонуванні лісових екосистем // Наук. вісн. УкрДЛТУ. 2000. Вип. 10 (2). С. 95–105.
15. *Шидловський І., Дубовик О., Гринюк П.* та ін. Орнітофауна лучних екосистем у прикордонних районах Львівщини та Волині // Geo&Bio. 2021. Т. 20. С. 117–134.
16. *Begon M., Townsend C. R., Harper J. L.* Ecology: From Individuals to Ecosystems. 4th ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006. 738 p.
17. *Wlędzki L. A., Rybak J. I.* Freshwater Crustacean Zooplankton of Europe: Cladocera & Copepoda (Calanoida, Cyclopoida). Key to species identification, with notes on ecology, distribution, methods and introduction to data analysis. Springer International Publishing, Switzerland. 2016. 918 p.
18. CORINE. Електронний ресурс. <https://land.copernicus.eu/en/products/corine-land-cover>.
19. Council Directive 92/43/EEC of May 1992 on the conservation of natural habitats and wild-fauna and flora // Official Journ. of the European Union. 1992. L 206. P. 1–50.

20. *Dybowski B., Grochowski M.* Spis systematyczny Wioślarek (Cladocera) krajowych sporządzony na podstawie okazów i preparatów, które oddane były na naszą tegoroczną Wystawę krajową we Lwowie // *Kosmos*. 1895. XX. S. 139–165.
21. EUNIS habitat classification revised 2004: Report / European Environment Agency. Copenhagen, 2004. 311 p.
22. *Hanski I.* Metapopulation Ecology. Oxford: Oxford University Press, 1999. 313 p.
23. *Hanski I.* The shrinking world: Ecological consequences of habitat loss. Oldendorf / Luhe: International Ecology Institute, 2005. 307 p.
24. *Heyer W. R., Donnelly M. A., McDiarmid R. W.* et al. Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians. Washington: Smithsonian Institution Press, 1994. 384 p.
25. *Hnatyna O.* Anthropogenic materials in the nests of passerine birds in the west of Ukraine // *Biol. Stud.* 2023. Vol. 17 (3). P. 99–110. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1703.723>
26. *Ivanets O. R.* The fauna of Rotatoria and microcrustaceans (Cladocera, Copepoda) of the Ukrainian Roztocze and its surroundings // *Development of natural sciences in countries of the European Union taking into account the challenges of XXI century: Collective monograph*. Lublin: Baltija Publishing, 2018. P. 183–196.
27. *King J. R., Porter S. D.* Recommendations on the use of alcohols for preservation of ant specimens (Hymenoptera, Formicidae) // *Insectes Sociaux*. 2004. Vol. 51 (2). P. 197–202.
28. *Kyyak V., Mykitchak T., Reshetylo O.* Problems of biotic and landscape diversity conservation in the Ukrainian Carpathians highlands // *Biol. Stud.* 2021. Vol. 15 (4). P. 59–70. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1504.668>
29. *Primack R. B.* A primer of Conservation Biology. 5th ed. Oxford: Oxford University Press Inc., 2012. 384 p.
30. *Primack R. B.* Essentials of Conservation Biology. 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 660 p.
31. *Reichard S. H., Chalker-Scott L., Buchanan S.* Interactions among non-native plants and birds // *Avian Ecology and Conservation in an Urbanizing World*. Boston: Springer, 2001. P. 179–223.
32. *Smith R. M., Thompson K., Hodgson J. G.* et al. Urban domestic gardens (IX): Composition and richness of the vascular plant flora, and implications for native biodiversity // *Biological Conservation*. 2006. Vol. 129. P. 312–322. DOI: [10.1016/j.biocon.2005.10.045](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.10.045)
33. *White J. G., Antos M. J., Fitzsimons J. A., Palmer G. C.* Non-uniform bird assemblages in urban environments: the influence of streetscape vegetation // *Landscape and Urban Planning*. 2005. Vol. 71. P. 123–135. Doi: [10.1016/j.landurbplan.2004.02.006](https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2004.02.006)

Стаття надійшла до редакції 22.03.24

доопрацьована 12.04.24

прийнята до друку 12.04.24

HABITAT TRANSFORMATION AND ITS IMPACT ON ZOOBIOTA

**Y. Tsaryk, O. Reshetylo, O. Ivanets, K. Nazaruk, O. Hnatyna,
I. Shydlovskyy, V. Liesnik**

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

The history of the use of the term “habitat” is considered. It is emphasized that this term refers to the habitat of a particular animal species or population and is determined by their ranges. The factors that lead to the destruction of habitats of many populations on the lowlands and in the highlands of the Ukrainian Carpathians are indicated. Attention is drawn to the degradation of mountain lakes and streams as habitats for aquatic hydrobionts. Among the factors that cause the destruction of habitats, the factors of both natural and anthropogenic origin are identified: climate change, absolute protection of territories, demutational processes, uncontrolled recreation activities, changes in traditional land use, water chemical composition and pollution, the appearance of invasive plants, urbanization, etc. The synergistic effect of these factors leads to rapid habitat change, and thus to the loss of adaptive capacity of individuals of different species to the changed conditions of their habitats. Among the objects of our study are such taxa as planktonic crustaceans (Cladocera), ants (Formicidae), lampreys (Cyclostomata), ray-finned fish (Actinopterygii), amphibians (Amphibia) and birds (Aves). It was found, in particular, that deciduous forest habitats are the most favorable for the existence of a significant diversity of ants. The mega-habitats for amphibians were identified as a complex of individual habitats that vary during the vegetation season and are connected by migration routes. The key habitat in Western Polissia, as an example, can be the Unychi wetland, which is home to a number of rare bird species. The nest-building behavior of birds under the influence of anthropogenic factors also undergoes changes - its species-specific appearance and composition of nesting materials are transformed in response to habitat pollution. In addition, the study showed that the use of invasive trees and shrubs for urban greenery has a negative impact on the diversity of urban bird fauna, as it paradoxically reduces the number of nesting and foraging habitats for birds. It is proposed to identify key habitats for the populations of rare and endangered animal species within the protected areas and on the non-protected ones, to indicate their locations and the type of management approach (protection, restoration, reconstruction, etc.).

Keywords: habitat, mega-habitat, key habitats, ecological factors, animals

ЕКОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ, БІОМАСА, ЧИСЕЛЬНІСТЬ І ДОМІНУЮЧІ КОМПЛЕКСИ ФІТОПЛАНКТОНУ РІЗНОТИПНИХ ВОДОЙМ ТА ВОДОТОКІВ ПОНИЗЗЯ ДУНАЮ

Д. Луценко

*Інститут гідробіології НАН України
просп. Володимира Івасюка, 12, Київ 04210, Україна
e-mail: ecowaterkma@gmail.com*

В умовах сучасних екологічних викликів систематичне вивчення просторово-часової динаміки розподілу фітопланктону, його кількісних і якісних показників, біомаси та чисельності, визначення домінуючого комплексу є показовими факторами біорізноманіття і продуктивності водойм.

За постійного антропогенного навантаження такі дослідження та моніторинг біорізноманіття і якості водного середовища просто необхідні для функціонування біоценозу загалом.

Встановлено, що різноманіття фітопланктону різних гідроекосистем пониззя Дунаю представлене широким флористичним спектром і налічує 156 видів (158 в. в. т.), що належать до 8 відділів: *Cyanobacteria*, *Bacillariophyta*, *Cryptophyta*, *Miozoa*, *Ochrophyta*, *Charophyta*, *Chlorophyta*, *Euglenozoa*.

Дослідження екологічних характеристик фітопланктону показало, що за біотопічною приуроченістю найбільше поширені планктонні та планктонно-бентосні форми. Аналіз фітопланктону за галобністю встановив, що в усіх досліджуваних гідроекосистемах домінують види-індиференти. За відношенням до рН найбільше представників належить до індиферентів, менше – до алкаліфілів.

Чисельність клітин фітопланктону коливалася від 375 тис. кл/м³ до 1320 тис. кл/м³, найчисленнішими є *Cyanobacteria*. Основна роль у формуванні біомаси водойм влітку на досліджуваних ділянках належить відділам *Chlorophyta*, *Miozoa* та *Bacillariophyta* і коливається від 0,3361 мг/дм³ до 0,944205 мг/дм³.

Вивчення динаміки чисельності та біомаси фітопланктону показало, що залежно від місця перебування станцій відбору альгопроб дані показники змінюються. Структура біомаси фітопланктону пониззя Дунаю представлена нерівномірно, відповідно до гідроекосистеми, і сформована переважно діатомово-зеленим комплексом, але у деяких пробах домінуючими по біомасі є представники відділу *Miozoa*. Водночас, узагальнюючи значення чисельності фітопланктону, встановили, що провідна роль належить *Cyanobacteria*, також поширені *Chlorophyta* та *Bacillariophyta*.

Відмічено, що на мілководдях і у місцях із високою динамікою гідрологічних процесів, а саме перехідних зон «річка–море», спостерігається переважання діатомового комплексу, сформованого переважно планктонно-бентосними та бентосними формами.

Ключові слова: фітопланктон, пониззя Дунаю, біомаса, гідроекосистема, домінуючі комплекси, *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*

Дельта Дунаю – винятково складна та динамічна плавнево-літоральна екологічна гідросистема, представлена природним екотоном типу «річка–море», яка відзначається великою ландшафтною різноманітністю, сформованою складною гідрологічною мережею з рукавів, стариць, гирл, природних і штучних проток, озер та лиманів, затоць[2].

Для пониззя Дунаю характерні унікальні біотопи з високою видовою різноманітністю, які мають загальноєвропейську значущість.

Зважаючи на екологічні виклики сьогодення, зумовлені глобалізацією світу, змінами клімату і постійним антропогенним навантаженням на природні екосистеми, нагальними для регіону стали дослідження водних екосистем, спрямовані на визначення загального біологічного різноманіття, динаміки структурно-функціональних показників біотичних угруповань, встановлення основних закономірностей функціонування водних екосистем. Важлива роль у формуванні біорізноманіття та продуктивності водної належить фітопланктону, який є вагомим компонентом біоти гідроекосистем і формує основну й первинну ланку в трофічному ланцюзі.

Основоположником робіт із дослідження фітопланктону Дунаю є Я. В. Ролл [7]. Його дослідження припадають на 1949–1961 рр. А. І. Іванов у 1982 р. досліджував фітопланктон гирлових областей річок північно-західного Причорномор'я, а у 1987 р. – різноманіття фітопланктону Кілійської дельти [4, 5]. Одні із останніх досліджень Кілійської дельти проведено у 2001–2003 роках [6]. Подальші дослідження різноманіття фітопланктону мали більш формальний характер.

На сьогодні майже немає систематичних спостережень структурно-функціонального різноманіття фітопланктону пониззя дельти Дунаю. В умовах постійного антропогенного навантаження такі дослідження та моніторинг біологічного різноманіття і якості водного середовища є просто необхідними для функціонування біоценозу загалом.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на базі Інституту гідробіології НАН України.

У зв'язку з динамічністю гідрологічних процесів дельти нагальною є необхідність зробити аналіз проб, відібраних у різних горизонтах товщі води. Для отримання показового результату й достовірних даних використовували метод інтегральної проби об'ємом 1,0 дм³, яку формували, змішуючи альгопроби, відібрані по 1,0 дм³ з поверхневих, серединних і придонних горизонтів водної товщі. Станції інвентаризації фітопланктону обирали з урахуванням географічних особливостей досліджуваного об'єкта, оскільки вони відображають різноманітність абіотичних умов і антропогенних навантажень (мисові ділянки, рукави затоки, проточні зони, порти).

Альгопроби відбирали на таких станціях (розташованих за течією річки): місто Рені (порт); Кілійський рукав (нижче морвокзалу); Кілійський рукав (біля м. Вилкове); рукав Білгородський (середина); затока Солоний Кут (вхід до рукава Білгородський); біля мису затоки Бадик – затока Солоний Кут (середина); вхід до рукава Очаківський (Анкудінове гирло); рукав Очаківський (17 км); вихід у море з рукава Очаківський (морська лінія).

Зібрані проби фіксували 40 % нейтралізованим формаліном, згущували до об'єму 0,5 мл³. Клітини фітопланктону підраховували у краплі фільтрату об'ємом 0,05 см³ на збільшенні мікроскопа x20 і x40. Біомасу розраховували на підставі встановлених індивідуальних об'ємів клітин методом об'ємного розрахунку [1]. Чисельність фітопланктону визначали лічильно-розрахунковим методом, відповідно до загальноприйнятої формули. Таксономічну номенклатуру водоростей наведено згідно з міжнародним електронним каталогом AlgaeBase (Guiry & Guiry, 2020) [9]. Домінуючими вважали види, які становили щонайменше 10 % кількісного різноманіття фітопланктону; субдомінуючими – види, відсоткове відношення яких до загального числа становить від 5 до 10 %. Також у роботі розраховано частоту трапляння видів [3].

Екологічні характеристики (біотопічна приуроченість, галобність, відношення до рН) фітопланктону надано згідно з Barinova, et al., 2019 [8].

Результати і їхнє обговорення

Встановлено, що видове різноманіття літнього фітопланктону водних екосистем пониззя Дунаю на прикладі 2019 р. представлене досить широким флористичним спектром і налічує 8 відділів, 13 класів, 31 порядок, 63 родини, 82 роди та 156 видів, тобто 158 внутрішньовидових таксонів, включаючи номенклатурний тип виду (в. в. т.).

Водним об'єктам, що характеризуються як екотони природного перехідного типу «річка–море», властивий широкий спектр біорізноманіття як прісноводних, так і морських гідробіонтів.

Екологічні характеристики. Із загальної кількості ідентифікованих видів фітопланктону біотопічну приуроченість встановлено для 151 в. в. т. (96 %) і виділено такі групи: планктонні – 62 в. в. т. (Р); бентосні – 27 в. в. т. (В); перехідні, планктонно-бентосні форми – 61 в. в. т. (Р-В); епіфіти, форми обростань – 1 вид (Ер).

Стосовно відношення фітопланктону різнотипних водних об'єктів пониззя Дунаю до галобності, встановлено, що видів-індиферентів представлено 82 в. в. т. (77 %), галофітів 13 в. в. т. (12 %); олігогалобів 5 в. в. т. (5 %), галофобів 5 в. в. т. (5 %), а мезогалобів – лише 2 в. в. т.

Відношення до рН. Встановлено, що в. в. т., які чутливі до рН, є 66 таксонів, це становить 42 % від загального числа водоростей і є достатньо переконливою оцінкою за цим показником. Найбільше видів належить до індиферентів – 34 види, далі йдуть алкаліфіли – 26, ацидофіли – 4 і алкабіонти – 2.

Чисельність. Чисельність клітин коливалася від 375 тис. кл/м² до 1320 тис. кл/м² (табл. 1). Найбільше значення чисельності спостерігали в акваторії затоки Солоний Кут (вхід до рукава Білгородський), найменше – рукав Очаківський (17 км).

Таблиця 1

Структура чисельності фітопланктону пониззя Дунаю за відділами, тис. кл./м³

Відділ	Станція відбору альгопроб									
	Річка Дунай, м. Рені (порт)	Кілійський рук. (нижче морвокзалу)	Кілійський рук. (біля м. Вилкове)	Білгородський рук. (середина)	Зат. Солоний Кут (вхід до рук. Білгородський)	Біля мису заг. Бадик	Зат. Солоний Кут (середина)	Вхід до рук. Очаківський (Анкудинове гирло)	Рукав Очаківський (17 км)	Вихід з рук. Очаківський (морська лінія)
<i>Cyanobacteria</i>	480	90	550	60	850	510	300	155	40	215
<i>Bacillariophyta</i>	120	70	85	95	250	80	50	125	95	275
<i>Cryptophyta</i>	-	-	10	20	15	15	20	25	-	-
<i>Miozoa</i>	5	5	10	15	5	10	10	5	-	-
<i>Ochrophyta</i>	25	40	20	-	15	60	35	25	5	30
<i>Charophyta</i>	-	-	5	-	5	5	5	10	5	-
<i>Chlorophyta</i>	330	520	245	490	150	240	595	165	180	185
<i>Euglenozoa</i>	5	15	50	30	30	25	5	10	50	10
Σ	965	740	975	710	1320	945	1020	520	375	715

Аналіз структури чисельності фітопланктону різнотипних водойм і водотоків пониззя Дунаю показав, що пріоритетну роль відігравали *Cyanobacteria* та *Chlorophyta*, які поширені відносно рівномірно по всій акваторії водних екосистем, їхнє відсоткове співвідношення в різних альгопробах сягає 65–70 %.

Представники інших відділів водоростей представлені досить нерівномірно, проте відзначено збільшення кількості клітин *Bacillariophyta* зі зростанням солоності води. Водорості з відділів *Cryptophyta*, *Miozoa* і *Charophyta* трапляються поодинокі і мають низьку частоту трапляння.

Найбільшу чисельність фітопланктону спостерігали у лентичних водах (затока Солоний Кут, затока біля мису Бадик), де переважає *Cyanobacteria*.

Фітопланктон гідроєкосистем пониззя Дунаю представлений відносно невисокою чисельністю, що пов'язано з динамічністю гідрологічного режиму та високою інтенсивністю перемішування водних мас. Це підтверджує співвідношення водоростевих форм різної біотопічної приуроченості, серед яких є висока частка планктонно-бентосних і бентосних форм.

Біомаса. Водні екосистеми характеризуються сезонною мінливістю біомаси фітопланктону, основна роль на досліджуваних ділянках належить відділам *Chlorophyta*, *Miozoa* та *Bacillariophyta* у планктонних угрупованнях. Таку тенденцію розподілу фітомаси спостерігають останні кілька десятиліть, її фундаментальний фактор – підвищення середньої температура води і, відповідно, пролонгація періоду вегетації водоростей.

Загалом біомаса, залежно від станції відбору проб, коливається від 0,3361 мг/дм³ до 0,944205 мг/дм³, що свідчить про наявність слабкого «цвітіння» води (табл. 2).

Таблиця 2

Структура біомаси фітопланктону пониззя Дунаю за відділами, мг/дм³

Відділ	Станція відбору альгопроб									
	Річка Дунай, м. Рені (порт)	Кілійський рук. (нижче морвокзалу)	Кілійський рук. (біля м. Вилкове)	Білгородський рук. (середина)	Заг. Солоний Кут (вхід до рук. Білгородський)	Біля мису заг. Бадик	Заг. Солоний Кут (середина)	Вхід до рук. Очаківський (Анкудинове гирло)	Рук. Очаківський (17 км)	Вихід з рук. Очаківський (морська лінія)
<i>Cyanobacteria</i>	0,0125	0,0039	0,0419	0,0017	0,0794	0,0464	0,0080	0,0043	0,0026	0,0123
<i>Bacillariophyta</i>	0,2423	0,1467	0,0755	0,0836	0,4430	0,1851	0,0552	0,0872	0,1074	0,4322
<i>Cryptophyta</i>	-	-	0,0190	0,0102	0,0091	0,0076	0,0102	0,0141	-	-
<i>Miozoa</i>	0,0349	0,0349	0,3861	0,4078	0,0349	0,3418	0,0505	0,3418	-	-
<i>Ochrophyta</i>	0,0049	0,0158	0,0030	-	0,0016	0,0053	0,0080	0,0071	0,0005	0,0039
<i>Charophyta</i>	-	-	0,0262	-	0,0070	0,0400	0,0060	0,0524	0,0262	-
<i>Chlorophyta</i>	0,1973	0,2980	0,2407	0,1873	0,2478	0,0959	0,1856	0,0104	0,1618	0,0600
<i>Euglenozoa</i>	0,0124	0,0431	0,1518	0,0726	0,0746	0,0449	0,0125	0,0575	0,0896	0,0243
Σ	0,5043	0,5425	0,9442	0,7631	0,8974	0,7671	0,3361	0,5748	0,3881	0,5327

Максимальне значення біомаси фітопланктону спостерігали у пробі з Кілійського рукава біля м. Вилкове. Поширення груп водоростей, спроможних спричинити «цвітіння» водойм, залежить від багатьох чинників (мінералізація, сезонність і гідрологічний режим тощо). Найменшу біомасу спостерігали у пробі на станції відбору затоки Солоний Кут (середина) з домінуючими значеннями відділів *Bacillariophyta* (49 %) та *Chlorophyta* (28 %) (табл. 2).

Оскільки досліджувані водойми мають різний ступінь солоності, то просторовий розподіл фітопланктону досить нерівномірний. Результати роботи показують, що залежно від станції відбору проб наявна слабка вегетаційна активність діатомових і зелених водоростей. Спостерігали тенденцію до зростання домінуючих видів діатомового та

динофітового планктону в більш солоноводних ділянках, тоді як зелений планктон переважав, як правило, в затоках із більшим притоком прісних вод.

Усі досліджувані водойми різняться за рівнем мінералізації, тож просторовий розподіл фітопланктону досить нерівномірний. Встановлено, що в рукавах провідна роль по біомасі належить *Miozoa*, а другорядні – *Chlorophyta* та *Bacillariophyta*; в затоках домінуючими по біомасі є *Chlorophyta* та *Bacillariophyta*. У альгопробах, відібраних на рукавах пониззя, частка біомаси водоростей *Miozoa* сягає 41–60 %, а їхню основну масу формує *Ceratium hirundinella*, який є характерним представником як прісних, так і солоноводних акваторій.

Аналіз структури біомаси фітопланктону різнотипних водойм і водотоків пониззя Дунаю показав, що вона сформована полідомінантним *Chlorophyta – Miozoa – Bacillariophyta* комплексом.

Необхідно зазначити, що висока чисельність клітин фітопланктону *Cyanobacteria* не відповідає великій біомасі. Це зумовлено насамперед тим, що більшість видів – це дрібноклітинні форми з великою кількістю повітряних вакуолей у клітинній будові. Завдяки цій морфологічній особливості водорості переважно концентруються в поверхневому шарі товщі води та належать до планктонних форм.

У роботі також розраховано значення частоти трапляння (F), які представлені у табл. 3.

Таблиця 3

Домінуючі комплекси фітопланктону та частота трапляння видів

Клас трапляння	Значення	Кількість в. в. т.
Клас А	Масово, дуже часто 80–100 %	2
Клас В	Часто, 60–79 %	8
Клас С	Достатньо часто, 40–59 %	15
Клас D	Нечасто, 20–39 %	54
Клас F	Зрідка, поодинокі, <10 %	79

Було виділено види, які трапляються масово (дуже часто), часто і достатньо часто:

- масово (дуже часто) – *Stephanodiscus hantzschii*, *Microglena monadina*;
- часто – *Aulacoseira granulata* (*Melosira granulata*), *Dictyosphaerium granulatum*, *Trachelomonas volvocinopsis*, *Lepocinlis ovum*, *Oocystis submarina*, *Desmodesmus communis*, *Chlamydomonas globosa*, *Chrysococcus rufescens*;
- достатньо часто – *Lindavia comta*, *Navicula tripunctata*, *Nitzschia amphibia*, *Nitzschia epithemoides*, *Ceratium hirundinella*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Ankyra ancora*, *Coelastrum astroideum*, *Monoraphidium contortum*, *Monoraphidium irregulare*, *Neglectella solitaria*, *Oocystis lacustris*, *Schroederia setigera*, *Tetraëdron minimum*, *Lepocinlis globulus*.

Аналіз динаміки чисельності й біомаси водоростей показав, що залежно від морфологічних характеристик гідроекосистеми дані показники змінюються неадекватно. Оскільки фітопланктон відзначається великою різноманітністю розмірних, масових характеристик і життєвих форм, нагальною є необхідність дати оцінку домінуючого комплексу окремо за чисельністю клітин і окремо за біомасою.

Аналіз домінуючого комплексу по значеннях чисельності показав, що домінантними серед усіх ідентифікованих видів є переважно представники *Cyanobacteria*: *Anagnostidinea amphibia*, *Chroococcus turgidus*, *Jaaginema geminatum*, *Leptolyngbya tenuis*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis pulverea*, *Microcystis wesenbergii*, *Planktolyngbya limnetica*; та *Chlorophyta – Coenococcus planctonicus*, *Dictyosphaerium granulatum*, *Micractinium pusillum*.

Встановлено, що основними субдомінуючими видами за чисельністю були: *Anabaena sphaerica*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Limnothrix redekei*, *Merismopedia tenuissima*, *Pseudanabaena limnetica*, *Aulacoseira granulata*, *Lindavia bodanica*, *Melosira varians*, *Coccolithus asteroideum*, *Desmodesmus communis*, *Lemmermannia triangularis*, *Oocystis lacustris*, *Lepocinclis ovum*.

В усіх досліджуваних акваторіях, окрім станцій відбору біля мису Бадик і вхід до рук. Очаківський (Анкудінове гирло), наявна діатомея *Stephanodiscus hantzschii*, індиферентна до солоності води. Також у всіх досліджуваних гідроекосистемах, окрім входу до рук. Очаківський (Анкудінове гирло) та виходу з рук. Очаківський (морська лінія), наявна *Microglena monadina*.

Домінування синьозелених представників альгофлори за чисельністю є показовим для літнього сезону, оскільки на нього припадає основний вегетаційний період. Встановлено, що провідні позиції за чисельністю фітопланктону посідають форми, які за високої інтенсивності вегетації викликають евтрофування водного об'єкта.

Аналіз домінуючого комплексу за біомасою показав, що він сформований переважно представниками крупноклітинних форм відділів *Bacillariophyta*, *Miozoa*, *Chlorophyta* та *Euglenozoa*. Домінуючими видами є: *Aulacoseira italica*, *Diatoma vulgare*, *Lindavia bodanica*, *Lindavia comta*, *Ceratium hirundinella*, *Chlamydomonas globosa*, *Microglena monadina*, *Lepocinclis ovum*.

Субдомінуючими видами більшості різнотипних водойм і водотоків пониззя Дунаю виступають: *Aulacoseira granulata*, *Cymbella cistula*, *Cymbella lanceolata*, *Stephanodiscus hantzschii*, *Peridinium cinctum*, *Staurastrum orbiculare*, *Coenococcus planctonicus*, *Dictyosphaerium granulatum*.

Такий розподіл водоростей пояснюють насамперед морфометричними особливостями пониззя Дунаю: типом гідроекосистеми, глибиною, розташуванням, мінералізацією. Як наслідок стають зрозумілими наявність у фітопланктоні видів, здатних розвиватись у широкому діапазоні температур і солоності, та переважання планктонно-бентосних форм над типово планктонними.

Зафіксовано домінування *Chlorophyta* у таких зразках: Кілійський рукав (нижче морвокзалу), затока Солоний Кут (середина), Кілійський рукав біля м. Вилкове, річка Дунай (місто Рені, порт), Білгородський рукав (середина), біля мису затоки Бадик, вхід до рукава Очаківський (Анкудінове гирло). Субдомінантами виступають представники діатомового, синьозеленого та еугленового фітопланктону.

Встановлено, що домінуючі позиції *Bacillariophyta* за видовим різноманіттям наявні у таких зразках: затока Солоний Кут (вхід до рукава Білгородський), вихід у море з рукава Очаківський (морська лінія), субдомінантами виступають представники *Cyanobacteria* та *Chlorophyta*.

За результатами аналізу біомаси, чисельності й домінуючих комплексів літнього фітопланктону різнотипних водойм пониззя Дунаю можна зробити такі висновки:

1. Фітопланктон пониззя Дунаю сформований переважно діатомово-зеленим комплексом, але в деяких пробах домінуючими по біомасі є представники відділу *Miozoa*.
2. За біотопічною приуроченістю переважають планктонні (62 в. в. т.) та планктонно-бентосні (61 в. в. т.) форми водоростей. За відношенням по галобності – найбільше представлено видів-індиферентів (82 в. в. т.); за відношенням до рН найбільше індиферентів (34 види) й алкаліфілів (26 видів).

3. Чисельність клітин коливалася до 1320 тис. кл/м², найбільше значення чисельності було на місці відбору проби затока Солоний Кут (вхід до рукава Білгородський), найменша – рукав Очаківський (17 км). Найменша чисельність становила 375 тис. кл/м².
4. Максимальне значення біомаси фітопланктону спостерігали у пробі з Кілійського рукава біля м. Вилкове (0,3361 мг/дм³), найменше – на станції відбору затоки Солоний Кут (середина) – 0,944205 мг/дм³, з домінуючими значеннями відділів *Bacillariophyta* (49 %) та *Chlorophyta* (28 %).
5. Спостерігали тенденцію зростання домінуючих видів діатомового та динофітового планктону в більш солоноводних ділянках, тоді як зелений планктон переважає, як правило, в затоках, де більший приплив прісних вод.
6. Найпоширенішими за кількістю клітин є представники зеленого і синьозеленого фітопланктону, їхнє відсоткове співвідношення в різних пробах коливається до 70 та 65 % відповідно, водоростеві форми відділів *Cryptophyta*, *Miozoa* і *Charophyta* трапляються поодинокі і з низькою частотою трапляння.
7. Домінуючі позиції за чисельністю клітин у пробах належать представникам синьозеленого та зеленого фітопланктону. Аналіз домінуючого комплексу по біомасі сформований представниками відділів *Bacillariophyta*, *Miozoa*, *Chlorophyta* та *Euglenozoa*. Виділено домінуючі види кожного з відділів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Арсан О. М., Давидов О. А., Щербак В. І. та ін. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / за ред. В. Д. Романенка. К.: ЛОГОС, 2006. 408 с.
2. Всесвітній фонд дикої природи. Бачення дельти Дунаю. Одеса, 2002. URL: https://www-feu.awsassets.panda.org/downloads/danube_delta_vision_rus.pdf?206062/Danube-Delta-Vision
3. Девяткін В. Г., Митропольська І. В. Трапляння видів водоростей як показник біологічного розмаїття альгоценозів // Динаміка різноманітності гідробіонтів у внутрішніх водоймах Росії. Ярославль: Вид-во ЯДТУ, 2002. С. 5–22.
4. Іванов А. І. Фітопланктон гирлових областей річок північно-західного Причорномор'я. К.: Наук. думка, 1982. 212 с.
5. Іванов А. І. Фітопланктон радянської ділянки Дунаю та заток переднього краю його Кілійської дельти // Гідробіологічні дослідження Дунаю та придунайських водойм: зб. наук. пр. К.: Наук. думка, 1987. С. 44–57.
6. Оксіюк О. П., Давидов О. А., Карпезо Ю. І. Мікрофітобентос як біоіндикатор стану водних екосистем // Гідробіологічний журнал. 2010. № 5. С. 75–89.
7. Ролл Я. В. Фітопланктон радянської ділянки Дунаю, його рукавів та заток // Дунай та придунайські водойми в межах СРСР: Пр. Ін-ту гідробіології. 1961. № 36.
8. Varinova S. S., Bilous O. P., Tsarenko P. M. Algal indication of water bodies in Ukraine: methods and perspectives // Haifa; Kyiv: University of Haifa Publisher, 2019. 367 p.
9. Listing the World's Algae URL: www.algaebase.org

Стаття надійшла до редакції 12.04.24

доопрацьована 29.04.24

прийнята до друку 30.04.24

**ECOLOGICAL CHARACTERISTICS, BIOMASS, ABUNDANCE,
AND DOMINANT COMPLEXES PHYTOPLANKTON OF DIFFERENT TYPES
OF WATERCOURSE AND WATERBASIN IN THE LOWER DANUBE**

D. Lutsenko

*Institute of Hydrobiology, NAS of Ukraine
12, Volodymyr Ivasyuk Ave., Kyiv 04210, Ukraine
e-mail: ecowaterkma@gmail.com*

In the context of modern environmental challenges, being under constant anthropogenic pressure, systematic study of the spatial and temporal dynamics of phytoplankton distribution, its quantitative and qualitative indicators, biomass and abundance, and determination of the dominant complex are indicative factors of biodiversity and water productivity. In the context of constant anthropogenic pressure, such research and monitoring of biodiversity and water quality are essential for the functioning of biocenosis.

It was found that the diversity of phytoplankton in different hydroecosystems of the lower Danube River is represented by a wide floristic spectrum and amounts to 156 species (158 species) belonging to 8 divisions: *Cyanobacteria*, *Bacillariophyta*, *Cryptophyta*, *Miozoa*, *Ochrophyta*, *Charophyta*, *Chlorophyta*, *Euglenozoa*.

The research of phytoplankton ecological characteristics showed that planktonic and planktonic-benthic forms are the most common in terms of biotopic habitat. Analyzing the phytoplankton by habitat, indifferent species dominate in all studied hydroecosystems. In relation to pH, most of the representatives belong to indifers, and fewer to alkalifers.

The number of phytoplankton cells ranged from 375 thousand cells/m² to 1320 thousand cells/m², with *Cyanobacteria* being the most numerous. The main role in the formation of the biomass of water bodies in summer in the studied areas belongs to the divisions *Chlorophyta*, *Miozoa*, and *Bacillariophyta* and ranges from 0.3361 mg/dm³ to 0.944205 mg/dm³.

The analysis of the dynamics of phytoplankton abundance and biomass showed that these indicators vary depending on the location of the algosampling stations. The structure of phytoplankton biomass in the lower Danube is unevenly represented, according to the hydroecosystem, and is formed mainly by the *Bacillariophyta-Chlorophyta* complex, but in some samples, representatives of the *Miozoa* order dominate in terms of biomass. At the same time, summarizing the values of phytoplankton abundance, it was found that the leading role belongs to *Cyanobacteria*, with *Chlorophyta* and *Bacillariophyta* also widespread.

It was noted that in shallow waters and in areas with high dynamics of hydrological processes, namely river-sea transition zones, there is a predominance of the diatom complex, formed mainly by planktonic-benthic and benthic forms. This spatial distribution is typical for areas with high intensity of water mass mixing.

Keywords: phytoplankton, lower Danube, biomass, hydroecosystem, dominant complexes, *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*

PSYCHOPHYSIOLOGICAL STATE OF STUDENTS UNDER THE WAR

S. Bychkova, T. Korol, O. Ikkert

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

The war in Ukraine has an impact on the psychophysiological state of citizens, whether they are direct participants in the conflict or reside far from the front line. Considering this, studying the psychophysiological state of students continuing their education in a country at war is a relevant issue. Understanding this state can aid in developing effective strategies for preserving the psychological health of youth. The limbic system, which regulates emotions, directly influences the cardiovascular system. Therefore, the research aimed to establish the connection between the frequency of heartbeats (heart rate) during air alarms and mental states (depression, anxiety, stress) of students, as well as components of their emotional intelligence (self-motivation, managing one's own emotions and the emotions of others, empathy).

In the study, 62 second-year students from the Biological Faculty Ivan Franko National University of Lviv participated. Students assessed their psychoemotional state using the «Global Emotional Intelligence Test» and «DASS21» questionnaires. Heart rate (HR) was monitored using smartwatches in combination with corresponding smartphone applications.

The average daily heart rate of students was 78.12 ± 0.74 beats/min ($n=62$), while during air alarms, it increased to 91.21 ± 2.54 beats/min ($p \leq 0.001$, $n=21$). Individuals with additional physical activities showed a tendency toward higher HR during air alarms compared to those who did not engage in exercises. It was found that 50 % of students experienced anxiety, 20 % reported high and extremely high stress levels, and 10 % had a high level of depression. A moderate negative correlation was established between the level of depression and HR during air alarms ($r = -0.55$, $p \leq 0.05$, $n=13$). A high level of emotional intelligence indicators was observed in the following percentages of students: managing the emotions of others – 27 %, empathy – 24 %, self-motivation – 23 %, managing one's own emotions – 8 %, and integrative emotional intelligence – 2 %. Positive correlations of moderate strength ($p \leq 0.05$) were identified between HR during air alarms and the psychological and emotional states of students: $r = 0.51$ ($n=11$) with anxiety, $r = 0.59$ ($n=13$) with the level of integrative emotional intelligence, $r = 0.62$ ($n=13$) with self-motivation, and $r = 0.63$ ($n=13$) with managing the emotions of others.

Therefore, war has an impact on the psychophysiological state of students, resulting in an increased level of anxiety. This is evident in the rise of heart rate (HR) during air alarms, which is considered a normal response of the body to a stress factor. However, the more depressive a person is, the lower the HR during air alarms. Thus, there is a correlation between HR during air alarms and psychophysiological state of students.

Keywords: heart rate, health, anxiety, stress, depression, emotions

Residents of various regions of Ukraine are at different distances from the epicenter of the war, but all Ukrainians feel a strong emotional tension. Anxiety among Ukraine's residents has

increased as a reaction to fear [2]. The «Air Alarm» signal carries both a real and potential threat to human life and health. The entire period of an air alarm can be considered as a stress factor that negatively affects a person's psychophysiological state. When a person's nervous system experiences emotional overload, stress develops – a state of excessive and prolonged psychological tension [2, 10]. The stress response in humans due to the potential danger of an aerial attack is carried out through a universal complex of neurohumoral reactions.

Stress through cortical and limbic connections triggers the release of corticotropin-releasing factor (CRF) from the paraventricular nuclei of the hypothalamus. The release of CRF mediates endocrine and immune responses [30]. Stress affects the neural structure of the hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex [23]. The amygdala-like body plays a crucial role in processing physiological and behavioral responses to stress. The influence of chronic stress factors and corticosterone, the secretion of which is induced by stress, may enhance the expression of CRF in the amygdala. Under the influence of stress, changes occur in the amygdala that underlie emotions such as anxiety and fear [32]. It is known that the amygdala-like body interacts with the autonomic nervous system (sympathetic and parasympathetic), and therefore, it can impact the function of internal organs [30], including altering heart rate.

Heart rate (HR) is an indicator that reflects the state of the cardiovascular system and the corresponding activity of the autonomic nervous system, controlled by higher centers of the mid-brain. Under the influence of stress factors, the human body enters a «fight or flight» state. This state is characterized by excessive activation of the sympathetic nervous system, a component of the stress system [8, 18]. Elevated levels of catecholamines mediate the increase in heart rate. For instance, an increase in heart rate has been observed in individuals who have experienced earthquakes [7, 24], terrorist acts [25, 26], or in response to emergency alarm [13]. Air alarm alerts (from the signal indicating the start to its end) belong to stress factors, as they indicate the potential possibility of traumatic events. The impact of air alarm alerts during wartime on the heart rate of civilians and the relationship between changes in heart rate and the mental and emotional states of people are still insufficiently studied.

Researching the impact of stressors on a person's heart rate (HR) in real life is meaningful when conducted using the method of ambulatory 24-hour monitoring through personal digital devices (such as smartphones, fitness bracelets, and eHealth applications for smartphones) [16].

Emotional intelligence encompasses concepts such as recognizing emotions, self-motivation, empathy, and regulating emotional states [15]. It's believed that higher levels of emotional intelligence lead to better societal adaptation through emotional regulation [15].

It's known that the centers of the limbic system are responsible for the emergence of emotions [29]. They are functionally connected to the autonomic nervous system, which regulates the functioning of internal organs. Based on this, we hypothesized a connection between the state of the cardiovascular system's activity and skills related to emotional state regulation.

Currently, the influence of war on the psychophysiological state of the civilian population of Ukraine, especially the student population, who experiences the stressor of air alarm alerts almost daily, remains insufficiently researched. Therefore, the aim of the study was to establish a connection between heart rate during air alarm alerts and mental states (depression, anxiety, stress) of students, as well as components of their emotional intelligence (self-motivation, emotional self-regulation, empathy). In addition, the aim of the work is to understand the psychophysiological state of students. This can help us in the development of effective strategies for preserving the psychological health of young people. In particular, by clarifying the importance of following recommendations for a healthy lifestyle, normal sleep duration, and avoiding conditions that disrupt psychological balance. After all, a state of increased anxiety or chronic stress

can lead to health disorders, so it is important to practice methods of stress management and psycho-somatic relaxation to prevent mental and somatic health disorders.

Materials and Methods

We conducted the study among students of Ivan Franko National University of Lviv. Sixty-two second-year biology students, aged 18–19 years, participated in the study. Of them, eight were male and fifty-four were female. The students provided the consent to participate in the research study. We measured participants' HR using trackers or smartwatches worn on the wrist (such as Xiaomi Mi Smart Band 3–7, Apple Watch Series 3–7) connected to corresponding smartphone apps (Apple's «Healthy,» «Pulse Monitor Check Your Heart,» «Samsung Health,» «Heart Rate & Pulse»).

The average daily HR (arithmetic mean of HR over a day) was recorded for the entire group of students ($n=62$) based on data from trackers or smartwatches, which were read by respective smartphone apps. The students entered HR data into individual Google Sheets. We calculated the average HR value across all days of the study for each student and computed the average value for the corresponding sample. Histograms present the mean value for the students' sample as $M \pm m$ [M min – M max].

Among the entire cohort of participating students (62 individuals), HR measurements were taken in the morning and evening from 24 participants. Twenty-six physically active students additionally measured and recorded HR data before and after physical activities (fast walking, running, cardio, and strength training), while the remaining 36 individuals had little physical activity.

The study was conducted in October–November 2022. During this period, there were daily air alerts in the city of Lviv, where the participants lived and studied. From the indicators collected by the trackers, we wrote out HR indicators during the period of air alarms. HR data during air alerts were recorded for 21 students from the total sample, including 13 physically active students and 8 inactive individuals.

Out of all participants, 38 students agreed to complete two questionnaires: the «Global Emotional Intelligence Test» [12] and the «DASS21» [14]. The questionnaires were administered as Google Forms. During the questionnaire completion, students assessed their emotions and actions in various situations described in the questions. The DASS-21 assesses depression, anxiety, and stress states using three scales, each containing 7 items. The answers allow for assessing the levels of depression, anxiety, and stress. The Depression Scale assesses dysphoria, hopelessness, life devaluation, self-deprecation, lack of interest, and inertia. The Anxiety Scale evaluates vegetative arousal, skeletal muscle effects, situational anxiety, and subjective experience of anxious affect. The Stress Scale is sensitive to the level of chronic nonspecific arousal. It assesses difficulties with relaxation, nervous arousal, ease of getting upset /excited, irritability /excessive reactivity, and impatience. Scores are assigned for each of the three subscales, which are then categorized for stress, anxiety, and depression as follows: normal range (0–7), mild (8–9), moderate (10–12), severe (13–16), and extremely severe (17 and above).

The «Global Emotional Intelligence Test» [12], developed by N. Hall, measures emotional intelligence (EQ) levels and components. This test evaluates abilities to manage personal and others' emotions. It includes scales for emotional awareness, emotional management, self-motivation, empathy, and recognition of others' emotions. Scores indicate high, moderate, or low emotional intelligence. Levels of partial emotional intelligence according to the results: 14 and above – high; 8–13 – moderate; 7 and below – low. The integrative level of emotional intelligence, taking into account the dominant sign, is determined by the following quantitative indicators: 70 and above – high; 40–69 – moderate; 39 and below – low [12].

Mean values (M), standard error of the mean (m), and standard deviations (σ) were evaluated for each parameter. Student's t-test assessed the likelihood of mean differences between the two samples. Pearson correlation coefficient (r) was calculated to assess correlations, where values from 0.5 to 0.7 indicated moderate correlation, and from 0.7 to 1 indicated strong correlation. Positive values indicated direct correlations, while negative values indicated inverse correlations. Statistical significance was determined at $p < 0.05$. All statistical calculations were performed using Microsoft Office Excel.

Results and Discussion

An increase in anxiety among the population signifies a state of purposeful preparatory enhancement of sensory attention and motor readiness in situations of potential danger, leading to corresponding fear responses [2]. Emotional states such as fear, anxiety, and tension are considered psychological manifestations of stress when they occur with sufficient intensity and duration [10]. It is widely acknowledged that stressful situations and emotional stimuli lead to the activation of the stress system as a whole and the sympathetic branch of the autonomic nervous system in particular [23]. The stress system is a complex neuroendocrine system composed of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and the locus coeruleus of the brainstem/norepinephrine – part of the autonomic nervous system [18]. Psychoemotional influences activate the sympathetic nervous system, which in turn stimulates heart activity. Consequently, an external manifestation of the impact of psychoemotional factors on the human body is an increase in HR [7, 24–26]. Determining HR is one of the objective methods for assessing stress levels [31]. Therefore, we used HR as a marker of stress system activation in students under different conditions. HR is an indicator reflecting the state of the cardiovascular system and the corresponding activity of the autonomic nervous system, which is controlled by higher centers of the brainstem. Normal resting HR is an indicator of both physical and mental health [22].

We found that the average HR of students in the morning was 72.28 ± 0.91 [min: 52.32–max: 90.09] bpm (Fig. 1A). In these individuals, the average HR in the evening was 78.95 ± 0.99 [min: 63.43–max: 92.4] bpm. The HR of students in the evening was 9.23 % higher than their morning HR ($p \leq 0.05$, $n=24$). The calculated average 24-hour HR for the entire sample of students ($n=62$) was 78.12 ± 0.74 [min: 68.8–max: 88.36] bpm.

The average HR during air alarms was recorded using the applications that made the measurements automatically without student involvement.

It was revealed (Fig. 1B) that the average HR during air alarms was 91.21 ± 2.54 [min: 70.0–max: 101.0] bpm. This value was 16.8 % higher ($p \leq 0.001$) than the average 24-hour HR for all participants in the study ($n=62$), as well as those who recorded their HR during air alarms ($n=21$). Our results showed confirms that air alarm alerts are a stressor that affects the state of students.

Changes in HR are an important physiological mechanism that ensures the adaptation of the circulatory system to physical loading. HR is directly dependent on the intensity of the work performed. Therefore, HR is considered an objective indicator of the intensity of physical activity and mental stress [17]. Furthermore, HR is the primary criterion for assessing an individual's fitness level. Changes in HR facilitate the body's adaptation to physical loading. It has been established that physical exercises have a neuroprotective effect, attributed to the activation of kynurenine pathway genes [4]. Recent research has highlighted the significant neuromodulatory role of kynurenines in the brain [27]. To understand the significance of the changes in HR during air alarms, we also investigated the influence of physical activity on this parameter.

Before physical loading (running, exercises, fast walking), the average HR of students (Fig. 2A) was 74.33 ± 0.67 [min: 55.5–max: 85.59] bpm. After activity, the average HR was

113.18±1.37 [min: 82.07–max: 150.7] bpm. Thus, after physical loading (Fig. 2A), the HR of students increased by 52.3 % ($p \leq 0.001$, $n=26$). This is a normal physiological response, as physical activity requires more oxygen-rich blood. We investigated the changes in HR during air alarm alerts in physically active and physically inactive students.

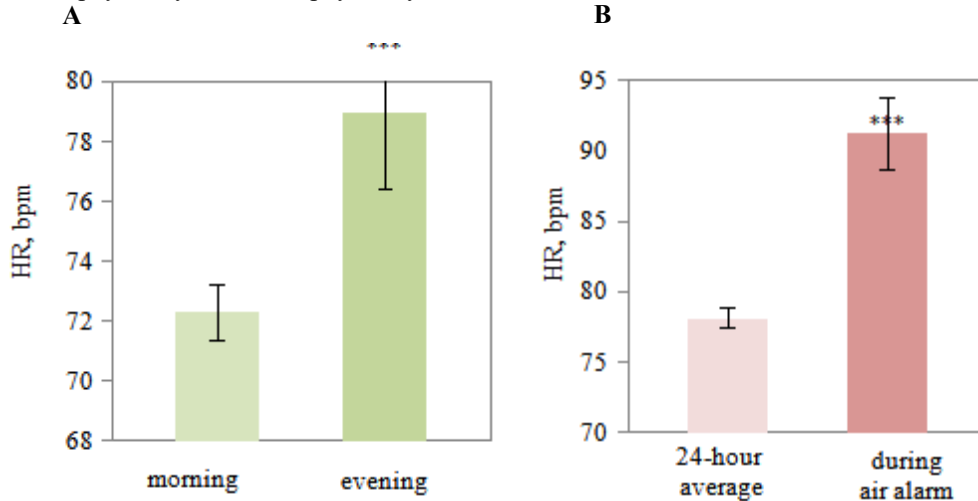


Fig. 1. Heart rate (HR, beats/min) values under different conditions: morning and evening (A), and average values throughout the day compared to HR during air alarms (B)

We divided the students with known HR during air alarms into two subgroups: 1) physically active individuals ($n=13$) – regular physical exercises, running, brisk walking; 2) physically less active individuals ($n=8$) – no sports activities. The HR values in both subgroups before activity were similar and amounted to 78.9 ± 0.74 bpm and 77.28 ± 0.54 bpm, respectively (Fig. 2B). During air alarms, the HR of physically active students increased by 18.51 % ($p \leq 0.001$, $n=13$) to 93.03 ± 2.98 bpm.

Similarly, the HR during air alarms increased by 14.19 % ($p \leq 0.001$, $n=8$) to 88.25 ± 1.79 bpm in the subgroup of physically less active students. We did not find a significant difference in HR during air alarms between the two subgroups of students. There was only a slight trend towards higher HR values in physically active individuals.

Therefore, during air alarms, students experience a 16.8 % increase in HR. However, this increase in HR does not exceed the 52.3 % increase observed during physical loading. This indicates a moderate level of stress [6] among students, which may impact their psychological state.

According to the results of the DASS21 questionnaire, we assessed the levels of depression, anxiety, and stress in 38 students.

We found (Fig. 3) that only 8 % of students had a normal level of anxiety, 16 % had mild anxiety, 24 % had a moderate level of anxiety, 13 % had severe anxiety, and 37 % had extremely severe anxiety. Thus, 50 % of students (combined severe and extremely severe) experienced anxiety beyond the normal range.

We also found (Fig. 3) that 18 % of individuals had a normal level of stress, 29 % had mild stress, 27 % had a moderate level of stress, 18 % had severe stress, and 2 % of students had extremely severe stress. Therefore, 20 % of students (combined severe and extremely severe) experienced stress levels above the norm.

We established (Fig. 3) that 32 % of individuals had no signs of depression (normal), 24 % of students had mild depression, 32 % had a moderate level of depression, 5 % had severe depres-

sion, and 5 % had extremely severe depression. Thus, 10 % of students (combined severe and extremely severe) experienced depression, while 90 % of students showed no signs of depression.

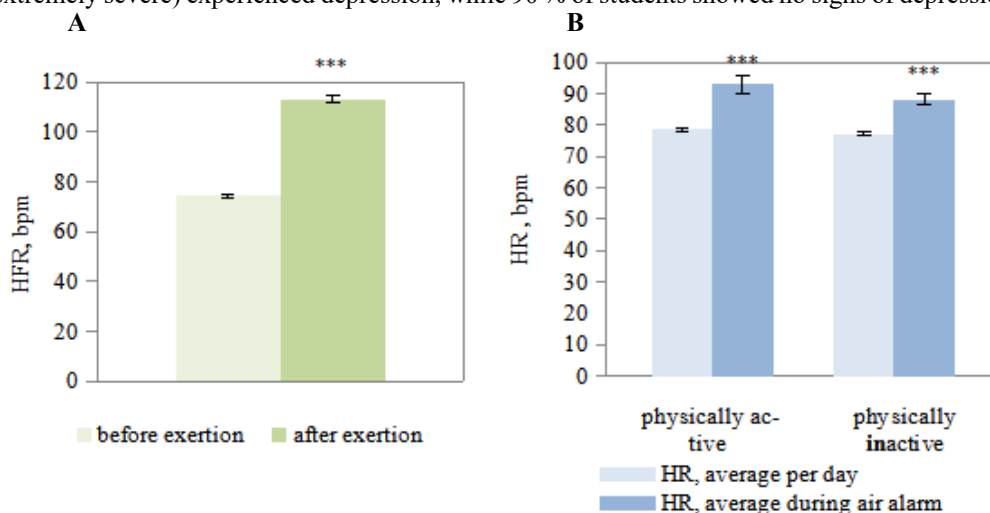


Fig. 2. The influence of physical activity (running, exercises, brisk walking) on HR (A), HR during air alarm in physically active and physically inactive students (B)

Correlation analysis showed (Fig. 4) that anxiety scores strongly correlated with stress scores ($r=0.83, p\leq 0.05, n=13$): higher stress levels were associated with higher anxiety levels.

We conducted a correlation analysis between HR during air alarms and the levels of anxiety, stress, and depression in students. We found a moderate negative correlation between the level of depression and HR during air alarms ($r=-0.55, p\leq 0.05, n=13$).

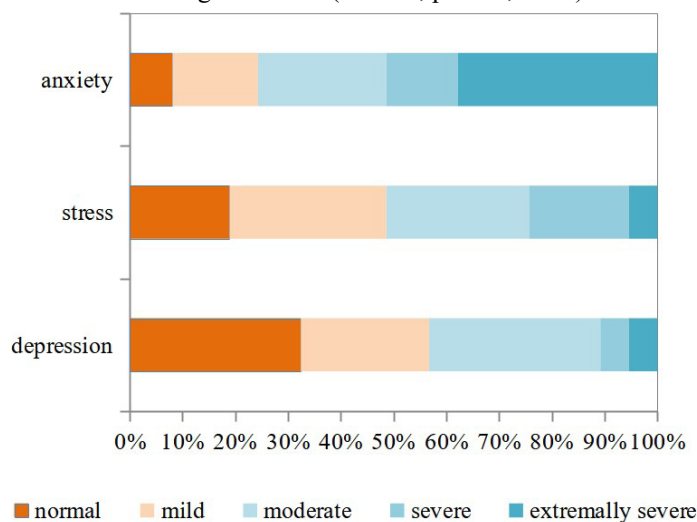


Fig. 3. Levels of anxiety, stress, and depression in the studied group of students based on DASS21 questionnaire results

Thus, the more depressive a person is, the lower their HR during the air alarm signal. Indeed, individuals with the highest level of depression ($n=2$) did not experience an increase in HR during air alarms, as opposed to most participants, where HR decreased.

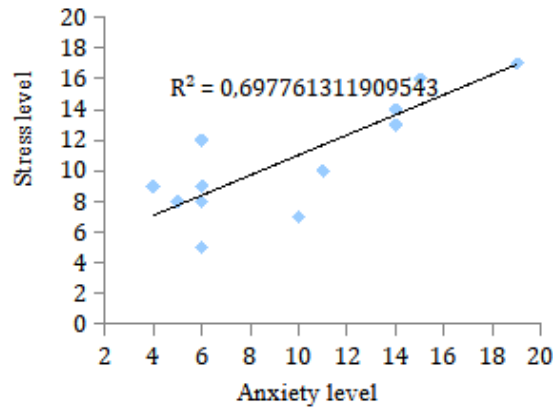


Fig. 4. Direct correlation between stress level and individuals' anxiety. *Pearson correlation coefficient* $r=0.83$, $p\leq 0.05$, $n=13$

If we exclude individuals with extremely high levels of depression from the sample ($n=2$), then there was no correlation between depression and HR during air alarms in the remaining students ($n=11$). In these individuals (Fig. 4A), a moderate positive correlation was shown between the anxiety score assessed by the questionnaire and HR during the air alarm signal ($r=0.51$, $p\leq 0.05$, $n=11$).

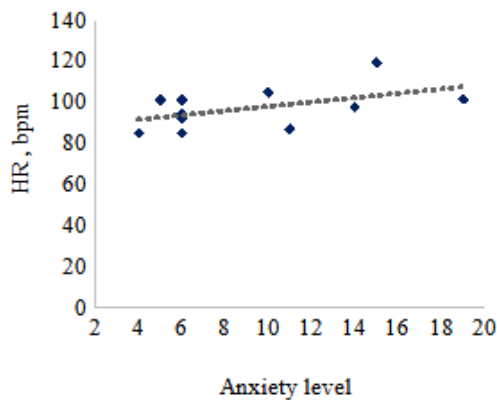


Fig. 4A. Direct correlation between students' anxiety level and HR during air alarm. *Pearson correlation coefficient* $r=0.51$, $p\leq 0.05$, $n=11$

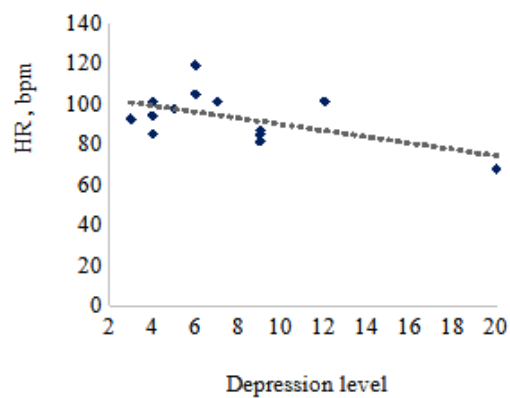


Fig. 4B. Inverse correlation between students' depression and HR during air alarm. *Pearson correlation coefficient* $r=-0.55$, $p\leq 0.05$, $n=13$

Therefore, there is a higher HR during air alarms in more anxious students, but this is not the case for depressive individuals.

We also tested whether HR correlated with the level of stress during air alarms in the sample excluding individuals with severe and extremely severe levels of depression. Interestingly, there was a weak correlation ($r=0.37$, $p\leq 0.05$, $n=11$) between HR and stress levels in students. However, in general, there was a tendency towards higher HR values during alarms in individuals with higher stress levels.

We also tested whether HR correlated with the level of stress during air alarms in the sample excluding individuals with severe and extremely severe levels of depression. Interestingly,

there was a weak correlation ($r=0.37$, $p\leq 0.05$, $n=11$) between HR and stress levels in students. However, in general, there was a tendency towards higher HR values during alarms in individuals with higher stress levels.

Our findings are consistent with both ukrainian and international authors concerning the relationship between war and anxiety disorders in the civilian population [3, 5, 19]. For instance, Kurapov et al. (2023) conducted a survey involving 706 Ukrainian citizens aged 18–65 years across different regions of the country and refugees. The authors found that levels of anxiety, depression, and stress were higher in women compared to men. The highest levels of these symptoms were observed in the age group of 26–40 years compared to individuals aged 18–20 years and >40 years [21]. Similarly, the work by Yurieva LM et al. (2022) confirmed the presence of anxiety and depression, especially in female participants [3]. These studies were conducted at the onset of the war, and their results indicated considerably higher levels of anxiety and depression than those observed in our study. Kurapov et al. also demonstrated worsening psychosocial states, including depression, exhaustion, and loneliness, specifically among students during wartime [20]. Psychological distress due to the war is also experienced by residents of other countries. In a study by Chudzicka-Czupała et al. (2023), participants from Ukraine ($n=362$), Poland ($n=1051$), and Taiwan ($n=185$) were included. The study was conducted at the beginning of the war in Ukraine. Anxiety was the most common symptom among the three groups. Ukrainians exhibited the highest levels of depression, anxiety, and stress. According to the survey, Polish and Taiwanese respondents followed. Polish respondents expressed the highest level of hopelessness regarding the war in Ukraine. The lowest level was found in Ukrainians and Taiwanese respondents [9]. Experiences of life events impact the state and health of the cardiovascular system. Increased HR is a leading factor contributing to the development of cardiovascular diseases [1]. It's known that a greater negative impact of life events is associated with an increase in HR during stress [28]. Despite the war, Ukrainian students continue to receive education through blended or distance learning, which is inherently stressful. For instance, stress frequency correlates with stress perception ($r=0.384$) in medical students at the University of Copenhagen who exhibited symptoms of depression. Conversely, in non-depressive students, there was no correlation between stress frequency and stress perception ($r=0.1$) [11]. Ukrainian students' typical academic stress has been compounded by the stress associated with war. Education demands significant intellectual effort, emotional resilience, and psychological balance. Academic activities and student self-realization are directly linked to their emotional intelligence.

Emotional intelligence is the ability to recognize one's own emotions and the emotions of others, use emotional information to regulate thinking and behavior, and differentiate various feelings and express them appropriately. Managing one's own emotions and the emotions of others falls under the concept of emotional intelligence. A higher level of emotional intelligence is significantly associated with lower levels of stress and burnout. Additionally, emotional intelligence affects stress levels, task performance, and effectiveness in working with others [15]. We assessed all components of emotional intelligence using the Global Emotional Intelligence Test questionnaire. Among all the students who filled out the questionnaires, average daily HR values were measured, and only 13 participants had additional HR recordings during air alarms.

We found (Fig. 5) that among the surveyed students ($n=38$), only 2 % had a high level of integrative emotional intelligence (≥ 70 points), 62 % had an average level (40–69 points), and 35 % had a low level of integrative emotional intelligence (≤ 39 points). We established (Fig. 6) a positive correlation of moderate strength between the level of integrative emotional intelligence and HR during air alarms ($r=0.59$, $p\leq 0.05$, $n=13$).

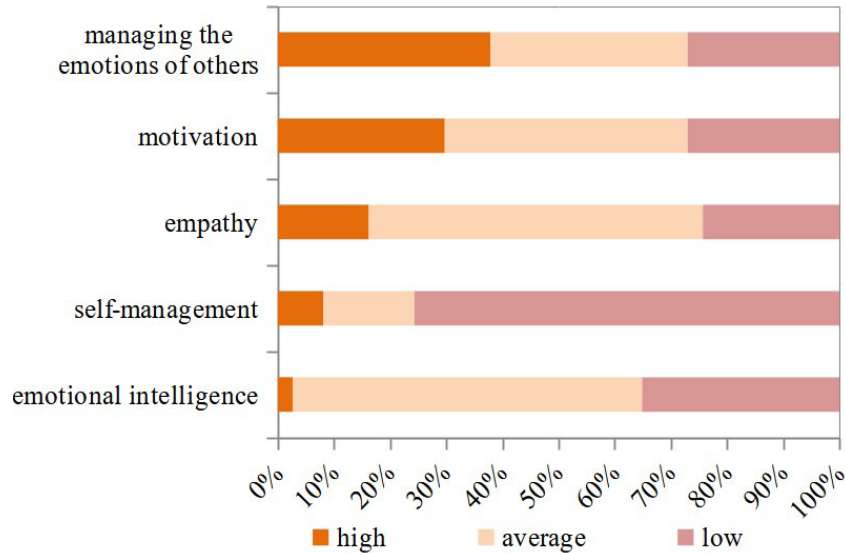


Fig. 5. Assessment of emotional intelligence and its components (self-motivation, empathy, emotional self-management, and managing the emotions of others)

We discovered (Fig. 5) that 23 % of surveyed students have a high level of emotional self-motivation, 43 % have an average level, and 29 % have a low level. A moderate positive correlation was observed between the level of self-motivation and HR during air alarms (Fig. 6) ($r=0.62$, $p\leq 0.05$, $n=13$). We also found (Fig. 5) that only 8 % of students have a high level of emotional self-management, 16 % have an average level, and 75 % have a low level. We did not find a correlation between the level of self-emotion management and average daily HR ($r=0.04$, $p\geq 0.05$, $n=38$). During air alarms (Fig. 6), a very weak correlation was observed between these indicators ($r=0.3$, $p\geq 0.05$, $n=13$), which was not statistically significant. We found (Fig. 5) that 27 % of surveyed students have a high level of managing the emotions of others, 35 % have an average level, and 37 % have a low level. A positive correlation of moderate strength was established between the level of managing the emotions of others and HR during anxiety episodes (Fig. 6) ($r=0.63$, $p\leq 0.05$, $n=38$).

Additionally, we found (Fig. 5) that 24 % of surveyed students have a high level of empathy, 59 % have an average level, and only 16 % have a low level. A positive correlation of moderate strength was established between the level of empathy and HR during air alarms (Fig. 6) ($r=0.41$, $p\geq 0.05$, $n=38$).

Thus, we examined the components of emotional intelligence: emotional awareness, emotional regulation, self-motivation, empathy, and management of others' emotions.

We found a direct correlation of moderate strength between average HR during air alarm alerts and the following indicators: a) ability to manage others' emotions ($r=0.63$, $p\leq 0.05$, $n=13$); b) integrative level of emotional intelligence ($r=0.59$, $p\leq 0.05$, $n=13$); and c) self-motivation ($r=0.62$, $p\leq 0.05$, $n=13$).

These indicators were higher in students with higher HR values during air alarm alerts. We observed an interesting trend: higher self-motivation was associated with lower levels of depression ($r=-0.31$, $p\geq 0.05$, $n=13$). There was also a tendency towards an inverse relationship between students' integrative level of emotional intelligence and depression ($r=-0.29$, $p\geq 0.05$, $n=13$).

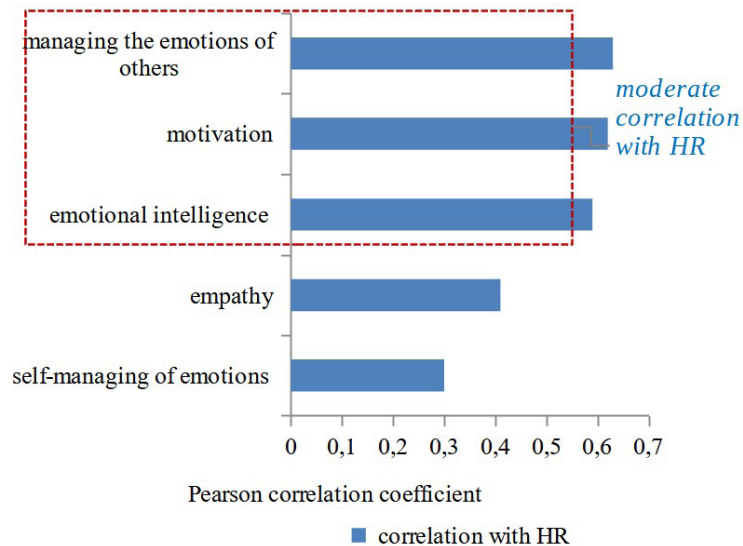


Fig. 6. Pearson correlation coefficient values between HR during air alarm and emotional intelligence components (*Pearson correlation coefficient values from 0.5 to 0.7 represent a moderate level of correlation; from 0.7 to 1 indicate a strong correlation*)

According to our data, severe and extremely severe levels of anxiety and stress were present in 50 % and 20 % of students, respectively. Among more anxious students, higher HR during air alarm alerts was observed, but this was not the case for depressed individuals. There is a moderate positive correlation between HR during air alarm alerts and students' mental and emotional states: $r=0.51$ ($n=11$) with anxiety; $r=0.59$ ($n=13$) with the level of integrative emotional intelligence; $r=0.62$ ($n=13$) with self-motivation; $r=0.63$ ($n=13$) with the level of managing others' emotions.

Conclusions

During the period of air alarm, the students' HR increased by 16.8% compared to the average daily HR. The obtained changes indicate that air anxiety is a stressful factor for the body of students, however, the increase in heart rate during anxiety was less than during physical activity, when the HR increased by 52.3 %. Both subgroups of students, physically active and physically inactive, responded to the air alarm by increasing HR by 18.51 % and 14.19 %, respectively. However, we did not find a statistically significant difference in HR between these two subgroups of students during the air alarm period.

We also observed a trend toward higher HR values during anxiety in individuals with higher levels of stress. We established an inverse relationship between the level of depression and heart rate during air anxiety in students with absent and moderate symptoms of depression. On the other hand, two people with the maximum level of depression showed a decrease in heart rate under these conditions. Therefore, it can be concluded that the more anxious a person is, the higher his HR will be during the air alarm signal, which does not apply to depressed people.

Students with higher HR values during air anxiety showed higher indicators of components of emotional intelligence, such as the ability to manage other people's emotions, integrative level of emotional intelligence, and self-motivation.

So, the war in general and air alarm in particular have an impact on the psychophysiological state of students, which is manifested in increased anxiety.

REFERENCES

1. Коваленко В. М. Стрес і серцево-судинні захворювання в умовах воєнного стану. К.: ДУ «ННЦ «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини імені академіка М. Д. Стражеска» НАМН України. 2022. С. 63–78.
2. Сургунд Н., Капустіна В. Експериментальне дослідження негативних емоційних станів в період війни // *Psychology Travelogs*. 2023. № 1. С. 87–96. <https://doi.org/10.31891/PT-2023-1-9>.
3. Юр'єва Л., Вишніченко С., Шорніков А. Аналіз феноменів тривоги та депресії у перші тижні війни: гендерно-вікові аспекти // *Психосоматична медицина та загальна практика*. 2022. Vol. 7. N 1. P. e0701351. ISSN 2519-8572. DOI: 10.26766/PMGP.V7I1.351
4. Allison D. J., Nederveen J. P., Snijders T. et al. Exercise training impacts skeletal muscle gene expression related to the kynurenine pathway // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2019. Vol. 316. N 3. P. C444–C448. doi: 10.1152/ajpcell.00448.2018
5. Amoné-P'Olak K., Ovuga E., Croudace T. J. et al. The influence of different types of war experiences on depression and anxiety in a Ugandan cohort of war-affected youth: the WAYS study // *Soc. Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2014. Vol. 49. N 11. P. 1783–1792. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00127-014-0873-5>
6. Chalmers T., Hickey B. A., Newton P. et al. Stress Watch: The Use of Heart Rate and Heart Rate Variability to Detect Stress: A Pilot Study Using Smart Watch Wearables // *Sensors (Basel)*. 2021. Vol. 22 (1). P. 151. doi: 10.3390/s22010151
7. Chen Y., Li Y., Xian H. et al. Acute cardiovascular effects of the Wenchuan earthquake: ambulatory blood pressure monitoring of hypertensive patients // *Hypertens Res.* 2009. Vol. 32. P. 797–800. <https://doi.org/10.1038/hr.2009.98>
8. Chrousos G. P., Gold P. W. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis // *JAMA*. 1992. Vol. 267. N 9. P. 1244–52.
9. Chudzicka-Czapala A., Hapon N., Man R.H.C. et al. Associations between coping strategies and psychological distress among people living in Ukraine, Poland, and Taiwan during the initial stage of the 2022 War in Ukraine // *Eur. J. Psychotraumatol.* 2023. Vol. 14. N 1. P. 2163129. doi: 10.1080/20008066.2022.2163129
10. Daviu N., Bruchas M.R., Moghaddam B. et al. Neurobiological links between stress and anxiety // *Neurobiol. Stress.* 2019. Vol. 11. P. 100191. doi: 10.1016/j.ynstr.2019.100191
11. Haldorsen H., Hasle Bak N., Dissing A., Petersson B. Stress and symptoms of depression among medical students at the University of Copenhagen // *Scand. J. Public. Health.* 2014. Vol. 42. N 1. P. 89–95. doi: 10.1177/1403494813503055
12. Hall N. Positive Psychology and Emotional Intelligence. Positive Psychology News Daily, NY (Editor S.M.). 2007.
13. Hall S. J., Aisbett B., Tait J. L. et al. The acute physiological stress response to an emergency alarm and mobilization during the day and at night // *Noise Health.* 2016. Vol. 18. N 82. P. 150–156. doi: 10.4103/1463-1741.181998
14. Henry J. D., Crawford J. R. The short-form version of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS-21): construct validity and normative data in a large non-clinical sample // *Br. J. Clin. Psychol.* 2005. Vol. 44. N 2. P. 227–39. doi: 10.1348/014466505X29657
15. Hogeveen J., Salvi C., Grafman J. 'Emotional Intelligence': Lessons from Lesions // *Trends Neurosci.* 2016. Vol. 39. N 10. P. 694–705. doi: 10.1016/j.tins.2016.08.007
16. Jensen M. T. Resting heart rate and relation to disease and longevity: past, present and future // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2019. Vol. 79. N 1–2. P. 108–116. doi: 10.1080/00365513.2019.1566567

17. Joyner M. J., Casey D. P. Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs // *Physiol. Rev.* 2015. Vol. 95. N 2. P. 549–601. doi: 10.1152/physrev.00035.2013
18. Kazakou P., Nicolaidis N.C., Chrousos G. P. Basic Concepts and Hormonal Regulators of the Stress System // *Horm. Res. Paediatr.* 2023. Vol. 96. N 1. P. 8–16. <https://doi.org/10.1159/000523975>
19. Kovess-Masfety V., Keyes K., Karam E. et al. A national survey on depressive and anxiety disorders in Afghanistan: A highly traumatized population // *BMC Psychiatry.* 2021. Vol. 21. N 1. P. 314. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-021-03273-4>
20. Kurapov A., Pavlenko V., Drozdov A. et al. Toward an understanding of the Russian-Ukrainian war impact on university students and personnel // *J. Loss Trauma.* 2022. Vol. 28. N 2. P. 167–174. <https://doi.org/10.1080/15325024.2022.2084838>
21. Kurapov A., Danyliuk I., Loboda A. et al. Six months into the war: a first-wave study of stress, anxiety, and depression among in Ukraine // *Front Psychiatry.* 2023. Vol. 14. P. 1190465. doi: 10.3389/fpsy.2023.1190465
22. McCraty R., Shaffer F. Heart Rate Variability: New Perspectives on Physiological Mechanisms, Assessment of Self-regulatory Capacity, and Health risk // *Glob Adv Health Med.* 2015. Vol. 4. N 1. P. 46–61. doi: 10.7453/gahmj.2014.073
23. McEwen B. S., Nasca C., Gray J. D. Stress Effects on Neuronal Structure: Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex // *Neuropsychopharmacol.* 2016. Vol. 41. N 1. P. 3–23. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.171>
24. Parati G., Antonicelli R., Guazzarotti F. et al. Cardiovascular effects of an earthquake: direct evidence by ambulatory blood pressure monitoring // *Hypertension.* 2001. Vol. 38. N 5. P. 1093–1095. doi: 10.1161/hy1101.095334
25. Riediker M., Herbst M. C., Devlin R. B. et al. Effect of the September 11, 2001 terrorist attack on a state highway patrol trooper's heart rate variability // *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 2005. Vol. 10. N 1. P. 83–85. doi: 10.1111/j.1542-474X.2005.00612.x.
26. Roland von Känel. Fear of terror and inflammation ignite heart health decline // *PNAS.* 2015. Vol. 112. N 5. P. 1248–1249. <https://doi.org/10.1073/pnas.1424405112>
27. Savitz J., Drevets W. C., Smith C. M. et al. Putative neuroprotective and neurotoxic kynurenine pathway metabolites are associated with hippocampal and amygdalar volumes in subjects with major depressive disorder // *Neuropsychopharmacol.* 2015. Vol. 40. N 2. P. 463–471. doi: 10.1038/npp.2014.194
28. Schneider M., Kraemmer M. M., Weber B., Schwerdtfeger A. R. Life events are associated with elevated heart rate and reduced heart complexity to acute psychological stress // *Biol. Psychol.* 2021. Vol. 163. P. 108116. doi: 10.1016/j.biopsycho.2021.108116
29. Seo D., Rabinowitz A. G., Douglas R. J., Sinha R. Limbic response to stress linking life trauma and hypothalamus-pituitary-adrenal axis function // *Psychoneuroendocrinol.* 2019. Vol. 99. P. 38–46. doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.08.023
30. Smith S. M., Vale W. W. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress // *Dialogues Clin Neurosci.* 2006. Vol. 8. N 4. P. 383–395. doi: [10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith](https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith)
31. Taelman J., Vandeput S., Spaepen A., Van Huffel S. Influence of mental stress on heart rate and heart rate variability. Part of the IFMBE Proceedings book series (IFMBE, vol. 22). 2008. P. 1366–1369.
32. Zhang X., Ge T., Yin G. et al. Stress-Induced Functional Alterations in Amygdala: Implications for Neuropsychiatric Diseases // *Front Neurosci.* 2018. Vol. 12. P. 367. doi: 10.3389/fnins.2018.00367

ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН СТУДЕНТІВ В УМОВАХ ВІЙНИ

С. Бичкова, Т. Король, О. Іккерт

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

Війна в Україні чинить вплив на психофізіологічний стан громадян незалежно від того, чи є вони безпосередніми учасниками бойових дій, чи проживають далеко від лінії вогню. Зважаючи на це, вивчення психофізіологічного стану студентів, які продовжують навчатися в країні за умов війни, є актуальною проблемою, розуміння якої може допомогти розробити ефективні стратегії збереження психологічного здоров'я молоді. Відомо, що лімбічна система, яка регулює емоції, має безпосередній вплив на роботу серцево-судинної системи. Тому метою дослідження було встановити зв'язок між частотою серцевих скорочень (ЧСС) під час повітряної тривоги та психічними станами (депресія, тривожність, стрес) студентів і складовими їхнього емоційного інтелекту (самотивація, керування власними емоціями й емоціями інших людей, емпатія).

У дослідженні взяли участь 62 студенти другого курсу біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Студенти оцінювали свій психоемоційний стан за опитувальниками «Global Emotional Intelligence Test» та «DASS21». ЧСС відстежували за допомогою смарт-годинників у поєднанні з відповідними програмами на смартфонах.

Середньодобова ЧСС студентів становила $78,12 \pm 0,74$ уд/хв ($n=62$), а у проміжок часу, коли була оголошена повітряна тривога, – $91,21 \pm 2,54$ уд/хв ($p \leq 0,001$, $n=21$). В осіб, які мали додаткові спортивні навантаження, спостерігали тільки тенденцію до вищих значень ЧСС під час повітряної тривоги, порівняно з тими, хто не виконував вправи. Виявлено, що 50 % студентів перебувають у стані тривожності, 20 % студентів відчувають важкий і надзвичайно важкий рівні стресу та 10 % студентів мають важкий рівень депресії. Встановлено середньої сили негативний кореляційний зв'язок між рівнем депресії та ЧСС під час повітряної тривоги ($r=-0,55$, $p \leq 0,05$, $n=13$). Високий рівень досліджуваних показників емоційного інтелекту виявили у такої кількості студентів: керування емоціями інших людей – 27 %, емпатія – 24 %, самотивація – 23 %, керування власними емоціями – 8 % та інтегративний емоційний інтелект – 2 %. Між показниками ЧСС під час повітряної тривоги та психічними й емоційними станами студентів встановили позитивний кореляційний зв'язок середньої сили ($p \leq 0,05$): $r=0,51$ ($n=11$) – з тривожністю; $r=0,59$ ($n=13$) – з рівнем інтегративного емоційного інтелекту; $r=0,62$ ($n=13$) – з рівнем самотивації; $r=0,63$ ($n=13$) – з рівнем керування емоціями інших людей.

Отже, війна впливає на психофізіологічний стан студентів, унаслідок чого зростає рівень тривожності. Це проявляється у зростанні ЧСС під час повітряної тривоги, що є нормальною реакцією організму на стресовий чинник. Проте чим депресивнішою є особа, тим нижчим виявляється показник ЧСС у період повітряної тривоги. Таким чином, є взаємозв'язок між показниками ЧСС під час повітряної тривоги та психофізіологічним станом студентів.

Ключові слова: частота серцевих скорочень, здоров'я, тривожність, стрес, депресія, емоції

ВПЛИВ ЕТАНОЛУ ТА ЦИКЛОСПОРИНУ А НА ДИХАННЯ ІЗОЛЬОВАНИХ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ

Г. Мазур, Б. О. Манько, В. В. Манько

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

Відомо, що етанол впливає на окисні процеси у мітохондріях печінки, а це може бути одним із механізмів розвитку алкогольної хвороби печінки. Відомий імуносупресант циклоспорин А також є інгібітором мітохондріальної пори перехідної провідності. Однак фармакологічна взаємодія етанолу та циклоспорину А недостатньо вивчена. Мета цього дослідження – дослідити вплив етанолу та циклоспорину А на швидкість дихання ізольованих гепатоцитів щурів.

Дослідження проведено на 5 щурах-самцях лінії Вістар. Гепатоцити ізольовали шляхом перфузії з колагеназою. Цілісність плазматичної мембрани оцінювали за фарбуванням клітин трипановим синім (0,1 %). Кількість інтактних клітин становила $85,7 \pm 0,92\%$. Швидкість споживання кисню вимірювали за допомогою полярографічної установки на базі електрода Кларка за 37 °С. Для дослідження роз'єданого дихання використовували протонофор FCCP. Клітинне дихання вивчали за наявності у середовищі глюкози, пірувату або монометилсукцинату. Статистичний аналіз проводили за допомогою програми Origin Pro 2018. Вірогідність різниці між групами визначали за двофакторним дисперсійним аналізом.

Після інкубації упродовж 1 год з етанолом (50 ммоль/л) швидкість базального дихання гепатоцитів за окиснення глюкози зростала на 8 %. Аналогічний результат отримано за наявності у середовищі пірувату. Однак монометилсукцинат усував стимулюючий вплив етанолу на дихання. Етанол ніяк не впливав на роз'єдане дихання гепатоцитів за окиснення глюкози, пірувату чи монометилсукцинату. У жодному з експериментів інкубація з циклоспорином А не впливала на споживання кисню клітинами. Циклоспорин А також не змінював ефектів етанолу на базальне дихання гепатоцитів. Отже, не виявлено фармакологічної взаємодії між етанолом і циклоспорином А, яка проявилася б у зміні мітохондріального дихання ізольованих гепатоцитів.

Ключові слова: гепатоцити, мітохондрії, етанол, циклоспорин А

Одним із механізмів токсичного впливу етанолу на печінку може бути його вплив на функції мітохондрій [6]. Відомо, що швидкість споживання кисню за прижиттєвої перфузії печінки щурів розчином етанолу суттєво зростає [4]. У дослідженнях на ізольованих гепатоцитах щурів етанол (10 ммоль/л) стимулював швидкість базального дихання лише за наявності пірувату, але не лактату, чи за відсутності субстратів окиснення [3]. Інші дослідження доводять зростання швидкості метаболізму етанолу за наявності пірувату [1]. Після гострого введення етанолу щурам виявлено зростання швидкості базального дихання ізольованих гепатоцитів, що не супроводжувалося підвищенням метаболізму етанолу [3]. Отже, не цілком зрозуміло, чи інтенсифікація дихання є необхідним механізмом прискорення метаболізму етанолу за наявності пірувату як основного енергетичного субстрату мітохондрій. Згідно з альтернативною гіпотезою, піруват прискорює метаболізм етанолу завдяки утилізації надлишкових відновлених еквівалентів (у формі НАДН), що

утворюються внаслідок окиснення етанолу. Зростання ж швидкості дихання за таких умов може бути наслідком деполаризації мембран мітохондрій за дії етанолу чи його токсичного метаболіту ацетальдегіду [7]. Нез'ясованим залишається механізм деполаризації мембран мітохондрій гепатоцитів за дії етанолу [6].

Попередньо показано, що циклоспорин А (CsA), інгібітор мітохондріальної пори перехідної провідності, не усуває мітохондріальної деполаризації за дії етанолу [7]. Поряд із цим, цей препарат також є відомим імуносупресантом, який пригнічує кальциневрин. Оскільки використання його у клініці досить поширене, вивчення потенційної взаємодії CsA з етанолом є важливим питанням фармакології. На сьогодні досліджено лише вплив вживання червоного вина на метаболізм циклоспорину в печінці [5]. Невідомо, чи комбінована дія цих речовин змінює функції мітохондрій печінки. Тому мета цього дослідження – дослідити вплив етанолу та циклоспорину А на швидкість дихання ізольованих гепатоцитів щурів.

Матеріали та методи

Усі маніпуляції з тваринами було проведено згідно з етичними вимогами Європейської конвенції із захисту хребетних тварин і законами України. Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Вістар, що важили 220–250 г. Тварин утримували у віварії за стабільної температури та стандартної дієти. Перед експериментом тварини голодували упродовж 18 год із вільним доступом до води.

Гепатоцити ізолювали шляхом перфузії з колагеназою (тип IV), як описано раніше [2]. Після виділення гепатоцити зберігали за кімнатної температури у базовому позаклітинному середовищі, що містило (у ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 4,7, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 1, глюкоза – 5, HEPES – 10; рН 7.4. Гепатоцити підраховували у камері Горяєва. Цілісність плазматичної мембрани оцінювали за фарбуванням клітин трипановим синім (0,1 %). Кількість інтактних клітин становила 85,7±0,92 %.

Швидкість споживання кисню вимірювали за допомогою полярографічної установки SI929 (Strathkelvin) на базі електрода Кларка. Гепатоцити інкубували впродовж 60 хв з етанолом (50 ммоль/л) або/і циклоспорином А (0,5 мкмоль/л) у базовому середовищі або з додаванням пірувату чи монометилсукцинату (по 2 ммоль/л). Після цього суспензію гепатоцитів вносили у полярографічну комірку та реєстрували (за 37 °С) базальне і роз'єднане дихання шляхом титрування протонофором FCCP у концентраціях 0,25, 0,5 та 1 мкмоль/л.

Для підвищення точності всі експерименти проводили у двох технічних повторах, результати яких усереднювали. Кількість окремих препаратів клітин, отриманих із різних тварин, становила 5. Швидкість дихання підраховували, застосовуючи авторську програму, створену за допомогою мови програмування Python. Статистичний аналіз проводили з використанням програми Origin Pro 2018. Вірогідність різниці між групами визначали за двофакторним дисперсійним аналізом.

Результати і їхнє обговорення

Спочатку ми дослідили вплив етанолу та CsA на дихання ізольованих гепатоцитів щурів у базовому позаклітинному середовищі, яке містило лише глюкозу як джерело енергії. Для цього ізольовані гепатоцити (2 млн/мл) інкубували упродовж 1 год з етанолом, CsA та у комбінації етанолу і CsA. У контролі швидкість базального дихання гепатоцитів становила $0,167 \pm 0,009$ нмоль O₂/с/млн клітин (рис. 1). Згідно з результатами двофакторного дисперсійного аналізу, CsA не впливав на базальне дихання гепатоцитів, а етанол статистично вірогідно підвищував базальне дихання (незалежно від наявності

CsA) – в середньому лише на 8 %. На нашу думку, такий низький ефект вдалося зареєструвати завдяки наявності паралельних вимірювань і автоматичного обчислення швидкості дихання.

Додавання протонофора FCCP зумовлювало стимулювання дихання. На рис. 1 (справа) представлено дані максимальної швидкості роз'єданого дихання, якої досягали за додавання аліквот FCCP (у діапазоні концентрацій 0,25–1 мкмоль/л). Ні етанол, ні CsA не впливали на максимальну швидкість споживання кисню гепатоцитів.

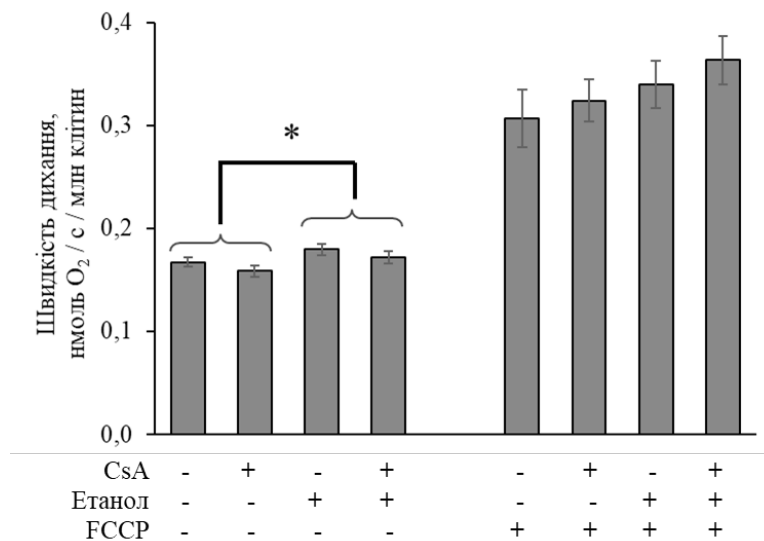


Рис. 1. Вплив етанолу та CsA на базальне і роз'єдане (FCCP +) дихання ізольованих гепатоцитів щурів за окиснення глюкози: [етанол] = 50 ммоль/л; [CsA] = 0,5 мкмоль/л; [глюкоза] = 5 ммоль/л, FCCP = 0,25–1 мкмоль/л; * – статистично вірогідна різниця за впливу етанолу згідно із двофакторним дисперсійним аналізом; $P < 0,05$, $n = 5$

Оскільки з даних літератури відомо, що саме наявність пірувату забезпечує стимуляцію етанолом дихання ізольованих гепатоцитів [3], то ми припустили, що за наявності глюкози у нашому експерименті також утворювалася достатня кількість пірувату для прояву ефекту етанолу. У додаткових експериментах ми перевірили цю гіпотезу, додавши до середовища піруват або метиловий естер сукцинату – монометилсукцинат. Априорі, наявність монометилсукцинату не мала би впливати на окиснення етанолу, оскільки сукцинат, на відміну від пірувату, швидко окиснюється мітохондріями і продукує відновлювальні еквіваленти у формі ФАДН₂. Піруват, натомість, не лише окиснюється, а й може перетворюватись на лактат, генеруючи додаткову кількість акцептора протонів НАД⁺ для реакцій окиснення етанолу.

За наявності у середовищі пірувату отримано подібні результати, як і в попередньому експерименті. Зокрема, інкубація з етанолом зумовлювала статистично вірогідне зростання швидкості базального дихання гепатоцитів (рис. 2), але не роз'єданого дихання. CsA не впливав на ці показники. Також дисперсійний аналіз не виявив взаємодії цих двох факторів. Але за наявності монометилсукцинату ні етанол, ні CsA не впливали на дихання гепатоцитів (рис. 3).

Результати цих експериментів підтвердили нашу гіпотезу, що саме піруват, а не інші енергетичні субстрати, необхідний для інтенсифікації базального дихання за дії етанолу.

Відсутність впливу етанолу на максимальне роз'єднане дихання вказує на те, що етанол не спричиняє активації ферментів циклу трикарбонових кислот або дихального ланцюга, а його вплив на базальне дихання, скоріше за все, пов'язаний із деполяризацією мембран мітохондрій [7].

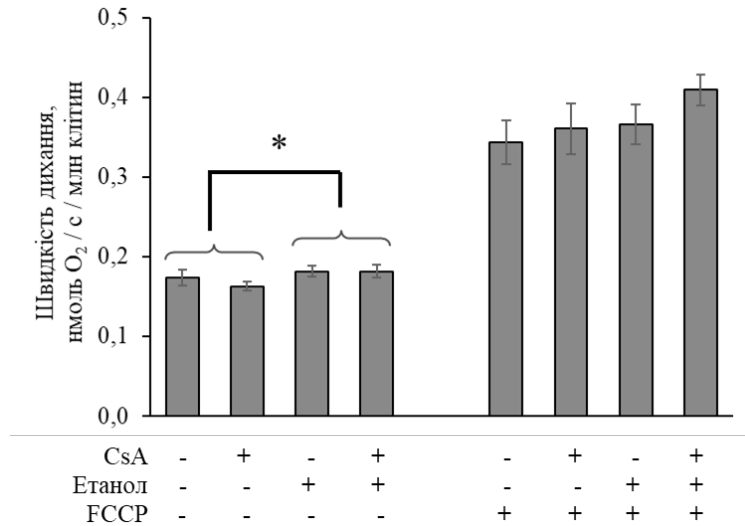


Рис. 2. Вплив етанолу та CsA на базальне та роз'єднане (FCCP +) дихання ізольованих гепатоцитів щурів за окиснення глюкози і пірувату: [етанол] = 50 ммоль/л; [CsA] = 0,5 мкмоль/л; [глюкоза] = 5 ммоль/л; [піруват] = 2 ммоль/л; FCCP = 0,25–1 мкмоль/л; * – статистично вірогідна різниця за впливу етанолу згідно із двофакторним дисперсійним аналізом; P<0,05, n=5

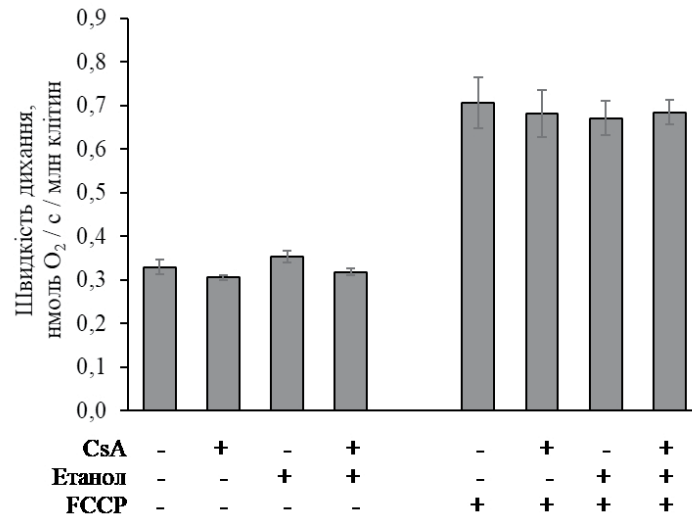


Рис. 3. Вплив етанолу та CsA на базальне і роз'єднане (FCCP +) дихання ізольованих гепатоцитів щурів за окиснення глюкози та монометилсукцинату: [етанол] = 50 ммоль/л; [CsA] = 0,5 мкмоль/л; [глюкоза] = 5 ммоль/л; [монометилсукцинат] = 2 ммоль/л; FCCP = 0,25–1 мкмоль/л; n=5

Ми не виявили доказів взаємодії етанолу з CsA у впливі на дихання мітохондрій ізольованих гепатоцитів. Очевидно, за умов цього короточасного експерименту інгібування мітохондріальної пори перехідної провідності не чинить впливу на дихання мітохондрій навіть за наявності досить високої концентрації етанолу. Однак щоб перевірити відсутність фармакологічної взаємодії CsA з алкоголем, особливо у пацієнтів із захворюваннями печінки, необхідно провести більш детальні експерименти *in vivo*.

У підсумку, етанол *in vitro* здатний стимулювати базальне дихання завдяки метаболізму пірувату, але не сукцинату, а циклоспорин А не впливає на цей процес.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Grunnet N., Quistorff B., Thieden H. I. D. Rate-Limiting Factors in Ethanol Oxidation by Isolated Rat-Liver Parenchymal Cells. Effect of Ethanol Concentration, Fructose, Pyruvate and Pyrazole // Eur. J. Biochem. 1973. Vol. 40. P. 275–282.
2. Mazur H. M., Merlavsky V. M., Manko B. O., Manko V. V. Dependence of the mitochondrial adaptive capacity of hepatocytes on the oxidative substrates availability // Ukr. Biochem. J. 2019. Vol. 91. N 6. P. 5–14.
3. Stowell K. M., Crow K. E. The effect of acute ethanol treatment on rates of oxygen uptake, ethanol oxidation and gluconeogenesis in isolated rat hepatocytes // Biochem. J. 1985. Vol. 230. N 3. P. 595–602.
4. Sugano T., Handler J. A., Yoshihara H. et al. Acute and Chronic Ethanol Treatment in Vivo Increases Malate-Aspartate Shuttle Capacity in Perfused Rat Liver // J. Biol. Chem. 1990. Vol. 265. N 35. P. 21549–21553.
5. Tsunoda S. M., Harris R. Z., Christians U. et al. Red wine decreases cyclosporine bioavailability // Clin. Pharmacol. Ther. 2001. Vol. 70. N 5. P. 462–467.
6. Zhong Z., Lemasters J. J. A unifying hypothesis linking hepatic adaptations for ethanol metabolism to the proinflammatory and profibrotic events of alcoholic liver disease // Alcohol Clin Exp Res. 2018. Vol. 42. N 11. P. 2072–2089.
7. Zhong Z., Ramshesh V. K., Rehman H. et al. Acute Ethanol causes hepatic mitochondrial depolarization in mice: role of ethanol metabolism // PLOS One. 2014. Vol. 9. N 3. P. e91308.

Стаття надійшла до редакції 29.03.24

доопрацьована 09.05.24

прийнята до друку 10.05.24

EFFECT OF ETHANOL AND CYCLOSPORINE A ON RESPIRATION OF ISOLATED RAT HEPATOCYTES

H. Mazur, B. O. Manko, V. V. Manko

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

It is known that ethanol affects the oxidative processes in liver mitochondria, which can be one of the mechanisms of the development of the alcoholic liver disease. A well-known immunosuppressant cyclosporine A is also an inhibitor of mitochondrial permeability transition pore. However, the pharmacological interaction of ethanol and cyclosporin A

is not sufficiently studied. The aim of the study was to investigate the effect of ethanol and cyclosporine A on the respiration rate of isolated rat hepatocytes.

Five male Wistar rats were used in the study. Hepatocytes were isolated by perfusion with collagenase. Cell plasma membrane integrity was assessed with trypan blue staining (0.1 %). Intact cell number was 85.7 ± 0.92 %. The rate of oxygen consumption was measured using a polarographic device based on a Clark electrode. Protonophore FCCP was used to study the uncoupled respiration. Cell respiration was studied in the presence of glucose, pyruvate or monomethylsuccinate in solution. Statistical analysis was performed with Origin Pro 2018 software. Significance of difference between groups was evaluated with analysis of variance test.

After one hour incubation with ethanol (50 mM), the rate of basal respiration of hepatocytes oxidizing glucose increased by a meager 8 %. Similar result was obtained upon the presence of pyruvate in solution. Monomethylsuccinate, however, abolished the effect of ethanol on basal respiration. he but not uncoupled respiration of hepatocytes upon glucose or pyruvate oxidation. Ethanol did not affect the uncoupled respiration of hepatocytes in presence of glucose, pyruvate of monomethylsuccinate. Incubation with cyclosporin A did not cause any changes in cell oxygen consumption in all experiments. Cyclosporin A also did not modify the effects of ethanol on basal respiration of hepatocytes. Therefore, no pharmacological no interaction between ethanol and cyclosporin A was detected, which could be evidenced by the change of mitochondrial respiration of isolated hepatocytes.

Keywords: hepatocytes, mitochondria, ethanol, cyclosporine A

КІЛЬКІСНІ ТА ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМОГРАМ ЧОЛОВІКІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП У НОРМИ ТА ЗА ПАТОЛОГІЙ

А. Тарновська, А. Генега, Д. Грицишин, Я. Музика, В. Чемьоркіна, Н. Федькович

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

Досліджували показники спермограм чоловіків різного віку: молодша (20–29 р.), середня (30–39 р.) і старша (40–50 р.) вікові групи за нормозооспермії, оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії та гіпотератоастенозооспермії. Спермограми було отримано під час дослідження пацієнтів у клініці репродуктивної медицини «Альтернатива клініка». Якість еякулятів і спермій оцінювали за показниками: об'єм еякуляту, в'язкість, кількість сперматозоїдів у 1 мл еякуляту; загальна кількість сперматозоїдів у еякуляті; рухливість сперматозоїдів за категоріями руху А та В; морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і змінених сперматозоїдів), показник плідності Фарріса та кількість активних сперматозоїдів. Ми з'ясували, що основними показниками відхилень у спермограмах чоловіків різних вікових груп є рухливість сперматозоїдів за категоріями руху А та В; морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і змінених), показник плідності Фарріса та кількість активних сперматозоїдів.

Щоби встановити частку впливу оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії та гіпотератоастенозооспермії і фактора віку в загальну мінливість показників спермограм чоловіків молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) вікових груп, провели 41 серію однофакторного та 18 серій двофакторного дисперсійного аналізу. Встановили, що частка впливу досліджуваних захворювань у загальну мінливість показника рухливості сперматозоїдів за категорією В у чоловіків молодшої вікової групи незначна і становить 10 % від загального внеску, натомість зростає частка впливу неврахованих факторів, яка становить 90 % від загального внеску. Це може свідчити про наявність патологічних процесів у репродуктивних органах чоловіків. Частка впливу фактора віку в загальну мінливість таких показників спермограм як рухливість сперматозоїдів за категоріями А та В, морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і дегенеративних сперматозоїдів), показник плідності Фарріса й активність і життєздатність сперматозоїдів молодшої, середньої та старшої вікових груп є незначною – в межах від 1 до 6 %.

Ключові слова: еякулят, спермограма, оліготератоастенозооспермія, тератоастенозооспермія, гіпотератоастенозооспермія, непліддя, фактор віку, чоловік

На сьогоднішній день у 40–50 % випадків причиною безпліддя в подружніх парах є чоловічий фактор [8, 10, 11]. Негативний вплив на генеративну здатність у чоловіків мають захворювання статевих органів, ендокринні, імунні та генетичні зміни [4, 7, 12, 15]. З віком загальне здоров'я чоловіків і якість їхньої сперми погіршуються. Після 35 років здатність сперматозоїдів до запліднення удвічі менша, ніж у молодшому віці, а після 40 років рівень статевого гормону тестостерону істотно знижується [6, 9, 14].

За останні 50 років середня кількість сперматозоїдів у еякуляті здорових чоловіків зменшилась удвічі, середній об'єм еякуляту зменшився на третину, а також знизилися кількісні та якісні показники сперми [5, 16, 22]. Ймовірно, це пояснюється тенденцією до збільшення кількості захворювань чоловічих статевих органів [1, 17, 18]. Окрім цього,

спостерігається погіршення кількісних і якісних показників спермограми у здорових чоловіків [2, 19, 20, 23].

Кількість, рухливість і морфологія сперматозоїдів є найважливішими тестами оцінювання чоловічої фертильності [3, 13, 21]. Незважаючи на велику базу досліджень, досі не вирішено проблеми зниження чоловічої фертильності, остаточно не встановлено причину та зв'язок зниження кількісних і якісних параметрів еякуляту, зниження запліднювальної здатності сперміїв за відсутності відхилень від фізіологічно нормальних параметрів еякуляту, не досліджено зв'язку та впливу цих показників один на одного. Актуальними залишаються проблеми захисту органів репродуктивної системи чоловіків від впливу негативних чинників, які зумовлюють зниження фертильності, побудова моделей імовірних причин зниження репродуктивної здатності. Важливим також є дослідження вікового фактора зниження чоловічої фертильності щодо інших факторів.

Мета роботи полягала у порівняльному аналізі спермограм чоловіків різних вікових груп за нормозооспермії, оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії та гіпотератозооспермії. Завдання дослідження: проаналізувати основні показники спермограм чоловіків молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) вікових груп за нормозооспермії, оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії й гіпотератозооспермії, провести однофакторний і двофакторний дисперсійний аналіз впливу захворювань та фактора віку на показники спермограм чоловіків молодшої, середньої і старшої вікових груп.

Матеріали та методи

Спермограми було отримано під час дослідження пацієнтів у клініці репродуктивної медицини «Альтернатива клініка». Загалом обстежено 148 чоловіків: 56 чоловіків віком від 20 до 29 років (молодша вікова група), 56 чоловіків віком від 30 до 39 років (середня вікова група) та 36 чоловіків віком від 40 до 50 років (старша група). Спермограми оцінювали за показниками: об'єм еякуляту (мл), в'язкість, кількість сперматозоїдів у 1 мл еякуляту (млн/мл); загальна кількість сперматозоїдів у еякуляті (млн); рухливість сперматозоїдів за категоріями руху А (швидкі поступальні рухи) та В (повільні, в'ялі поступальні рухи); морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і морфологічно змінених сперматозоїдів), показник плідності Фарріса та кількість активних сперматозоїдів. Контролем служили спермограми пацієнтів із нормозооспермією (коли кількісні та якісні показники сперми є в межах норми).

Визначення показника плідності Фарріса (індекс Фарріса) необхідне для передбачення ймовірного запліднення яйцеклітини. Оцінка якості сперми є одним із найважливіших методів визначення чоловічої фертильності й функціонального стану сечостатевої системи.

$$\text{Індекс Фарріса} = \frac{\text{Об'єм еякуляту} \times \text{кільк. сперм. в 1 мл} \times \% \text{ рухомих сперм.}}{100}$$

Щоби встановити частку впливу оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії та гіпотератозооспермії й фактора віку в загальну мінливість показників спермограм чоловіків молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) вікових груп, ми провели 41 серію однофакторного та 18 серій двофакторного дисперсійного аналізу.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Excel (зокрема, пакету «Аналіз даних», знаходячи основні статистичні показники з безпосередніх кількісних даних, отриманих у результаті досліджень (середнє арифметичне значення М;

стандартна похибка середнього арифметичного m). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважали різницю за $p \geq 0,95$; $p \geq 0,99$.

Результати і їхнє обговорення

Встановили, що в молодшій віковій групі (56 пацієнтів) у 15-х чоловіків спермограми відповідали тератоастенозооспермії, у 15-х – нормозооспермії, у 15-х – олігоастенотератоозоспермії, а в 11-х – гіпотератоозоспермії. У середній віковій групі (56 пацієнтів) у 16-х чоловіків спермограми відповідали тератоастенозооспермії, у 16-х – нормозооспермії, у 16-х виявлено олігоастенотератоозоспермію, а у 8-х – спермограми відповідали гіпотератоозоспермії. У старшій віковій групі (36 пацієнтів) у 13-х чоловіків спермограми відповідали тератоастенозооспермії, у 10-х – нормозооспермії, у 5-х – олігоастенотератоозоспермії, а у 8-х – гіпотератоозоспермії.

Аналіз результатів спермограм чоловіків різних вікових груп свідчить, що основними показниками відхилень від контролю є рухливість сперматозоїдів за категоріями руху А та В; морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і морфологічно змінених сперматозоїдів), показник плідності Фарріса та кількість активних сперматозоїдів.

Перший критерій – рухливість сперматозоїдів, яку ми оцінювали за показниками: А – швидкі поступальні рухи та В – повільні, в'ялі поступальні рухи. Зокрема, відомо, що прогресивна рухливість сперматозоїдів є основним показником, оскільки саме ці статеві клітини можуть ефективно просуватися по жіночому репродуктивному тракту для запліднення яйцеклітини. Якщо рухливість сперматозоїдів знижена, це може бути пов'язано з різними причинами, такими як стан й інтенсивність сперміогенезу, гормональні порушення, інфекції чи інші проблеми з розвитком сперматозоїдів [21].

Встановлено, що у чоловіків молодшої вікової групи (20–29 р.), хворих на тератоастенозооспермію, рухливість сперматозоїдів за категоріями А та В становить 16 % і 19 %, на гіпотератоозоспермію – 19 % і 14 %, на оліготератоастенозооспермію – 10 % і 14 %, відповідно (нормозооспермія – 34 % і 18 %) (рис. 1).

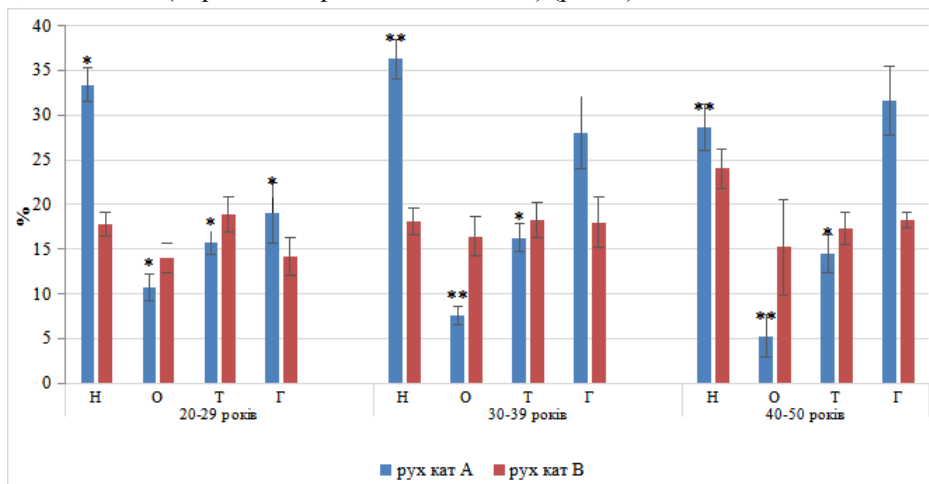


Рис. 1. Порівняння рухливості сперматозоїдів за категоріями А та В у спермограмах чоловіків вікових груп: молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) з нормозооспермією (Н), оліготератоастенозооспермією (О), тератоастенозооспермією (Т) та гіпотератоозоспермією (Г). Тут і далі за контроль прийнято показники спермограм чоловіків із нормозооспермією. Достовірно порівняно з контролем: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$

У чоловіків середньої вікової групи (30–39 р.), хворих на тератоастенозооспермію, рухливість сперматозоїдів за категоріями А та В становить 16 % і 18 %, на оліготератоастенозооспермію – 8 % і 16 %, на гіпотератоастенозооспермію – 28 % і 18 %, відповідно (нормозооспермія – 36 % і 18 %).

У чоловіків старшої вікової групи (40–50 р.), хворих на тератоастенозооспермію, рухливість сперматозоїдів за категоріями А та В становить 15 % і 17 %, на оліготератоастенозооспермію – 5 % і 15 %, на гіпотератоастенозооспермію 32 % і 18 %, відповідно (нормозооспермія – 27 % і 24 %).

Визначення морфології сперматозоїдів є основою для оцінювання фертильності, оскільки характеризує запліднювальну здатність спермій. Морфологія сперматозоїдів вказує, який відсоток усіх статевих клітин має повноцінну будову. У нормі має бути більше 50 % спермій з нормальною будовою. Якщо сперматозоїди мають аномальну морфологію, це може впливати на їхню здатність до запліднення яйцеклітини. Оцінка морфології сперматозоїдів включає визначення відсоткового співвідношення нормальних форм сперматозоїдів до загальної кількості сперматозоїдів у зразку [21].

Встановили, що у чоловіків молодшої вікової групи (20–29 р.), хворих на тератоастенозооспермію, кількість морфологічно нормальних сперматозоїдів та морфологічно дегенеративних сперматозоїдів становить 21 % і 79 %, хворих на гіпотератоастенозооспермію – 21 % і 79 %, хворих на оліготератоастенозооспермію – 15 % і 85 %, відповідно (нормозооспермія – 37 % і 63 %, відповідно).

У чоловіків середньої вікової групи (30–39 р.) з тератоастенозооспермією та гіпотератоастенозооспермією кількість морфологічно нормальних сперматозоїдів є менша порівняно з нормою і становить 19 % і 23 % морфологічно нормальних та 78 % і 77 % морфологічно дегенеративних сперматозоїдів, відповідно (нормозооспермія – 35 % морфологічно нормальних і 65 % морфологічно дегенеративних сперматозоїдів). У хворих на оліготератоастенозооспермію кількість морфологічно нормальних сперматозоїдів теж менша порівняно з нормою і становить 17 % морфологічно нормальних та 83 % морфологічно дегенеративних сперматозоїдів.

У чоловіків старшої вікової групи (40–50 р.) з тератоастенозооспермією та гіпотератоастенозооспермією кількість морфологічно нормальних сперматозоїдів є менша порівняно з нормою та становить 17 % і 24 % морфологічно нормальних та 83 % і 76 % морфологічно дегенеративних сперматозоїдів, відповідно, (нормозооспермія – 36 % морфологічно нормальних і 64 % морфологічно дегенеративних сперматозоїдів). У хворих на оліготератоастенозооспермію кількість морфологічно нормальних сперматозоїдів теж менша порівняно з нормою і становить 14 % морфологічно нормальних та 86 % морфологічно дегенеративних сперматозоїдів (рис. 2).

Встановлено, що у чоловіків молодшої вікової групи (20–29 р.), хворих на тератоастенозооспермію, гіпотератоастенозооспермію та оліготератоастенозооспермію, індекс Фарріса значно нижчий за норму і становить 76 %, 43 % та 9 %, відповідно (нормозооспермія – 155 %), кількість активних сперматозоїдів теж є значно нижчою за норму і становить, відповідно, 9 %, 18 % та 0 % (нормозооспермія – 33 %).

З'ясовано, що у чоловіків середньої вікової групи (30–39 р.), хворих на тератоастенозооспермію, гіпотератоастенозооспермію та оліготератоастенозооспермію, індекс Фарріса значно нижчий за норму і становить 72 %, 61 % та 13 %, відповідно (нормозооспермія – 160 %). Кількість активних сперматозоїдів у чоловіків середньої вікової групи (30–39 р.), хворих на тератоастенозооспермію, гіпотератоастенозооспермію та оліготератоастенозооспермію, становить 11 %, 25 % та 1 %, відповідно (нормозооспермія – 27 %).

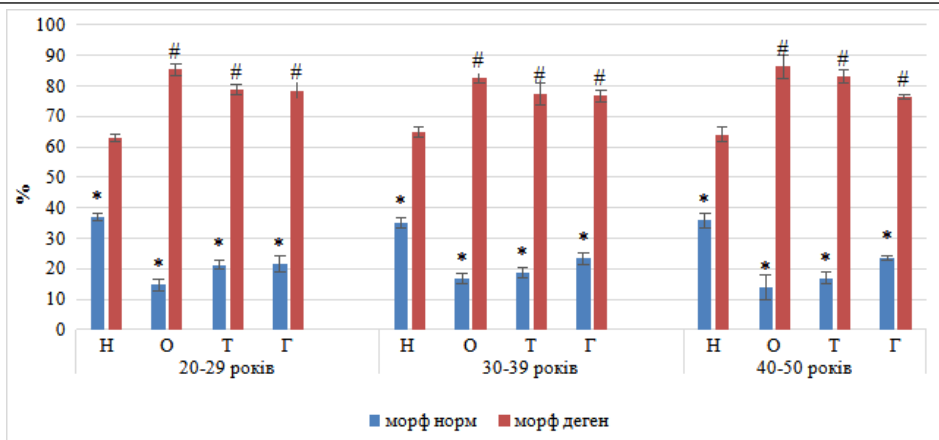


Рис. 2. Відсоток морфологічно нормальних і дегенеративних сперматозоїдів у еякулятах чоловіків вікових груп: молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) із нормозооспермією (Н), оліготератоастенозооспермією (О), тератоастенозооспермією (Т) та гіпотератоастенозооспермією (Г). * Достовірно порівняно з контролем (відсоток морфологічно нормальних сперматозоїдів), $p \geq 0,95$. # Достовірно порівняно з контролем (відсоток морфологічно дегенеративних сперматозоїдів), $p \geq 0,95$

У чоловіків старшої вікової групи (40–50 р.), хворих на тератоастенозооспермію, гіпотератоастенозооспермію та оліготератоастенозооспермію, показник плідності Фарріса нижчий за норму і становить 103 %, 138 % та 7 %, відповідно (нормозооспермія – 164 %). Це вказує на низьку ймовірність запліднення. Кількість активних сперматозоїдів у чоловіків старшої вікової групи (40–50 р.) з тератоастенозооспермією, гіпотератоастенозооспермією та оліготератоастенозооспермією теж нижчі за норму і становлять 11 %, 21 % та 0 %, відповідно (нормозооспермія – 26 %) (рис. 3).

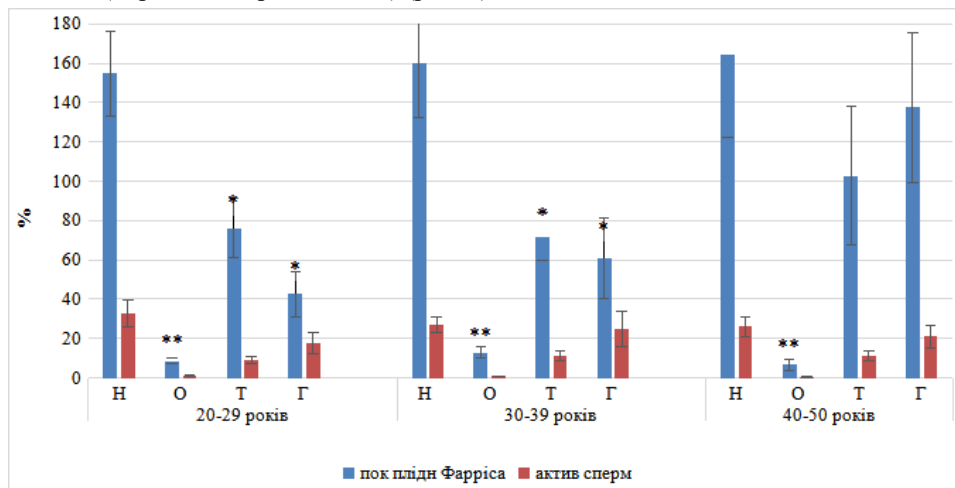


Рис. 3. Показник плідності Фарріса та кількість активних сперматозоїдів у спермограмах чоловіків вікових груп: молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) з нормозооспермією (Н), оліготератоастенозооспермією (О), тератоастенозооспермією (Т) та гіпотератоастенозооспермією (Г). Достовірно порівняно з контролем (показник плідності Фарріса), * $p \geq 0,95$, ** $p \geq 0,99$

Для кількісної оцінки впливу оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії та гіпотератоозоспермії у загальну мінливість показників спермограм чоловіків молодшої (20–29 р.), середньої (30–39 р.) та старшої (40–50 р.) вікових груп провели однофакторний дисперсійний аналіз (рис. 4–6).

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника рухливості сперматозоїдів за категорією А у чоловіків молодшої вікової групи становить 59 % від загального внеску, а у чоловіків середньої та старшої вікових груп 71 % і 62 %, відповідно, від загального внеску.

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника рухливості сперматозоїдів за категорією В у чоловіків молодшої вікової групи становить 10 % від загального внеску (частка впливу неврахованих факторів 90 %), а у чоловіків середньої та старшої вікових груп 1 % (частка впливу неврахованих факторів 99 %) та 21 % (частка впливу неврахованих факторів 79 %), відповідно, від загального внеску.

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника морфологічно нормальних сперматозоїдів у чоловіків молодшої вікової групи становить 64 % від загального внеску, а у чоловіків середньої та старшої вікових груп 61 % і 65 %, відповідно, від загального внеску.

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника морфологічно дегенеративних сперматозоїдів у чоловіків молодшої вікової групи становить 64 % від загального внеску, у чоловіків середньої та старшої вікових груп 38 % і 66 %, відповідно, від загального внеску.

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника плідності Фаррїса у чоловіків молодшої вікової групи становить 51 % від загального внеску, у чоловіків середньої та старшої вікових груп частки впливу досліджуваних хвороб вірогідно знижуються і становлять 43 % та 17 %, відповідно, від загального внеску.

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника кількості активних сперматозоїдів у чоловіків молодшої вікової групи становить 43 % від загального внеску, тоді як у чоловіків середньої та старшої вікових груп частки впливу досліджуваних хвороб вірогідно знижуються й становлять 39 % і 37 %, відповідно, від загального внеску (рис. 4–6).

Для кількісної оцінки впливу оліготератоастенозооспермії, тератоастенозооспермії та гіпотератоозоспермії і фактора віку в загальну мінливість показників спермограм чоловіків молодшої, середньої та старшої вікових груп було проведено двофакторний дисперсійний аналіз.

Провівши двофакторний дисперсійний аналіз впливу досліджуваних захворювань і фактора віку на загальні показники спермограм чоловіків різних вікових груп, виявили, що частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника рухливості сперматозоїдів за категоріями А та В становить 90 % від загального внеску (частка впливу фактора віку 1 %, неврахованих факторів 9 %) та 48 % від загального внеску (частка впливу фактора віку 17 %, частка впливу неврахованих факторів 36 %), відповідно.

Частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показників морфологічно нормальних і морфологічно дегенеративних сперматозоїдів у спермограмах чоловіків різних вікових груп становить 98 % від загального внеску (частка впливу неврахованих факторів 2 %) та 96 % від загального внеску (частка впливу фактора віку 1 %, частка впливу неврахованих факторів 3 %), відповідно.

Частка впливу досліджуваних захворювань у загальну мінливість показника плідності Фаррїса у спермограмах чоловіків різних вікових груп становить 86 % від загального внеску (частка впливу фактора віку 6 %, частка впливу неврахованих факторів 8 %).

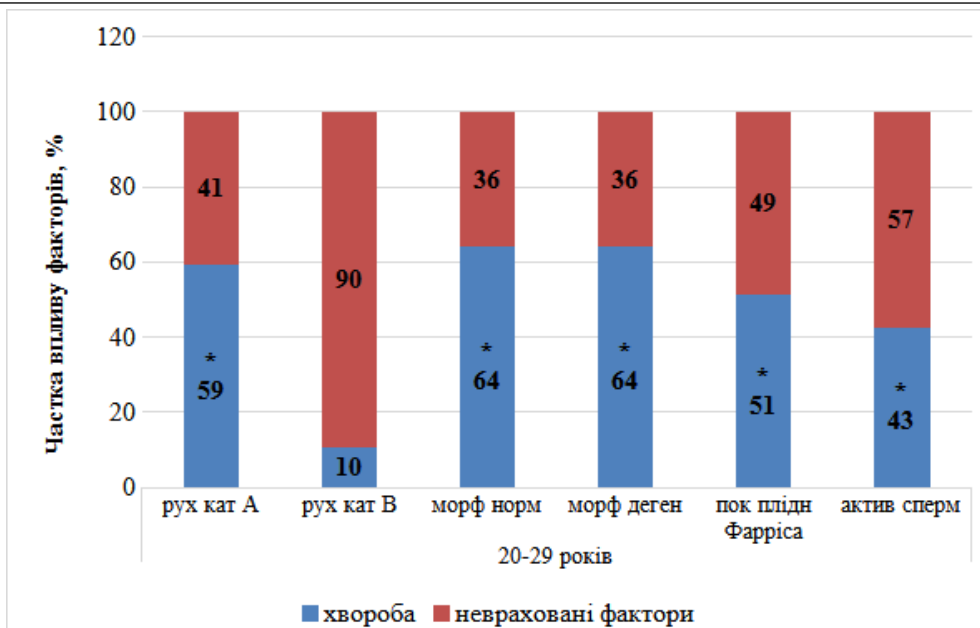


Рис. 4. Частка впливу захворювань на загальну мінливість показників спермограм чоловіків молодшої вікової групи. За контроль узято спермограми чоловіків з нормозооспермією. * Достовірно порівняно з контролем $p \geq 0,95$

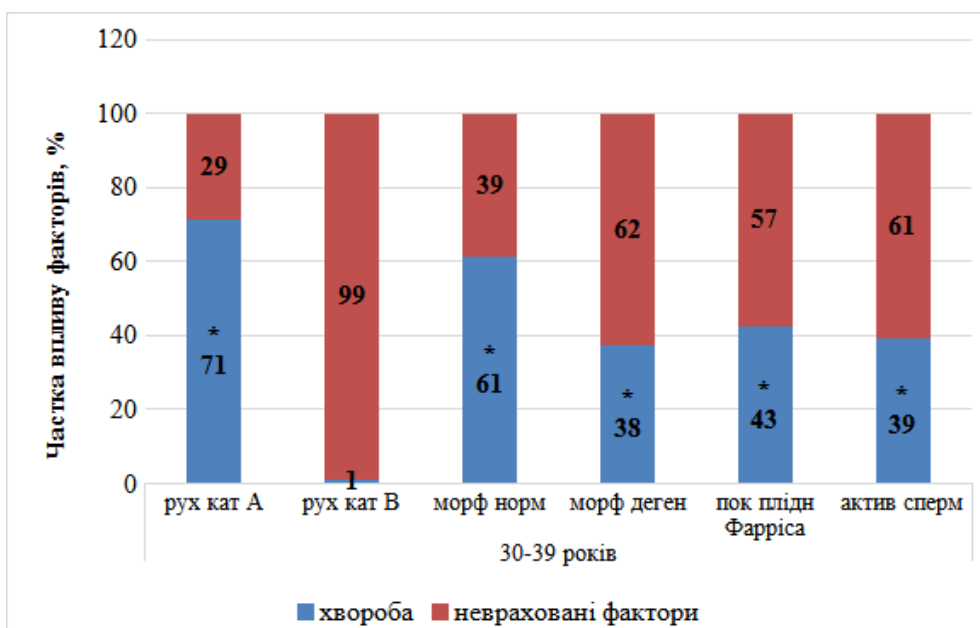


Рис. 5. Частка впливу захворювань на загальну мінливість показників спермограм чоловіків середньої вікової групи. За контроль узято спермограми чоловіків із нормозооспермією. * Достовірно порівняно з контролем $p \geq 0,95$

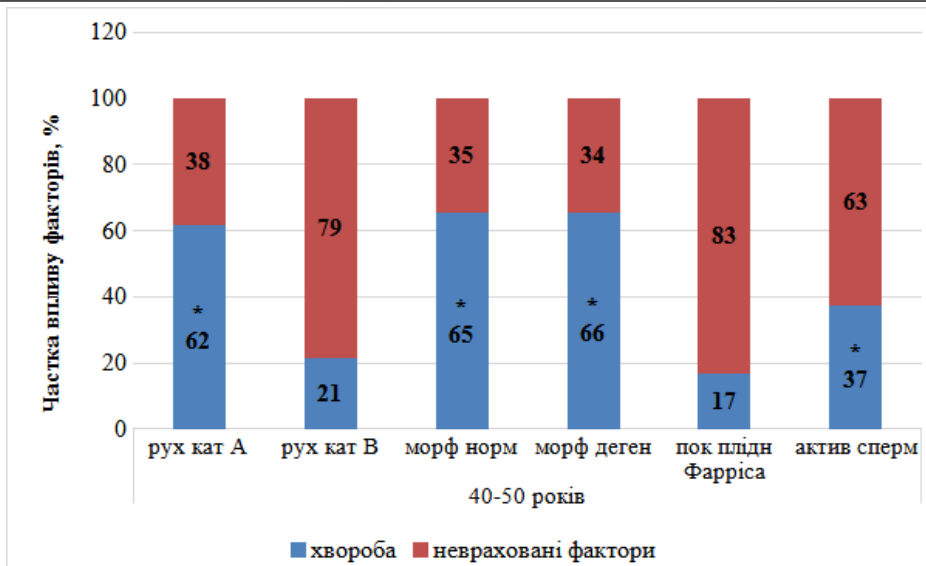


Рис. 6. Частка впливу захворювань на загальну мінливість показників спермограм чоловіків старшої вікової групи. За контроль узято спермограми чоловіків із нормозооспермією. * Достовірно порівняно з контролем $p \geq 0,95$

Частка впливу досліджуваних захворювань у загальну мінливість показника активності й життєздатності сперматозоїдів у спермограмах чоловіків різних вікових груп становить 96 % від загального внеску (частка впливу неврахованих факторів 4 %) (рис. 7).

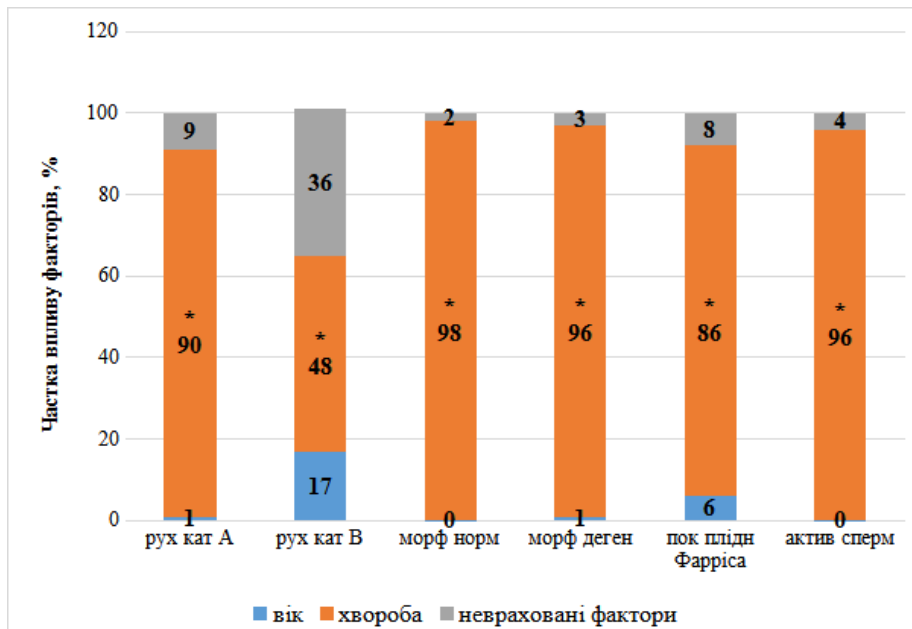


Рис. 7. Частки впливу захворювань і фактора віку на загальну мінливість показників спермограм чоловіків різних вікових груп. За контроль узято спермограми чоловіків із нормозооспермією. * Достовірно порівняно з контролем $p \geq 0,95$

З аналізу показників спермограм чоловіків молодшої, середньої та старшої вікових груп із оліготератоастенозооспермією, тератоастенозооспермією і гіпотератоозоспермією виявлено, що найбільших змін зазнають рухливість сперматозоїдів за категоріями А та В, морфологія сперматозоїдів, показник плідності Фарріса й кількість активних сперматозоїдів. Дисперсійним аналізом встановлено, що частка впливу досліджуваних захворювань у загальну мінливість показника рухливості сперматозоїдів за категорією В у чоловіків молодшої вікової групи незначна і становить 10 % від загального внеску, натомість зростає частка впливу неврахованих факторів, яка становить 90 % від загального внеску. Це може свідчити про наявність патологічних процесів у репродуктивних органах чоловіків. Слід відзначити, що частка впливу досліджуваних хвороб у загальну мінливість показника рухливості сперматозоїдів за категорією В у чоловіків молодшої, середньої та старшої вікових груп вірогідно знижується і становить 48 % від загального внеску, натомість зростає частка впливу віку (17 %) та частка впливу неврахованих факторів (36 %).

Частки впливу хвороб у загальну мінливість таких показників спермограм чоловіків старшої вікової групи як рухливість за категорією А, морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і дегенеративних сперматозоїдів) перебувають у межах від 62 до 66 %. Натомість вірогідно знижуються частки впливу цих захворювань у загальну мінливість показників рухливості за категорією В. Показник плідності Фарріса й активність і життєздатність сперматозоїдів перебувають у межах 17–37 % від загальної мінливості, суттєво зростає частка впливу неврахованих факторів у загальну мінливість. Це також свідчить про наявність патологій і супутніх захворювань у всіх чоловіків.

Слід відзначити, що частка впливу фактора віку в загальну мінливість таких показників спермограм як рухливість сперматозоїдів за категоріями А та В, морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і дегенеративних сперматозоїдів), показник плідності Фарріса й активність і життєздатність сперматозоїдів молодшої, середньої та старшої вікових груп є незначними і перебувають у межах від 1 до 6 %. Порівнюючи частки впливу віку та хвороб у загальну мінливість показників якості еякулятів і спермій та їхніх характеристик у чоловіків, ми виявили переважання частки впливу патологій.

Таким чином, незалежно від віку чоловіків, наявність патологій має вирішальне значення під час оцінки фертильності та здатності до запліднення. Ми з'ясували, що основними показниками відхилень у спермограмах чоловіків різних вікових груп є рухливість сперматозоїдів за категоріями руху А та В; морфологія сперматозоїдів (відсоток морфологічно нормальних і змінених), показник плідності Фарріса та кількість активних сперматозоїдів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Acacio B. D., Gottfried T., Israel R., Sokol R. Z.* Evaluation of a large cohort of men presenting for a screening semen analysis // *Fertility and Sterility*. 2000. Vol. 73 (3). P. 595–597. doi:10.1016/s0015-0282(99)00591-9
2. *Amini L., Kahrobaie M., Amiri-Farahani L., Haghani H.* The relationship between health life style and spermogram Indicators among infertile men: preliminary data // *BMC Research Notes*. 2020. Vol. 13 (1). P. 278. doi:10.1186/s13104-020-05102-5
3. *Arya S. T., Dibb B.* The experience of infertility treatment: the male perspective // *Human Fertility (Cambridge, England)*. 2016. Vol. 19 (4). P. 242–248. doi:10.1080/14647273.2016.1222083

4. *Condic M. L.* The basics about stem cells // *First Things: A Monthly Journal of Religion and Public Life*. 2002. P. 30–34.
5. ESHRE Capri Workshop Group. Genetic aspects of female reproduction // *Human reproduction update*. 2008. Vol. 14 (4). P. 293–307. doi:10.1093/humupd/dmn009
6. *Eskenazi B., Wyrobek A. J., Kidd S. A.* et al. Decreases in Human Semen Quality with Age Among Healthy Men (No. UCRL-JC-146551). Lawrence Livermore National Lab.(LLNL), Livermore, CA (United States). 2001.
7. *Gołqb J., Jakóbisiak M., Lasek W.* *Immunologia*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002. 497 p.
8. *Gorpinchenko I. I., Romanyuk M. G.* Male infertility: etiology, pathogenesis, diagnosis and modern methods of treatment // *Health of Man*. 2016. Vol. 1 (56). P. 8–17. doi:10.30841/2307-5090.1(56).2016.95374
9. *Gorpyuchenko I., Gurzhenko Y., Spyrydonenko V., Lytvynets E.* Comparative characteristics of spermographic indicators in idiopathic forms of infertility in men from radioactively contaminated and conventionally clean regions of Ukraine // *Probl. Radiats. Med. Radiobiol*. 2019. Vol. 24. P. 367–379. doi:10.33145/2304-8336-2019-24-367-379
10. *Hrynchuk V. O.* The male factor in a barren marriage // *Health of Men*. 2007. Vol. 2. P. 183.
11. *Ivaniuta L. I., Ivaniuta S. O.* Infertility in marriage (achievements and prospects). Kyiv: New Medicine. 2005. Vol. 2. P. 22–25.
12. *Kehoe S., Chitty L., Homfray T.* (Eds.). *Reproductive Genetics*. London: RCOG, 2009. 232 p.
13. *Lunyova G. G., Lipkan H. M., Zavadzka O. P.* et al. Research of ejaculate in the diagnosis of male infertility: Kyiv: Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, 2010. 118 p.
14. *Matzuk M. M., Lamb D. J.* The biology of infertility: research advances and clinical challenges // *Nature Medicine*. 2008. Vol. 14 (11). P. 1197–1213. doi:10.1038/nm.f.1895
15. *Moskowitz S. M., Chmiel J. F., Sternen D. L.* et al. CFTR-Related Disorders. *GeneReviews*. Seattle, WA: University of Washington. 2001.
16. *Ozelci R., Yilmaz S., Dilbaz B.* et al. Seasonal variation of human sperm cells among 4,422 semen samples: A retrospective study in Turkey // *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2016. Vol. 62 (6). P. 379–386. doi:10.1080/19396368.2016.1225322
17. *Pastukhova V. A.* Morphofunctional state of internal organs under the influence of various factors // *Ukrainskyi Medychnyi Almanakh*. 2008. Vol. 11 (6). P. 209–213.
18. *Punab M., Poolamets O., Paj P.* et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective mono-centre study on 1737 patients with reduced total sperm counts // *Human Reproduction (Oxford, England)*. 2017. Vol. 32 (1). P. 18–31. doi:10.1093/humrep/dew284
19. *Tarnovska A. V., Heneha A. B.* Biometric analysis of spermograms of men of different age groups in normal and pathology in Lviv region, Ukraine // *Studia Biologica*. 2022. Vol. 16. № 3. P. 49–60. doi: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1603.686>.
20. *Tarnovska A. V., Henega A. B., Semochko O. M.* et al. Analysis of spermograms of middle-aged men (30–39 years old) with teratozoospermia and asthenozoospermia // *Young Scientist*. 2018. Vol. 9 (61). P. 286–289.
21. *Weber R. F. A., Dohle G. R., Romijn J. C.* Clinical laboratory evaluation of male subfertility // *Advances in Clinical Chemistry*. 2005. Vol. 40. P. 317–364. doi:10.1016/s0065-2423(05)40008-6
22. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th ed. World Health Organization. 2010. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44261>

23. *Yatskiv O. M., Tarnovska A. V.* Causes and forms of male infertility and methods of diagnosing ejaculate as the main indicator of male health // *Visnyk of Lviv National University. Biological Series.* 2012. Vol. 60. P. 4–20.

Стаття надійшла до редакції 01.04.24

доопрацьована 13.05.24

прийнята до друку 14.05.24

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE INDICATORS OF SPERMOGRAMS OF MEN OF DIFFERENT AGE GROUPS IN NORMAL AND WITH PATHOLOGIES

A. Tarnovska, A. Heneha, D. Hrytchyshyn, Ya. Muzyka, V. Chemiorkina, N. Fedkovych

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: antonina.tarnovska@lnu.edu.ua*

The indicators of spermograms of men of different ages: younger (20-29 years), middle (30-39 years) and older age groups (40-50 years) with normozoospermia, oligoteratoasthenozoospermia, teratoasthenozoospermia and hypoteratozoospermia were studied. Spermograms were obtained during examination of patients at the "Alternative Clinic" reproductive medicine clinic. Spermograms were evaluated according to the following indicators: volume of ejaculate, viscosity, number of spermatozoa in 1 ml of ejaculate; the total number of sperm in the ejaculate; motility of spermatozoa according to movement categories A and B; sperm morphology (percentage of morphologically normal and morphologically altered spermatozoa), Farris fertility index and number of active spermatozoa. Having analyzed the results of spermograms of men of different age groups, we found out that the main indicators of deviations in these spermograms are the mobility of spermatozoa according to movement categories A and B; sperm morphology (percentage of morphologically normal and morphologically altered spermatozoa), Farris fertility index and number of active spermatozoa.

In order to quantitatively assess the influence of oligoteratoasthenozoospermia, teratoasthenozoospermia and hypoteratozoospermia and the age factor on the general variability of spermogram indicators of men of the younger (20–29 years), middle (30–39 years) and older (40–50 years) age groups, we conducted 41 series of univariate and 18 series of two-factor analysis of variance. After conducting an ANOVA analysis, we established that the share of the influence of the studied diseases in the overall variability of the sperm motility index by category B in men of the younger age group is insignificant and amounts to 10 % of the total contribution, instead, the share of the influence of unaccounted factors is increasing, which is 90 % of the total contribution - this may indicate the presence of pathological processes in the reproductive organs of men. The share of the influence of the age factor on the overall variability of such indicators of spermograms as motility of spermatozoa according to category A and B, morphology of spermatozoa (percentage of morphologically normal and degenerate spermatozoa), Farris fertility index and activity and viability of spermatozoa of younger, middle and older age groups is insignificant and is ranging from 1 to 6 %.

Keywords: ejaculate, spermogram, oligoteratoasthenozoospermia, teratoasthenozoospermia, hypoteratozoospermia, infertility, age factor, men

ЗМІСТ

БІОФІЗИКА

<i>Г. Максим'юк, О. Стадницька, М. Воробець, Г. Седіло, В. Максим'юк</i> Дисбаланс маси складових систем типу «середовище – речовина» за шкодочинної дії ендогенних факторів	3
--	---

ГЕНЕТИКА

<i>І. Остап, М. Денека, М. Лопатнюк, Т. Буше, Й. Каліновські, А. Лужецький,</i> <i>В. Федоренко, Б. Остап</i> Дослідження криптического спеціалізованого метаболізму <i>Streptomyces cyanogenus</i> S136	14
<i>К. Жукровська, В. Федоренко</i> Порівняльний <i>in silico</i> аналіз білків-транспортів, закодованих у кластерах біосинтетичних генів рамопланіну та споріднених антибіотиків	22
<i>О. Ющук, І. Руда, В. Федоренко</i> Синдром Снайдерса Блока-Кампо – нове генетичне захворювання, що спричиняє розлади нейророзвитку	36

ЕКОЛОГІЯ

<i>З. Мамчур, М. Рагуліна, О. Орлов, Ю. Драч</i> Мохоподібні парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення «Снопківський» (м. Львів)	45
<i>Й. Царик, О. Решетило, О. Іванець, К. Назарук, О. Гнатина,</i> <i>І. Шидловський, В. Леснік</i> Трансформація оселищ і її вплив на зообіоту	55
<i>Д. Луценко</i> Екологічні характеристики, біомаса, чисельність і домінуючі комплекси фітопланктону різнотипних водойм та водотоків пониззя Дунаю	65

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

<i>С. Бичкова, Т. Король, О. Іккерт</i> Психофізіологічний стан студентів в умовах війни	73
<i>Г. Мазур, Б. О. Манько, В. В. Манько</i> Вплив етанолу та циклоспорину А на дихання ізольованих гепатоцитів щурів	86
<i>А. Тарновська, А. Генега, Д. Грицишин, Я. Музика, В. Чемьоркіна, Н. Федькович</i> Кількісні та якісні показники спермограм чоловіків різних вікових груп у нормі та за патологій	92

CONTENTS

BIOPHYSICS

- H. Maksymyuk, O. Stadnytska, M. Vorobets, G. Sedilo, V. Maksym`yuk*
Imbalance of mass components in the system of «medium – substance»
under endogenous factors' harmful effects 3

GENETICS

- I. Ostash, M. Deneka, M. Lopatniuk, T. Busche, J. Kalinowski, A. Luzhetskyy,
V. Fedorenko, B. Ostash*
Mining the cryptic specialized metabolome of *Streptomyces cyanogenus* S13614
K. Zhukrovska, V. Fedorenko
Comparative *in silico* analysis of transporters coded within biosynthetic
genes clusters for ramoplanin and related antibiotics 22
O. Yushchuk, I. Ruda, V. Fedorenko
Snijders Blok-Campeau syndrome: a novel neurodevelopmental genetic disorder36

ECOLOGY

- Z. Mamchur, M. Ragulina, O. Orlov, Yu. Drach*
Bryophytes of local park – monument of landscape gardening “Snopkivsky” (Lviv city)45
Y. Tsaryk, O. Reshetylo, O. Ivanets, K. Nazaruk, O. Hnatyna, I. Shydlovskyy, V. Liesnik
Habitat transformation and its impact on zoobiota55
D. Lutsenko
Ecological characteristics, biomass, abundance and dominant complexes
phytoplankton of different types of watercourse and waterbasin in the lower Danube65

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

- S. Bychkova, T. Korol, O. Ikkert*
Psychophysiological state of students under the war 73
H. Mazur, B. O. Manko, V. V. Manko
Effect of ethanol and cyclosporine A on respiration of isolated rat hepatocytes86
*A. Tarnovska, A. Heneha, D. Hrytchyshyn, Ya. Muzyka,
V. Chemiorkina, N. Fedkovych*
Quantitative and qualitative indicators of spermograms of men of different
age groups in normal and with pathologies 92